

**KURU ÜZÜM, İNCİR VE KAYISIDA *Aspergillus* spp.
TANIMLAMALARI VE AFLATOKSİN OLUŞUMLARININ
OZONLA DETOKSİFİKASYONU**

SERVET KARAÇINAR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
2012**

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KURU ÜZÜM, İNCİR VE KAYISIDA *Aspergillus* spp.
TANIMLAMALARI VE AFLATOKSİN OLUŞUMLARININ OZONLA
DETOKSİFİKASYONU

SERVET KARAÇINAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
YRD. DOÇ. DR. NEVCİHAN GÜRSOY

SİVAS
2012

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Üye Yrd. Doç. Dr. M. Oğuzhan ÇAĞLAYAN

Üye Yrd. Doç. Dr. N. Meltem KEKLİK

Üye (Danışman) Yrd. Doç. Dr. Nevcihan GÜRSOY

ONAY

Prof. Dr. Mustafa DEĞİRMENÇİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 009 sayılı toplantısında kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı önergeye göre hazırlanmıştır.

ÖZET

KURU ÜZÜM, İNCİR VE KAYISIDA *Aspergillus* spp. TANIMLAMALARI VE AFLATOKSİN OLUŞUMLARININ OZONLA DETOKSİFİKASYONU

Servet KARAÇINAR

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nevcihan GÜRSOY

2012, 74 sayfa

Kuru üzüm, incir ve kayısı meyvelerinin içerdikleri besin öğeleri, insan sağlığı için önemli kaynaklardır. Meyveler direkt ya da gıda sanayinde kurutulmuş olarak, pasta, süsleme, dondurma, bisküvi ve çikolata vb. yapımında kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, 30 üzüm, incir ve kayısı olmak üzere toplam 90 örnekte doğal olarak oluşan *Aspergillus* spp. ve aflatoksin içerikleri tespit edilmiştir. Toksin içeriği belirlenen örnekler ozon (Gaz, Su, Gaz+Su) uygulanarak üç farklı şekilde detoksifiye edilmiştir. Yapılan mikolojik izolasyonlarda kuru üzümde %52 *A. niger*, %15 *A. flavus*; %4 *A. paraciticus*, kuru incirde %60 *A. niger*, %18 *A. flavus*; %8 *A. paraciticus*, kuru kayısında %54 *A. niger*, %20 *A. flavus*; %7 *A. paraciticus* gelişimleri belirlenmiştir. CD-ELISA ile belirlenen aflatoksin analizleri sonucunda üzüm örneklerinde 0.1-14.4 ppb, incirde 1.4-10.6 ppb, kayısında 1.5-13.8 ppb seviyelerinde aflatoksin içerikleri saptanmıştır. Üzümlerde 2, incirlerde 1, kayıslarda 3 örnekte yasal sınırın üzerinde toksin içeriği bulunmuştur.

Aflatoksin içeriğine sahip örnekler ozon ile detoksifikasyon yapıldıktan sonra üzümde %14.06, incir örneklerinde %10.26, kayısı örneklerinde %14.05 seviyelerinde toksin içeriklerinde azalma görülmüştür. Ozonlu su uygulamasından sonra üzüm örneklerinde %26.54, incir örneklerinde %18.87, kayısı örneklerinde %21.41, ozon gazi-ozonlu su uygulamasından sonra üzüm örneklerinde %39.34, incir örneklerinde %26.18, kayısı örneklerinde %30.77 aflatoksin düzeylerinde azalma görülmüştür.

Çalışılan örneklerin aflatoksin içeriklerinin istatistikî değerlendirmeleri SPSS Ver. 14.0 programı, gruplar arasındaki fark ve ozon detoksifikasyonu sonucu elde edilen verilerin karşılaştırılması Friedman Testi ve Wilcoxon analizleri kullanılarak yapılmıştır. Farklı grplardaki örnekler arasında aflatoksin oluşumu ve ozonla detoksifikasyon sonucunda belirlenen aflatoksin farkları anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Anahtar kelimeler: *Aspergillus*, kuru üzüm, incir, kayısı, aflatoksin, ozon, detoksifikasyon

ABSTRACT

Aspergillus spp. IDENTIFICATION AND AFLATOXIN DETOXIFICATION WITH OZONE IN DRIED RAISINS, FIGS AND APRICOT

Servet KARAÇINAR

Master of Science Thesis, Department of Food Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY

2012, 74 pages

Raisins, dried figs and apricot fruits contain nutrients, and are important for human health. Food industry as a direct or dried fruits, cake, decoration, ice cream, biscuits and chocolate and so on used to make.

In this study, 30 grapes, fig and apricot to be total of 90 instance natural *Aspergillus* spp. and the formation of aflatoxin content has been determined. Examples of the toxin content of ozone (Gas, Water, Gas + Water) detoxified by applying three different ways. Mycological isolations made from raisins 52% *A. niger*; 15% *A. flavus*; % 4 *A. paraciticus*, dried figs 60% *A. niger*, 18% *A. flavus*, 8% *A. paraciticus*, dried apricot, 54% *A. niger*, 20% *A. flavus*; 7% *A. paraciticus* developments were determined. As determined by CD-ELISA aflatoxin analysis grapes 0.1-14.4 ppb, figs 1.4-10.6 ppb, apricot 1.5-13.8 ppb levels of aflatoxin content were determined. 2 grapes, figs 1, apricots 3 example, the legal limit was found on the toxin content.

Ozone and detoxification of aflatoxin content of the samples after 14.06% samples of grape, 10.26% samples of figs, samples of apricot, 14.05% decreased levels of aflatoxin. After application of ozonated water 26.54% of samples of grape, 18.87% samples of figs, 21:41% samples of apricot, After application of ozone gas-ozonated water 39.34% samples of grape 26.18% samples of figs, 30.77% samples of apricot decreased levels of aflatoxin.

The results of the samples the program SPSS 14.0 Friedman Test and Wilcoxon analysis was used. As a result of ozone formation and detoxification of aflatoxin in samples from different groups of aflatoxin determined differences were statistically significant ($p < 0.05$).

Key words: *Aspergillus*, dried raisins, figs, apricots, aflatoxin, ozone, detoxification

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam sırasında bana her konuda destek olan, bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren çok değerli danışmanım Yrd. Doç. Dr. Nevcihan GÜRSOY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında benden yardımcılarını esirgemeyen arkadaşlarım; Tuğba KÖSEAHMETOĞLU'na, Ahmet YOKUŞ'a, Alper ZÖNGÜR'e ve H. Aybüke KARAOĞLAN'a teşekkür ederim.

Çalışmam süresince hep yanında olan Babam Halim KARAÇINAR'a, Annem AsİYE KARAÇINAR'a ve eşim Ayşe KARAÇINAR'a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	IV
KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
1.GİRİŞ.....	1
1.1 Üzüm.....	1
1.1.1 Üzümün Beslenmedeki Önemi.....	2
1.1.2 Üzümün Ülke Ekonomisindeki Yeri.....	3
1.2 İncir.....	4
1.2.1 İncirin Beslenmedeki Önemi.....	5
1.2.2 İncirin Ülke Ekonomisindeki Yeri.....	6
1.3 Kayısı.....	7
1.3.1 Kayısının Beslenmedeki Önemi.....	8
1.3.1 Kayısının Ülke Ekonomisindeki Yeri.....	9
1.4 <i>Aspergillus</i> spp.....	11
1.5 Mikotoksinler.....	11
1.6 Aflatoksinler.....	14
1.6.1 Aflatoksin Oluşturan Fungus Türleri ve Toksin Oluşumları	14
1.6.2 Aflatoksinlerin Kimyasal Özellikleri.....	16
1.6.3 Aflatoksinlerin Toksik Etkileri.....	17
1.6.4 Aflatoksin Yasal Limitleri	18
1.7 Aflatoksinlerin Detoksifikasiyon Yöntemleri.....	19
1.8 Ozon.....	23
1.8.1 Ozon Üretimi, Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	24
1.8.1 Ozonun Antimikrobiyal Etkisi.....	26
2. LİTERATÜR ÖZETİ	29
3. MATERİYAL VE METOT.....	35
3.1 Materyal.....	35
3.1.1 Örnekleme.....	35
3.1.2 Mikolojik İzolasyonlarda Kullanılan Materyaller	36
3.1.3 Fungal Tür Tanımlamalarında Kullanılan Materyaller.....	36
3.1.4 Aflatoksin Analiz Metodunda Kullanılan Materyaller.....	36
3.1.5 Ozon Uygulamasında Kullanılan Materyaller	36
3.2 Metot.....	37
3.2.1 Mikolojik İzolasyonlar.....	37
3.2.1.1 Örneklerinin Yüzey Sterilizasyonu.....	37
3.2.1.2 Mikrobiyolojik Ekim.....	37
3.2.2 Fungal Tür Tanımlamaları.....	37
3.2.3 Ozon Uygulaması.....	38
3.2.4 Aflatoksin Analiz Metodu.....	41
3.2.4.1 Numune Hazırlama ve Ekstraksiyon.....	42
3.2.4.2 CD-ELISA Analizi.....	42
3.2.5 İstatistik.....	43

4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	44
4.1 Örneklerdeki Doğal Mikofloranın Belirlenmesi.....	44
4.2 CD-ELISA Yöntemi İle Toplam Aflatoksinlerin Belirlenmesi.....	48
4.3 Aflatoksin Oluşumlarının Ozonla Detoksifikasyonu.....	53
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	60
6. KAYNAKLAR.....	63
7. ÖZGEÇMİŞ.....	75

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Korona akım metodu şeması.....	25
Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan örnek çeşitleri.....	35
Şekil 3.2 Ozon Jeneratörü ve Oksijen Tüpü.....	38
Şekil 3.3 Ozon Uygulama Araçları.....	39
Şekil 3.4 Ozonlu Su Uygulaması.....	40
Şekil 3.5 Vakumlama İşlemleri.....	41
Şekil 4.1 Örneklerden İzole Edilen <i>Aspergillus</i> Türleri.....	45
Şekil 4.2 Kuru üzüm, incir ve kayısı örneklerinde tanımlanan <i>Aspergillus</i> spp.....	46
Şekil 4.3 CD-ELISA testinde kuyucuklardaki renk oluşumu.....	49
Şekil 4.4 Kuru üzüm, incir, kayısında başlangıçta ve ozon uygulamasından sonraki ortalama aflatoksin düzeyleri.....	58
Şekil 4.5 Ozon Uygulamadan önce ve sonra CD-ELISA testinde kuyucuklardaki renk oluşumu.....	59

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1	Üzüm meyvesinin besin içeriği...	2
Çizelge 1.2	Kuru üzüm üretim, ihracat miktarları ve ihracat tutarları.....	3
Çizelge 1.3	İncir meyvesinin besin içeriği.....	6
Çizelge 1.4	Kuru incir üretim, ihracat miktarları ve ihracat tutarları.....	7
Çizelge 1.5	Kayısı meyvesinin besin içeriği.....	9
Çizelge 1.6	Kuru kayısı üretim, ihracat miktarları ve ihracat tutarları.....	10
Çizelge 1.7	Gıdalarda bulunan önemli mikotoksinler ve bu toksinleri üreten türler... <td>13</td>	13
Çizelge 1.8	<i>Aspergillus</i> mikotoksinleri ve minimum aw değerleri.....	15
Çizelge 1.9	Aflatoksinlerin kimyasal ve fiziksel özelliklerı.....	16
Çizelge 1.10	Saf ozonun bazı özellikleri.....	26
Çizelge 1.11	Ozonun suda çözünürlüğü üzerine sıcaklık ve konsantrasyonun etkisi.. <td>26</td>	26
Çizelge 4.1	Tanımları yapılan <i>Aspergillus</i> cinsleri.....	44
Çizelge 4.2	Örneklerde belirlenen toksin içerikleri ve bulaşıklık	50
Çizelge 4.3	İstatistiksel analiz sonuçları.....	57

KISALTMALAR DİZİNİ

CD-ELISA	Competitive Direct Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
FAO	Dünya Gıda ve Tarım Örgütü
IARC	Dünya Kanser Ajansı
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu

1. GİRİŞ

Tarım ürünlerinin çeşitliliği bakımından zengin bir ülke olan Türkiye'de ürünler yetiştirilme, işlenme, taşınma ve depolanma aşamalarında çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörlere maruz kalabilmektedir. Sağlıklı bir toplumun oluşması için beslenmeyle ilgili yapılacak çalışmalar, gelecek nesillerin sağlıklı yetişmesi bakımından büyük önem arz etmektedir. Günlük insan diyetinde sağlık açısından sürekli önerilen meyve tüketimi üzerinde önemle durulan bir konudur. Günlük diyette başta üzüm, incir, kayısı, elma gibi meyvelerin besin ve vitamin içerikleri nedeniyle sık sık tüketilmeleri önerilmektedir.

Meyveler yaş olarak tüketildiği gibi kurutulmak suretiyle mevsimleri dışında ve raf ömrüleri uzatılarak da kullanılabilmektedirler. Yaş ve kurutulmuş meyveler direkt tüketildikleri gibi gıda sanayinde pasta, süsleme, dondurma, bisküvi, çikolata, pekmez, pestil, sucuk, şıra, şarap gibi çeşitli şekillerde kullanılmaktadır. Ayrıca Türkiye ekonomisi açısından önemli miktarlarda ihraç edilen kuru üzüm, incir, kayısı ve ürünleri giderek artan bir öneme sahip olmaktadır.

1.1 Üzüm

Asma (*Vitis vinifera L.*) *Dicotyledoneae* sınıfının *Rhamnales* takımının *Vitaceae* familyasında *Vitis* cinsinin bir türündür. Jeolojik bulgulara göre yerkürenin en eski bitki gruplarından olduğu belirtilmektedir. Avrupa'nın değişik bölgeleri ve Kuzey Amerika'da üçüncü jeolojik zamana (neozoik) ait asma yaprak ve çekirdek fosillerinin bulunmuş olması, yabani asmanın insanlık tarihinden daha eski bir geçmişi olduğunu belgelemektedir.

Asma, diğer meyvelerle kıyaslandığında en fazla çeşide sahip olan türlerden biridir. Dünyada 10.000'nin üzerinde üzüm çeşidi olduğu tahmin edilmektedir. Türkiye ise asmanın anavatanı olması nedeniyle 1.200'ün üzerinde üzüm çeşidine sahiptir. Fakat bunlardan ancak 50–60 kadarının ekonomik önemi olup, geniş çapta yetiştirilmektedir.

Türkiye gerek coğrafi ve gerekse ekolojik özellikleri itibarıyla bağcılıkla çok elverişlidir. Ülkemiz asmanın anavatanı olması ve bağcılık tarımının hayli eskiye dayanması yanında, gerek üretim miktarı ve gerekse çeşit zenginliği bakımından dünyanın sayılı ülkeleri arasında yer almaktadır (Karbancıoğlu ve Heperkan, 2008; Batu ve Yurdagül, 1993).

1.1.1 Üzümün Beslenmedeki Önemi

Üzüm, yüksek şeker içeriğinden dolayı, kalori değeri yüksek bir besin maddesidir. Ayrıca, mineral maddelerden kalsiyum, potasyum, sodyum ve demir yönünden zengin olduğu gibi, bazı vitaminler (A, B₁, B₂, Niasin ve C vitaminleri) yönünden de önemli bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Yaş üzüm ile karşılaşıldıklarında, kuru üzüm ve pekmez, daha az su içerdiklerinden daha yüksek kalorili, demir ve kalsiyum mineralleri bakımından daha zengindirler. Kurutma ve üzüm suyunu işleme sırasında, özellikle A ve C vitaminlerinde önemli kayıplar meydana gelmektedir. Verilen besin değerleri ile ilişkili olarak üzüm, bazı karaciğer hastalıkları ile kansızlığın ve yüksek tansiyon tedavisinde etkilidir. Ayrıca, içerdiği meyve asitleri ve lifli yapısı ile mideye zarar vermeden, böbrek ve bağırsak sisteminin çalışmasını düzenler, kanın temizlenmesine yardımcı olur. Yüksek kalori içeriğine karşın, çok düşük miktarlarda yağ ve protein içerdiginden ideal bir diyet besinidir (Taşkaya, 2003). Çizelge 1.1'de üzüm meyvesinin besin içeriği verilmiştir.

Çizelge 1.1 Üzüm meyvesinin besin içeriği (Anonim, 2012).

Besin Bileşeni	Miktari
Karbonhidrat	15.7-20 g (100 g)
Protein	1.3 g
Yağ	1 g
Lif	0.6 g
Fosfor	12 mg
Kalsiyum	16 mg
Demir	0.4 mg
Sodyum	3 mg
Potasyum	158 mg
Magnezyum	13 mg
Vitamin B ₁	0.05 mg (100 IU)
Vitamin B ₂	0.03 mg
Vitamin B ₃	0.3 mg
Vitamin B ₆	0.08 mg
Vitamin C	4 mg
Vitamin E	0.7 mg

1.1.2 Üzümün Ülke Ekonomisindeki Yeri

Türkiye 4.26 milyon tonluk üzüm üretimiyle Dünyada 6. sırada yer almaktadır (FAO, 2010). Türkiye İstatistik Kurumunun (TÜİK) 2003 yılı verilerine göre Türkiye'de bitkisel üretim için kullanılan alan 24 730 294 hektardır ve bunun 530.000 hektarı bağ alanı olup, toplam alanın %2.28'ine tekabül etmektedir. Üretim olarak karşılığı ise 3 650 000 tondur. Toplam bitkisel üretim alanının %13.74'ü bahçe bitkileri tarımı için kullanılırken, bunun %15.6'sını bağ alanları oluşturmaktadır.

Tarım bölgeleri düzeyinde bağ alanı ve üzüm üretimi incelediğinde, uzun yıllardan bu yana olduğu gibi bölge sıralamalarının değişmediği, ülkemiz bağ alanlarının %33'üne sahip olan Ege Bölgesinin, üretimin de %44 düzeyinde bir bölümünü karşılayarak birinci sıradaki yerini koruduğu görülmektedir. Çizelge 1.2'de kuru üzüm üretim, ihracat miktarları ve ihracat tutarları verilmiştir.

Çizelge 1.2 Kuru üzüm üretim, ihracat miktarları ve ihracat tutarları (TÜİK, 2010).

Yıl	Ekim Alanı (Dekar)	Üretim (Ton)	İhracat Miktarı (Bin Ton)	İhracat Tutarı (US \$)
2004	750.000	880.000	239	211.893
2005	724.000	1.000.000	203	226.597
2006	716.213	1.124.933	266	224.202
2007	676.744	882.940	195	335.400
2008	651.770	1.156.329	267	405.840
2009	649.643	1.129.893	203	381.640
2010	653.138	1.112.636	212	360.400

Türkiye 2005 yılı itibariyle dünyanın en önemli kuru üzüm ihracatçı ülkesi olup, dünya ihracatının değer bazında %27'sini karşılamıştır. Dünya kuru üzüm ihracatında diğer önemli ülkeler ABD, İran, Şili ve Yunanistan'dır.

Türkiye'de çekirdeksiz kuru üzüm üretimi Ege Bölgesinde, özellikle Manisa ili ve ilçeleri, İzmir, Denizli, Çal ve Çivril'de yoğunlaşmaktadır. Üretilen başlıca üzüm çeşitleri, Sultani, Tarsus beyazı, Perlette, Çavuş, Yapıncak, Narince, Kozak beyazı, Müşkile, Hönüslü, Öküzgözü, Değirmendere siyahı, Kalecik karası olarak bilinmektedir. Ege Bölgesinde ağırlıklı olarak "Sultaniye" çeşidi yetiştirilmektedir.

Yaş üzüm üretimimiz her yıl ortalama yaklaşık 3,5 milyon ton civarındadır (Taşkaya, 2003). Türkiye'de yaş üzüm üretiminin yaklaşık olarak %40'ının çekirdeksiz ve çekirdekli kurutmalık olarak değerlendirildiği bildirilmektedir (Çelik vd., 2005). Üretilen üzümler genellikle taze, kurutularak, pekmez, pestil, sucuk, şıra ve şarap gibi çeşitli şekillerde değerlendirilmektedir.

Türkiye dünyada en büyük çekirdeksiz kuru üzüm üreticisi ve ihracatçısı konumundadır. Üretilen üzümün yaklaşık 2/3'ü çekirdekli 1/3'ü ise çekirdeksiz üzümden oluşmaktadır. Dünyadaki çekirdeksiz kuru üzüm ihracatının %40-45'ini gerçekleştiren ülkemiz, dünya çekirdeksiz kuru üzüm fiyatlarının oluşmasında önemli etkiye sahiptir.

Cekirdeksiz kuru üzümün dünya rekoltesi ortalama 725 bin ton civarında gerçekleşmekte olup, ülkemiz rekoltenin %33'üne tekabül eden ortalama 250 bin ton üretim ile dünya sektöründe büyük paya sahiptir. Türkiye'de üretilen çekirdeksiz kuru üzümün yaklaşık %90'ı ihraç edilmektedir. Dünyadaki ihraç payımız ise %40- 45 arasında değişmektedir. Ülkemiz ihracatının büyük bir bölümü AB ülkelerine yapılmaktadır. Çekirdeksiz kuru üzüm yıllık 350- 400 milyon Dolar döviz geliri ile tarımsal ürünler bazında ilk üç sıra içerisinde yer alan önemli ihraç ürünlerindendir. (Anonim, 2010a).

Türkiye'nin son on yıllık toplam çekirdeksiz kuru üzüm rekoltesinin yaklaşık %90'ını ihraç edilmektedir. Uluslararası çekirdeksiz kuru üzüm ticaretinin yarısından fazlası Avrupa ülkelerine yapılmaktadır. Türkiye ihracatının %80'i, ABD ihracatının %50'si ve İran ihracatının da %35'i Avrupa ülkelerine yapılmaktadır. Bu nedenle Avrupa ülkeleri önemli bir çekirdeksiz kuru üzüm pazarı durumundadır (Anonim, 2010b).

1.2 İncir

İncir (*Ficus carica L.*), incir çiçek kılıfının büyümESİ ve etlenmesi suretiyle meydana gelen, *Moraceae* familyasına (dut familyası) dahil olan incir ağacının, şişkin, etli çukur ve armuda benzer olarak tarif edilen yalancı meyvesidir. İncirin, içerisinde pek çok

sayıda ufak çekirdek bulunmaktadır (Anonim, 2006c). Subtropik ve ılıman kuşağın sıcak bölgelerinde yetişebilen incir meyvesi, hasat edildikten sonra mekanize koşullar ya da doğal metotlarla kurutularak, yaşı meyve formunda doğrudan ya da işlendikten sonra tüketime sunulmaktadır (Tuğ, 2002).

Kuru incir ekonomik potansiyele sahip önemli ihracat ürünlerimizdenidir. İncir ülkemizin kıyı bölgelerinde, Büyük ve Küçük Menderes Havzalarında, Güneydoğu Anadolu'da ve İç Anadolu'da yetişmektedir. Ticari olarak kuru incir yetştiriciliği yapılan bölgeler; Ege Bölgesi Aydın (Germencik), Birgi (Ödemiş), İzmir il sınırları içinde kalan Büyük ve Küçük Menderes orta havzası, Tire, Bursa ve çevresidir. Salihli (Manisa), Mut (İçel) ve Gaziantep'te özellikle sofralık incir olarak bilinen incir üretimi yapılmaktadır (Aksoy, 2001). Ege Bölgesinde yetişen sarılıp çeşidi, meyve kabuğunun inceliği, kaim etli ve şekerce zengin, yumuşak oluşu nedeni ile kurutmalık incir olarak bilinmektedir (Var vd., 2001).

1.2.1 İncirin Beslenmedeki Önemi

Doğal gıdaların sağlıklı beslenmedeki yeri her geçen gün önem kazanmaktadır. Besin değeri yüksek bir ürün olan incir, kolay sindirilebilen fruktoz ve glukoz içermektedir. Protein miktarı birçok meyvenin iki katından daha fazladır. Diğer meyvelerle karşılaşıldığında zaman kalsiyum, bakır, magnezyum, potasyum ve kükürt bakımından birinci, enerji, pantotenik asit, riboflavin, tiamin ve piridoksin bakımından ikinci sırayı aldığı görülür. İncir süte oranla daha çok kalsiyum içermektedir. Pektik maddelerin kaynağı olmasından dolayı, bağırsaklarda toksik maddelerin atılması, kandaki kolesterol düzeyinin düşürülmesi, şeker hastalarında kan şekerinin hızlı yükselmesinin önlenmesi gibi yararlar sağlar.

Mineral madde, özellikle demir içeriğinin fazla olması nedeni ile beslenmede önemli bir yere sahip olan kuru incir, özellikle hamileler ve küçük çocuklarda ortaya çıkan mineral madde ve vitamin eksikliğinin neden olduğu hastalıklar ve kansızlığa iyi gelir. 100 gramında 0.24 mg bakır bulunması, demirin vücut tarafından emilimini kolaylaştırmaktadır.

İçeriğindeki ham lif oranının yüksek olması, kuru incirin boğaz ve bağırsak hastalıklarında yumuşatıcı olarak kullanılmasına, sütte bulunan kalsiyuma oranla daha fazla kalsiyum içermesi, kemik hastalarında gelişim bozukluklarına tavsiye edilmesine neden olmaktadır. İncirin anti-kanserojenik etkisi üzerinde de çalışmalar bulunmaktadır. Japonya'da yapılan bir araştırmada deri altında tümör geliştirilmiş farelere enjekte

edilen incir preparatinin, tümörleri 11 günde %39 oranında küçültüğü tespit edilmiştir (Günana, 2012). Çizelge 1.3'de incir meyvesinin besin içeriği verilmiştir.

Çizelge 1.3 İncir meyvesinin besin içeriği (100 g yenilebilir kısım) (Günana, 2012).

Besin Bileşeni	Miktari
Enerji	217 kcal
Protein	4 g
Karbonhidrat	55.3 g
Yağ	1.2 g
Diyet Lifi	6.7 g
Kalsiyum	138 mg
Fosfor	163 mg
Demir	4.2 mg
Magnezyum	91.5 mg
Vitamin B ₁	0.073 mg
Vitamin B ₂	0.072 mg

1.2.2 İncirin Ülke Ekonomisindeki Yeri

Türkiye 255 bin tonluk incir üretimiyle Dünyada 1. sırada yer almaktadır (FAO, 2010). Türkiye incir üretiminde kendine yeterli ve hatta kuru incirde ihracatçı bir ülke konumundadır.

Kuru incir üretimi Dünyada az sayıda ülkede sınırlı miktarlarda gerçekleştirilmektedir. Türkiye, dünya'nın en önemli taze incir üreticilerinden birisi olmasının verdiği avantajla, kuru incir üretiminde ve ihracatında lider ülke konumundadır. Ülkemiz, 2007 yılı içerisinde dünya kuru incir üretiminin %39.7'sini karşılamıştır. Türkiye'de, 9.1 milyonu meyve veren olmak üzere, toplam 10.2 milyon adet incir ağacı bulunmaktadır. Bu ağaçlardan elde edilen taze incir miktarı yılda ortalama 230-320 bin ton arasında değişmektedir (TÜİK, 2008).

Türkiye %80'i AB üyesi ülkelere ihracat edilen kuru incirde dünyanın en önde gelen ihracatçısı konumundadır (İGE, 2010). Çizelge 1.4'de kuru incir üretim, ihracat miktarları ve ihracat tutarı verilmiştir.

Çizelge 1.4 Kuru incir üretim, ihracat miktarları ve ihracat tutarı (TÜİK, 2010).

Yıllar	Ekim Alanı (Dekar)	Üretim (Ton)	İhracat Miktarı (Ton)	İhracat Tutarı (Milyon \$)
2001	506.000	235.000	39.284	66.2
2002	502.000	250.000	35.935	72.3
2003	513.000	275.000	42.095	78
2004	505.000	285.000	49.073	85.5
2005	490.000	290.151	52.595	105
2006	483.914	210.152	54.233	120.7
2007	510.180	205.067	40.101	150.5
2008	474.492	244.351	38.091	148.6
2009	476.615	244.351	43.815	145.8
2010	478.572	254.838	58.662	152.1

1.3 Kayısı

Kayısı (*Prunus armeniaca L.*), 2-10 m yüksekliğinde, dikensi ve tüysüz bir ağaçtır. Kayısı meyvelerinin üzeri tüylü olup, sarımsı-turuncu renkte ve eriksidir. Yabani kayısı meyvesine “zerdali” adı verilir. Kayısı ve zerdali, Kuzeydoğu Çin kökenli meyvelerdir. İlk olarak Çin'de, Han sülalesinin ilk dönemlerinde yetiştirilmiş, erken olgunlaşan bir meyve olması nedeniyle Latince erken gelişmiş anlamına gelen “Abrikosas” sözcüğüyle tanımlanmıştır. Dünyada en yaygın olarak Anadolu'da (özellikle Malatya ve çevresinde) yetiştirilmektedir.

Dünyada aşılama yöntemiyle üretilen birçok farklı kayısı çeşidi olduğu bilinmektedir. Malatya kayısı da tek bir çeşit olmayıp, bu yörede yetiştirilen birçok çeşit kayısı vardır. Kurutmalık olarak Hacıhaliloglu, Hasanbey, Kabaası, Soğancı, Çataloğlu ve Çoloğlu çeşitleri olmakla beraber, sofralık olarak Hasanbey, Şalak (Aprikoz), Şekerpare, Şam, Turfanda İzmir, Tokaloğlu, Alyanak, Ethembey, Karacabey, Mahmudun Eriği, Adilcevaz 5, İri Bitirgen, Precoce de Tyrinthe, Precoce de Colomer, Canino, Luizet, Roxana, Ninfa çeşitleri mevcuttur.

Türkiye'de üretilen kayısının önemli bölümü sofralık olarak tüketilmektedir. Ancak kayısında hasat döneminin kısa olması ve yaş kayısının çabuk bozulması nedeniyle kayısı daha çok kurutularak veya işlenerek değerlendirilmektedir.

Kayısı meyvelerinin çekirdekleri ve yaprakları da kullanılır. Çekirdeklerinden yağ elde edilir. Etli meyvesi şeker, organik asitler ve C vitamini ihtiva etmesi bakımından önemlidir.

1.3.1 Kayısının Beslenmedeki Önemi

Kayısı bileşim özellikleri (Diyet lifi, özellikle ince ve kalın bağırnaklarda sindirilemeyen bileşikler) bakımından son derece zengin bir meyvedir. Bu bileşikler, insan vücudunda cilt güzelliği, vücutun dinç olması, hastalıklara direnç kazanılması bakımından da son derece faydalı bir meyvedir.

Kayısında sodyum düzeyinin düşük, potasyum düzeyinin yüksek olmasının kan basıncını düzenleyici etkisi bulunduğu belirtilmektedir. Bu özellik kayısıya meyveler arasında ayrı bir yer kazandırmaktadır. Sodyum ve potasyum iyonlarının vücut sıvısında dengede bulunması sinirlerin uyarımı, vücutun elektrolit dengesi, beyin hücrelerinin sağlığı ve kas dokusunun çalışması açısından önem taşımaktadır (Karabudak, 2001; Yücecan, 1994).

Malatya kayısı üretimi yapılan belirli bölgelerde yetişirilen kayıslar üzerine yapılan araştırmada bölgesel farklılıkların, kayısı türlerinin vitamin ve selenyum içerikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışmada, genel olarak bölgesel faktörün vitamin ve selenyum içeriği üzerine etki eden önemli bir faktör olduğu, ancak hasat sonrası yapılan işlemlerin (küükrtleme) önemli oranda bir vitamin kaybına yol açmadığı saptanmıştır. Bunun yanı sıra, farklı bölgelerde üretimi gerçekleşen aynı tür kayıslara ait selenyum içeriğinin benzer olduğu, kayısların zengin bir selenyum kaynağı olduğu belirtilmiştir.

Taze kayısların içeriği selenyum miktarının diğer meyve ve sebzelerle karşılaştırıldığında, diğerlerinden 4-5 kat daha fazla olduğu ortaya konmuştur. Çalışmada elde edilen sonuçlar ışığında, analize alınan kayısı çeşitlerinin A ve C vitaminleri ile β-karoten ve selenyum içerikleri açısından zengin olduğu ve RDA değeri (günlük diyette tavsiye edilen miktar ~ Recommended Dietary Allowances) açısından sağlıklı bir insanın gereksinimine yetecek düzeyde (50-260 g kuru kayısı/gün) olduğu belirtilmiştir (Munzuroğlu vd., 2003). Çizelge 1.5'de kayısı meyvesinin besin içeriği verilmiştir.

Çizelge 1.5 Kayısı meyvesinin besin içeriği (Baysal ve Ersus, 1999).

Bileşen	Miktar
Su (%)	25
Protein (%)	5
Yağ (%)	0.5
Karbonhidrat (%)	66.5
Enerji (kcal/100g)	294
Vitamin A (mg/100g)	10.900
Vitamin B ₁ (mg/100g)	0.01
Vitamin B ₂ (mg/100g)	0.16
Vitamin C (mg/100g)	12
Kalsiyum (mg/100g)	22
Demir (mg/100g)	3.88
Sodyum (mg/100g)	1.25
Potasyum (mg/100g)	1269
Fosfor (mg/100g)	108
Magnezyum (mg/100g)	47.8

1.3.2 Kayısının Ülke Ekonomisindeki Yeri

Türkiye 476 132 ton üretimi ile Dünya kayısı üretiminde 1. sırada yer almaktadır (FAO, 2010). Kayısı gerek üretim düzeyi ve gerekse ihracat geliri açısından ülke ekonomisi açısından önemli bir gıdadır. TUİK verilerine göre Türkiye'de toplam 13 480 000 adet kayısı ağaçları bulunmaktadır (Anonim, 2002). Ayrıca, Türkiye'de yıllık kayısı üretiminin 1979-1998 yılları arasında yıldan yıla değişmek üzere 110 000-490 000 ton arasında olduğu belirtilmiştir (Özkan, 2001). FAO (Dünya Gıda ve Tarım Örgütü) istatistikleri incelendiğinde, 2005 yılında dünya yaş kayısı üretiminin 2 821 223 ton olduğu, bunun 370 000 tonunun Türkiye tarafından üretildiği görülmektedir. Yaş kayısı üretiminde Türkiye'yi İran, İtalya, Pakistan, Fransa, İspanya, Suriye, Cezayir ve Çin izlemektedir (Anonim, 2005a).

Türkiye 2007 yılı itibariyle 390 bin tonluk taze kayısı üretimi ile dünya üretiminin %24.5'ini 79 bin tonluk kuru kayısı üretimi ile dünya kuru kayısı üretiminin %79.7'sini tek başına karşılamıştır (TÜİK, 2008). Yaklaşık 32 ülkede üretilen yaş kayısının en büyük üreticisi olan Türkiye'nin yıldan yıla değişmekte birlikte dünya

kayısı üretiminin yaklaşık %20'sini karşıladığı, Türkiye'de yaş kayısı üretiminin %60'ının Malatya ilinde gerçekleştiği ve böylece Malatya kayısısının dünya yaş kayısı üretiminin yaklaşık %11'ini karşıladığı belirtilmiştir (Anonim, 2003).

Malatya kayısı, Türk ekonomisinin önemli ihracat kalemlerinden biridir. Malatya dışında Erzincan ve Elazığ'da da ihracata yönelik kayısı üretimi yapılmaktadır. Kars, İğdır, Mersin, Hatay gibi bölgelerde yetişen az miktarda kayısı ise, miktar yetersizliği ve kalite açısından ihraç edilme şansı taşımamaktadır. Birinci bölgedeki kayısların çoğunluğu kurutulmakta ve bu bölge dünya kuru kayısı üretiminin yaklaşık %85-90'ını karşılamaktadır. Halen dünyada en yaygın olarak Anadolu'da bulunur.

Türkiye'de üretilen kayısların önemli bir kısmı kurutularak tüketime sunulmaktadır. Ayrıca, şeker ve nem oranı itibarıyle en kaliteli kurutmalık kayısıyı üreten ve mevcut üretimin yaklaşık %80'ini gerçekleştiren Türkiye'nin dünya kuru kayısı üretiminde de ilk sırada yer aldığı ifade edilmektedir (Olgun ve Adanacioğlu, 2001). FAO'nun 1998 yılı tahminlerine göre, dünya pazarlarındaki kuru kayısı üretiminin %83'ü Türkiye'de gerçekleşmiştir (Gezer vd., 2002). Türkiye, Avustralya ve İran dünyada kuru kayısı üretimini ve ticaretini en çok gerçekleştiren ülkelerdir. Kuru kayıslar dünyada başta Amerika Birleşik Devletleri, Birleşik Krallık, Almanya, Avustralya, Hollanda olmak üzere birçok ülkeden talep görmekte ve dünya ticaretinde önemli bir rol oynamaktadırlar (Toğrul ve Pehlivan, 2003). Çizelge 1.6'de Türkiye'nin kuru kayısı üretim, ihracat miktarları ve ihracat tutarı verilmiştir.

Çizelge 1.6 Kuru kayısı üretim, ihracat miktarları ve ihracat tutarı (MTB, TUİK, 2010).

Yıllar	Ekim Alanı (Dekar)	Üretim (Ton)	İhracat Miktarı (Ton)	İhracat Tutarı (US \$)
2001	960.950	460.182	99.047	89.137.733
2002	967.658	557.572	70.151	122.462.402
2003	1.020.292	716.415	72.810	152.563.907
2004	1.040.561	660.894	80.214	199.427.435
2005	1.080.534	450.000	94.808	179.613.793
2006	884.500	470.000	110.792	194.428.529
2007	895.000	315.000	102.281	236.613.673
2008	900.000	460.000	95.768	313.059.231
2009	900.000	320.000	97.875	276.210.428
2010	1.080.534	254.838	74.971	262.875.000

1.4 *Aspergillus* spp.

Aspergillus spp. saprofitik özellikte doğada, havada ve toprakta en yaygın bulunan fungus cinslerindendir. Özellikle kurutulan ve depolanan besinlerde bulaşık olarak yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Ekolojik ve tıbbi bakımından önemlidir, yaklaşık 150'den fazla türe sahiptir. Ayrıca *Aspergillus* spp. gıda endüstrisinde, fermantasyon uygulamalarında ve ilaç sanayi gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Domsch vd., 1980; Klich, 1993; Pitt vd., 2000; Samson vd., 2002; Fischer ve Dott, 2003). Bu türler ürünler tarlada iken, hasat sırası ve sonrasında, taşınma ve depolama aşamalarında gıdalarda bozulmaya neden olmaktadır. Diğer yandan üretme yeteneğinde oldukları mikotoksinlerle ciddi sağlık sorunlarına neden olmaktadır (Temiz ve Özkaya, 2003).

Fungal bulaşımlar sonucunda tarımsal ürünler ve gıda maddeleri biyokimyasal ve duyusal değişimlere uğramaktadır. Diğer yandan fungusların neden olduğu enzimatik ve kimyasal reaksiyonlar sonucunda da gıdalarda hızlı bozulmalar olmaktadır. *Aspergillus* gibi ipliksi gelişen funguslar direkt gıdaların bozulmalarına neden oldukları gibi doğal metabolizma faaliyetleri sırasında üretikleri ikincil metabolitlerle de hem ürün kalitesini bozmakta hem de sağlık sorunlarına neden olmaktadır (Özay, 1989).

1.5. Mikotoksinler

Dünya nüfusunun her geçen gün hızla artması, bilim çevrelerini düşündüren çeşitli sorunları da beraberinde getirmektedir. Bunların başında da şüphesiz Dünya genelinde yaşanan yetersiz beslenme dolayısıyla açlık sorunu gelmektedir. Artan nüfusa karşılık azalan tarım alanları, bilim adamlarını yeni teknikler ve kaynaklar aramaya zorlamaktadır. Dünyada gıda yetersizliği nedeniyle birçok ülkede insanların açıktan ölmesinin yanı sıra gıda zehirlenmeleri nedeniyle de önemli sorunlar ortaya çıkmaktadır.

Günlük yaşamımızda sık görülen ve hemen her çeşit gıda maddesinde üreyebilen funguslar, son yıllarda üzerinde önemle durulan bir araştırma konusu olmuştur. Funguslar, uygun koşullarda ham ve işlenmiş materyalde çoğalarak bir yandan ürünün kalite ve kantitesini değiştirip bozulmasına neden olmakta diğer yandan da insan sağlığı için az veya çok zararlı toksik maddeler oluşturmaktadırlar.

Funguslar, doğada toprak, su, hava ve organik kalıntıların mikoflorasında yaygın olarak bulunan, klorofil içermeyen, heterotrofik (organotrof) mikroorganizmalardır. Saprofitik özellikleri ile birçok organik maddeyi kullanarak büyümeye ve çoğalmaları için

gerekli yapıları, dışarıya ihtiyaç duymadan sentezleyebilirler ve bu özellikleri sayesinde koruyucu tabakaları zarar görmüş olan birçok gıda maddesi üzerinde kolayca kolonize olabilirler. Funguslar gıdalarda yumuşamaya neden olan reaksiyonları katalizleyen ekstrasellüler proteolitik ve lipolitik enzimlere sahiptirler (Karadeniz ve Ekşi, 2002; Smith, 2001). Bu sayede ortama çeşitli enzimler salgılayarak kompleks organik yapıları daha basit yapılara çevirirler. Bu basit yapılar daha sonra funguslar tarafından hücre yapıları için gerekli olan katabolik ve anabolik sentezlerde kullanılırlar. Kullanım sonrası ortaya çıkan ürünler birincil ve ikincil metabolitler olarak ikiye ayrılırlar (Erdoğan ve Gürses, 2003; Omaye, 2004).

Mikotoksin, Yunanca mantar anlamına gelen “mycos” ve Latince zehir anlamına gelen “toxicum” kelimelerinin birleştirilmesinden türetilmiş ve belirli fungus formlarının bazı gıda ürünlerinde üretilenliği ikincil metabolizma ürünleridir (Quillien, 2002). Fungusların ve diğer organizmaların birincil metabolitleri, büyümeleri için gerekli olan metabolitlerdir. İkincil metabolitler ise sentezleyen organizmanın metabolizması ya da gelişimi üzerine belirgin bir öneme sahip olmayıp, üssel (aşırı hızlı artış) büyümeye fazı sonunda oluşmaktadır. Funguslarda ikincil metabolitlerin sentezlenme yolları; poliketit, terpenoid ve temel aminoasitlerin kullanımı şeklindedir. Mikotoksinler poliketit yoluyla sentezlenmektedirler. Üretilen mikotoksin miktarı fungusların üzerinde büyüdükleri substrata, fungusun türüne, bitki ve çevre etkenlerine göre değişebilmektedir (Karadeniz ve Ekşi, 2002; Smith, 2001; Nelson vd., 1993).

Mikotoksinler vücutta etkili oldukları organ ve dokulara göre veya etki mekanizmalarına bağlı olarak çeşitli etkilere sahiptirler. Mikotoksinler canlı sağlığı üzerinde kanserojenik, teratojenik (embriyonal zararlanmalar), tremorjenik (titreme ve refleks kayıpları sorunları), hemoraljik (doku ve organlarda kanama sorunları), dermatitik (deride lezyonlar), hepatoksik (karaciğer zararlanmaları), nefrotoksik (böbrek sisteminde zararlanmalar), nörotoksik (sinir sistemi zararlanmaları), etkilere neden olabilmektedir (Beuchat, 1992; Barnes, 1970; Eaton ve Gallagher, 1994; Henry vd., 1999).

Gıda ve yemler çok çeşitli fungusların saldırısına hedef olmakla beraber mikotoksin sentezleme yeteneğinde olan 100'den fazla fungusun yaklaşık 400 civarında mikotoksin ürettiği bildirilmektedir (Sharma, 1991). Mikotoksinlerin sentezlerini gerçekleştiren fungusları cinsleri veya türlerine göre sınıflandırmak çoğu zaman mümkün olamamaktadır. Bunun nedeni bir mikotoksinin çeşitli fungus cinsleri tarafından sentezlenebildiği gibi tek bir fungus cinsinin de farklı mikotoksinler

oluşturabilme kapasitesine sahip olabilmesidir. Gıdalarda bulunan önemli mikotoksinler ve bu toksinleri üreten türler Çizelge 1.7'de özetlenmiştir.

Çizelge 1.7 Gıdalarda bulunan önemli mikotoksinler ve bu toksinleri üreten türler (Anonim, 2000).

Mikotoksinler	Toksin Üreten Türler
Aflatoksin	<i>A. flavus, A. parasiticus, A. nomius</i>
Alternaria toksinleri: - Alternariol - Altertoksin - Tenuazonikasit	<i>A. alternata, A. tenuissima</i>
Fusarium toksinleri: - Trikotesen - Zearalenon - Fusarin C - Fumonisin	<i>F. culmorum, F. equiseti, F. graminearum, F. moniliforme, F. poae, F. sambucinum, F. sporotrichioides, F. verticillioides</i>
Sitrinin	<i>A. terreus, P. expansum, P. citrinum, P. citreonigrum, P. verricosum</i>
Patulin	<i>A. clavatus, A. terreus, B. fulva, B. nivea, P. variotii, P. griseofulvum, P. expansum, P. roquefortii Chemotyp II</i>
Penisilikasit	<i>A. alutaceus, P. auratiogriseum, P. roquefortii Chemotyp II, P. simplicissimum, P. raistrickii, P. viridicatum</i>
Siklopiazonikasit	<i>A. flavus, A. tamarii, P. camambertii, P. griseofulvum, P. Puberulum</i>
Okratoksin A	<i>A. ochraceus Gr., A. alutaceus, A. fresenii, E. herbariorum, P. verrucosum Chemotyp I ve II</i>
Sterigmatosistin	<i>A. versicolor, E. nidulans, Eurotium spp.</i>

Mikotoksinlerin kimyasal yapıları incelendiğinde çoğunun aromatik yapıda olduğu, daha az bir kısmının da alifatik bileşiklerden oluştuğu görülür. Genellikle yüksek sıcaklıklara dirençli oldukları gibi kendilerinin sentezledikleri toksinlerden olumsuz etkilenmezler (Karadeniz ve Ekşi, 2002; Smith, 2001).

1.6 Aflatoksinler

1.6.1 Aflatoksin Oluşturan Fungus Türleri

Aflatoksin filamentli funguslardan *Aspergillus* cinsine ait üç tür ve iki alt tür tarafından oluşturulur. Bunlar; *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius* türleri ve *A. flavus* spp. *columnaris*, *A. parasiticus* spp. *globosus* alt türleridir. Bunların dışında *Penicillium*, *Rhizopus* ve *Streptomyces* cinsleri belirtilmişse de çok sayıda fungal izolatın taraması sonucu yalnızca iki *Aspergillus* cinsinin toksin üretmeye muktedir olduğu belirlenmiştir. Son yıllarda üçüncü bir tür olarak *A. nomius* bunlara eklenmiştir. Aflatoksin oluşturduğu saptanan ilk fungus *A. flavus'* dur. Bu üç türün bütün suşlarının toksini sentezlemeleri söz konusu değildir. Gıdalardan ve yemlerden izole edilen ve toksin üretimi açısından test edilen 3000 civarında *A. flavus* suşundan %76'sının bu yeteneğe sahip olduğu gösterilmiştir. Türkiye' de yapılan iki ayrı çalışmada aflatoksin üretme yeteneği / test edilen *A. flavus* sayısı 3/18 ve 20/43 olarak belirlenmiştir. Bu sonuç izole edilen ve tanılanan üç türe ait suşların aflatoksin oluşturma yeteneklerinin mutlaka tek tek test edilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. *A. flavus* bütün dünyada daha yaygın olarak bulunur. *A. parasiticus* ise daha fazla tropik ve subtropik iklim bölgelerinde görülür. Her ikisine de topraklarda sıklıkla rastlanır. Havada, canlı veya ölü hayvanlar ve bitkiler üzerinde de bulunurlar. Fungusların aflatoksin üretimleri; genetik potansiyel, çevre koşulları (a_w , sıcaklık, substrat, pH, redoks potansiyeli) ve fungusla substratin bulaşması gibi faktörlere bağlıdır (Tunail, 2000).

Aspergillus'lar mezofilik (oda sıcaklığında gelişebilen) karakterli olup 6-8 °C'tan 50-60 °C'a kadar gelişebilirler. Optimum gelişme sıcaklıkları 35-38 °C'dir. 10-13 °C'lerin altında ve 41-42 °C'ların üzerinde aflatoksin oluşumu sınırlanır. En yüksek toksin oluşumuna ise 25-30 °C'lara ulaşır. Yapılan denemelerle; belli bir sıcaklıkta ve sürede oluşan aflatoksin düzeyinin, dalgalı sıcaklıklarda ve aynı sürede oluşan aflatoksin düzeyinden çok daha az olduğu (1/4) gösterilmiştir. Buradan sıcaklıkların iklime bağlı olarak iniş ve çıkışlarının aflatoksin sentezini stimüle ettiği sonucu çıkar (Tantaoi ve Beraoud, 1994; Mabrouk ve El-Shayeb, 1980).

A. flavus ve *A. parasiticus* diğer bazı *Aspergillus* spp. ile birlikte kserofilik (çok az nemli ortamları seven) funguslar içinde yer alır. *Penicillium*' lar da birçok fungus türüne oranla daha düşük min. a_w (su aktivitesi) değerlerinde gelişebildiklerinden kserotolerant fungslara dahildir. *Aspergillus*'ların optimum gelişmeleri için gereken a_w : 0.97-0.99 olmakla birlikte gelişimlerini a_w : 0.80 değerinin altında da sürdürübirlirler. *A. parasiticus* gelişimi için min. a_w : 0.78-0.84 değerlerini talep ederken *A. flavus* min. a_w :

0.78-0.82 değerini ister. Toksin oluşumu için her ikisi de biraz daha yüksek min. a_w değerlerine gereksim duyarlar (*A. parasiticus* min. a_w : 0.87, *A. flavus* min. a_w : 0.83-0.87). Aflatoksin oluşumu için fungus türüne göre farklılık gösteren min. a_w değeri, substrata göre daha da farklılaşır. Toksinin sentezlenebilmesi için min. a_w değerleri pirinçte 0.70-0.75, mısırda 0.80, yer fistığında 0.85, salamda 0.94 olarak belirlenmiştir (Neziha, 2000). Çizelge 1.8'de *Aspergillus* mikotoksinleri ve minimum a_w değerleri verilmiştir (Weidenbörner, 1999).

Çizelge 1.8 *Aspergillus* mikotoksinleri ve minimum a_w değerleri (Weidenbörner, 1999).

Funguslar	Minimum a_w değerleri		Mikotoksinler
	Gelişme	Toksin Oluşumu	
<i>A. clavatus</i>	0.85	0.99	Patulin
<i>A. flavus</i>	0.78- 0.84	0.83- 0.87	Aflatoksin, Aspergilikasit, Aspertoksin
<i>A. fumigatus</i>	0.82	-	Fumagilin, Gliotoksin
<i>A. parasiticus</i>	0.78- 0.82	0.87	AFB ₁
<i>A. ochraceus</i>	0.76- 0.83	0.83- 0.87 0.80- 0.88	Okratoksin A Penisilikasit
<i>A. versicolor</i>	0.74- 0.78	-	Sterigmatosistin

Fungusların en yüksek düzeyde aflatoksin oluşturmaları pH 5.0-6.0' da gerçekleşmektedir. pH 4.0' ün altındaki ortamlarda gelişip toksin oluşturabilirlerse de hem misel gelişimi epey yavaşlar hem de toksin miktarı iyice azalır. Toksin sentezlenmesine en uygun substratlar glikoz, galaktoz ve sakkarozdur. Maltoz ve laktoz ikinci derecede elverişli, sorbitol ve mannositol ise elverişsiz substratlardır (Sweeney ve Dobson, 1998; Özdemir vd., 1998).

Düşük tuz konsantrasyonlarının (%1-3 NaCl) *Aspergillus* gelişimi ve toksin oluşumunu olumlu etkilediği, %8 NaCl düzeyinin gelişmeye ve toksin oluşumuna fazlaca imkan vermediği %14 NaCl konsantrasyonunda ise fungus gelişiminin tamamen durduğu görülür. Aflatoksin oluşumu atmosferdeki O₂ konsantrasyonun düşüşü veya CO₂ ile N₂ gazları konsantrasyonlarının modifiye atmosfer içinde artışı ile önemli düzeyde gerilemektedir (Yu vd., 2003; Gürses vd., 2003).

Yapılan çalışmalar sonucunda *Aspergillus* spp. üretikleri aflatoksinlerin insan ve hayvanlarda akut aflatoksikozis, karaciğer kanseri, hint çocuk sirozu, reye sendromu, encefalopati ve nefrotoksititeye hastalıklarına neden oldukları saptanmıştır (Carma vd., 1996).

1.6.2 Aflatoksinlerin Kimyasal Özellikleri

Aflatoksinler, *A. flavus* ve *A. parasiticus* ve *A. nomius* fungusları tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir (Pitt ve Hocking, 1997). Aflatoksinler difuranokumaninler olarak adlandırılıp iki gruba ayrılır: difurokumarosiklopentenon serisi (AFB₁, AFB₂, AFB_{2A}, AFM₁, AFM₂, AFM_{2A} ve aflatoxicol) ve difurokumarolakton serisi (AFG₁, AFG₂, AFG_{2A}, AFGM₁, AFGM₂, AFGM_{2A} ve AFB₃). Aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂ ve M₁ doğal floresan verirler. Aflatoksin B₁ ve B₂ 365nm dalga boylu UV ışığında mavi floresan; G₁ ve G₂ yeşil floresan verir (Boundra vd., 1994; Pitt ve Hocking, 1997; Helferich ve Winter, 2000; Cole ve Milbra, 2003; Betina, 1993). Aflatoksinlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri Çizelge 1.9'da gösterilmiştir.

Çizelge 1.9 Aflatoksinlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri (Cole ve Milbra, 2003).

Aflatoksin	Molekül	Molekül Ağırlığı	Erime Noktası (°C)
B ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312.06339	268-269
B ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.07904	286-289
G ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328.05830	244-246
G ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330.07395	237-240
M ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328.05830	299
M ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330.07395	293
B _{2A}	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330.07395	240
G _{2A}	C ₁₇ H ₁₄ O ₈	346.06887	190

Aflatoksinler suda çözünmediklerinden, kloroform, metanol, asetonitril, aseton, diklorometan gibi polar organik solventlerle ekstrakte edilirler (Stroka vd., 2000; Blesa vd., 2003; Betina, 1993).

Aflatoksin oluşumları ısıl işlemlerle yok edilememekte fakat toksin oluşumlarının devam etmesi engellenerek toksin konsantrasyonu azaltılabilmektedir. Örneğin %30 nem içeren pamuk tohumu yeminde 2 saat 100°C'lık ısı uygulaması ile aflatoksinde %85'lik azalma meydana gelmektedir. Yem %6.6 nem içerdiginde aynı koşullarda %50 oranında aflatoksin azaltılabilmektedir (Magan ve Olsen, 2004).

Amonyak (NH_4OH)-ıtı işlemi ve yüksek basınç beraber kullanıldığında aflatoksin oluşumlarının devam etmesinin engellendiği bildirilmektedir. Bu reaksiyon sonucu lakton halkası açılmakta ve aflatoksin molekülü inaktive olmaktadır. Bunun yanında monometilamin, NaOH, NaOCl ve hidrojen peroksit de aflatoksinin yapısını bozan bileşiklerdir. Etanol fermentasyonu ise aflatoksinin azaltılmasına çok az etki göstermiştir (Helferich ve Winter, 2000; Park vd., 2000).

1.6.3 Aflatoksinlerin Toksik Etkileri

Mikotoksinler arasında en kuvvetli toksik etkiye sahip olan aflatoksinler, ilk defa 1960 yılında İngiltere'nin güney bölgesinde 100.000 hindi ve ördek yavrusunun ölümüne sebep olan "Hindi X" hastalığı ile ortaya çıkmıştır. Yapılan yoğun incelemeler sonucunda, ölümlerin Brezilya'dan ithal edilen ve yeme katılan yer fistığı küspesinden izole edilen *A. flavus* türü ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. *Aspergillus* cinsleri içerisinde aflatoksin ilk defa *A. flavus*'ta saptandığından bu fungusun adının ilk harfleri kullanılmış ve bu mikotoksine aflatoksin adı verilmiştir (Stolof, 1980).

Aflatoksinler, mikotoksinler arasında insan sağlığı açısından en tehlikeli olan kanserojenik maddelerdir. Dünya kanser ajansı (IARC) tarafından 1. sınıf insan kanserojeni olarak sınıflandırılmıştır (IARC, 2002).

Aflatoksinler içerisinde AFB_1 ($\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_6$) grubun en toksik ve kanserojenik potansiyele sahip olanıdır. Gıda maddesi yoluyla alınan AFB_1 'in orijinal formda toksik aktivite göstermediği, muhtemelen karaciğere taşınım sonrasında çeşitli enzimler vasıtıyla biyotransformasyona uğrayarak kanserojenik ve mutajenik bir özellik kazandığı belirtilmektedir (Moss, 2002).

Aflatoksinler yüksek dozlarda akut, sub-lethal (öldürücü dozun altında) dozlarda ise kronik toksisite göstermektedirler. Düşük dozda sürekli alımları, birçok hayvan denemesinde karsinojen etki ile sonuçlanmıştır. Aflatoksinler içerisinde en yüksek toksik etkiyi aflatoksin B₁ göstermektedir. Aflatoksinler çeşitli canlılarda etkili olmakta, ancak duyarlılık türden türde değişmektedir. Örneğin, aynı türün genç olanları aflatoksinlere karşı yaşlı olanlardan daha duyarlıdır. Ayrıca toksik etki, tüketilme miktarı ve sıklığına, canının türüne, yaşına, cinsiyetine, sağlık durumuna ve beslenmesine bağlı olarak değişmektedir (Bullerman, 1979; Hsieh vd., 1977; Bullerman, 1986).

Civciv, piliç ve ördek yavruları gibi kanatlı hayvanlar aflatoksinlere karşı en duyarlı canlılardır, bunları sırasıyla hindi yavrusu, sülün palazı, tavuklar ve bildircinler

izler. Memeliler arasında ise aflatoksinin etkilenme sırası; 3-12 haftalık domuzlar, dana, sığır ve koyunlar şeklindedir. Alabalıklar ve köpekler de aflatoksinin duyarlı hayvanlardır. Alabalıklarda, ppb düzeyinde çok düşük konsantrasyonda bile karaciğer kanseri görülmektedir (Bullerman, 1979; Smith ve Moss 1985).

Aflatoksinlerin insanlarda akut zehirlenmelere neden olduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir. Tayvan'da funguslu pirinç tüketen 26 kişi hastalanmış ve bunların arasında 3 çocuk, ayaklarda ödem, karın ağrısı, kusma, karaciğerde büyümeye gibi belirtilerden sonra ölmüştür. İncelenen pirinç örneklerinde 200 ppb aflatoksin bulunmuştur (Wilson, 1978).

Uganda'da 15 yaşında bir çocuk, Tayvan'daki çocuklara çok benzer belirtilerle ölmüş ve bu çocuğun da 1.7 ppm aflatoksin içeren "cassava" yediği belirlenmiştir. Patolojik bulgu olarak akciğerde ödem, kalp yetmezliği, karaciğerde nekroz ve yağlanması görülmüştür. Aynı aileden iki çocuk daha hastalanmış, ancak daha az yedikleri için kurtulabilmişlerdir (Palmgren ve Hayes, 1987).

Tayland'da da 3 yaşındaki bir çocuk "Reye's sendromu" sonucu ölmüş ve çocuğun 2 gün önce yediği pirincin 10 ppm aflatoksin içerdığı saptanmıştır (Bullerman, vd., 1979).

1974'de Hindistan'da, 15 ppm kadar yüksek düzeyde aflatoksin içeren bulaşma mısıri yiyen 320 kişinin %25'i ölmüştür. Ancak bu kadar yüksek bir bulaşmayla karşılaşma olasılığı çok azdır (Pohland, 1993).

1.6.4 Aflatoksin Yasal Limitleri

Bugün dünyada hemen hemen bütün ülkeler, bu tehlikeden korunmak ve ihraç ettikleri ürünlerin geri dönüşünü azaltmak için gıda ve yemlerde bulunabilecek aflatoksin düzeyleri için limitler belirlemektedir. Avrupa Birliği'nin yukarıda sözü edilen direktifinde; "...bugünkü bilimsel ve teknolojik bilgilerin ve üretim/depolama tekniklerindeki gelişmelerin, bu toksinlerin oluşumunu tamamen önleyemediği ve bu - ve yukarıda sözü edilen nedenlerle de, mümkün olduğu kadar düşük limitler belirlenmesi gereği" belirtilmektedir (EC, 1998).

Mikotoksinlerle ilgili uluslararası yasal düzenlemeler FAO, WHO, FDA, UNDP kuruluşları tarafından oluşturulmakta ve yönlendirilmektedir. FAO (1997) verilerine göre, dünya çapında 77 ülkede mikotoksinler için uygulanan özel yasal düzenlemeler ve 30 ülkede bazı genel sınırlamalar bulunmaktadır. Bununla birlikte çoğu Afrika'da

bulunan 50 ülkede ise mikotoksinlerle ilgili düzenlemeler hakkında herhangi bir bilgi bulunmamaktadır (Egmond, 1999).

AB ülkeleri, 1998 yılına kadar gıda maddelerindeki aflatoksin için farklı standartlar uygulamıştır. Portekiz, yerfistiği dışında diğer gıdalar için 20 ppb belirlerken, Avusturya, gıdaların hepsi için aflatoksin B₁'i 1 ppb olarak saptamıştır. AB, Haziran 1998'de gıdalarda maksimum aflatoksin kalıntı limitini azaltan komisyon düzenlemesi (1525/98), örnekleme analiz metotları ve örnekleme yönteminin ayrıntısını belirten komisyon yönernesini (98/53/EC) benimsenmiştir. Komisyon yöneresi, daha çok işlenme durumuna bağlı olarak yerfistiğında toplam aflatoksin limitini 15 ppb (8 ppb B₁), diğer sert kabuklu meyvelerde ve kurutulmuş meyvelerde ise 10 ppb (5 ppb B₁) olarak belirlemiştir. Ayrıca doğrudan insan tüketimine yönelik işlenmiş tahıllarda, kurutulmuş ve sert kabuklu meyvelerde toplam aflatoksin limiti 4 ppb (2 ppb B₁) olarak belirlenmiştir. 2001 yılı FAO/WHO Kodeks komisyon toplantısında yapılan tartışmalar sonucunda AB'nin itirazlarına rağmen daha yüksek olan 0.5 µg/l düzeyi onaylanmıştır. FAO/WHO Gıda Kodeksi'nde ve Amerika Birleşik Devletleri'nde, gıdaların tamamında toplam aflatoksin limiti 20 ppb olarak belirlenmiş olup, AB toplam aflatoksin standardına göre çok daha yüksektir (Creppy, 2002).

Türk Gıda Kodeksi (TGK) Sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünlerinde AFLB₁ maksimum limiti 5.0 µg/kg olarak verilirken, toplam Aflatoksin (B₁+B₂+G₁+G₂) maksimum limiti 10.0 µg/kg olarak belirlenmiştir (TGK, 2009).

1.7 Aflatoksinlerin Detoksifikasyon Yöntemleri

Aflatoksin sorunu, insan sağlığı için büyük bir tehlike oluşturmasının yanı sıra, aynı zamanda ekonomik yönden de büyük önem taşımaktadır. Dünyada bu nedenle meydana gelen ekonomik kayıpların milyarlarca dolara ulaştığı belirtilmektedir. FAO, 1985 yılında, dünya gıda üretiminin %25'inin mikotoksinlerle bulaşık olduğunu rapor etmiştir. Bu ekonomik kayıplar üreticinin, hayvan, et, yumurta süt vb ürün kayıpları; işletmecinin ve dağıtımının yüksek maliyetlere sahip olması, son olarak tüketiciinin yüksek fiyatlar ve sağlık giderlerinin artması nedeniyle olumsuz etkilenmesine yol açmaktadır. Ayrıca bu konudaki mevzuat maliyetleri, araştırma ve eğitim maliyetleri de fazladan ekonomik bir yük getirmektedir (Pohland, 1993; Smith, 1997).

Meyve, sebze, tahlı ve diğer tarım ürünlerinde yetişme, hasat, depolama ve işleme esnasında aflatoksin bulaşımlarının yok edilmesini sağlamak günümüzde

bilim adamlarının en önemli amaçlarından biridir. Tarım ürünlerinin işlenmiş veya direkt gıda olarak kullanılması kaçınılmazdır. Bu durumda funguslarla bulaşık tohum kullanılmaması, böcek ve hastalıkların kontrolü, yeterli aşılama, kuraklıktan mümkün olduğunda korunma, ürünleri uygun zaman ve şekilde hasat etme, mekanik hasarı en aza indiren hasat tekniklerinin kullanımı gibi önlemler, fungal yerleşim ve aflatoksin oluşumunu engelleyebilmektedir (Busby ve Wogan, 1984).

Ancak ne yazık ki aflatoksin oluşumları meydana geldikten sonra yok edilememekte sadece toksin konsantrasyonunun artışı çeşitli tekniklerle kontrol altına alınabilmektedir. Gıda ve yemlerde aflatoksin oluşumunun önlenmesi büyük önem taşımaktadır. Aflatoksin oluşumunun önlenmesinde öncelikle hammaddenin tarlada gelişimi, hasadı, depolanması, nakliyesi, ürüne işlenmesi ve ürün elde edilmesi aşamalarındaki fungus bulaşımın engellenmesi veya en aza indirilmesi önem taşımaktadır. Mikrobiyal bulaşmayı tarlada kontrol altında tutmak çok güçtür. Ancak, mikrobiyal bulaşma ürünün hasadı ve onu izleyen aşamalarda alınacak hijyen ve sanitasyon önlemleri ve bilinçli uygulamalarla büyük ölçüde engellenebilir. Aflatoksin oluşumunun önlenmesinde önemli bir diğer adım ise hammadde, ara ürünler ve son ürüne çeşitli şekillerde bulaşan fungus türlerinin gelişimlerinin önlenmesidir. Bu da üretimde iyi bir teknoloji kullanma ve bilinçli uygulamalarla mümkün olabilir. Ancak fungusların gelişme isteklerinin az olması ve buna bağlı olarak da hemen hemen her yerde ve koşulda üremeleri nedeniyle, mikotoksin oluşumunun önlenmesinde büyük güçlükler yaşanmaktadır ve çoğu kez başarısız kalınabilmektedir. Aflatoksin bulaşmanın önlenemediği durumlarda üründen aflatoksinin uzaklaştırılması ve detoksifikasyon amacıyla çok sayıda araştırma yapılmakta ve fizikal, kimyasal ve biyolojik birçok yöntem denenmektedir (Goldblatt ve Dollear, 1977; Tunail, 2003).

Hasat sonrası aflatoksin bulaşımlarının önlenmesi hasat edilen ürünün hızlı bir şekilde kurulması, depolama ve nakliyat işlemlerinin aflatoksin oluşumunu desteklemeyecek nem seviyelerinde yapılması sayesinde kontrol altında tutulabilir. Bunun yanında hasat edilen ürünlerde depolama esnasında sensör, UV veya vakum gibi uygulamalarla bulaşık ve olası toksin içeren ürünler teşhis ve ayırt edilerek ürünün sağlam kısmına bulaşma önlenebilir veya azaltılabilir. Bu uygulamalar sayesinde aynı zamanda yüksek oranda bulaşık tahlil ürünlerinin üretim serilerinin belirlenmesi ve market zincirine girip daha yüksek miktarda yiyecele bulaşma neden olmadan elimine edilmesi de mümkün olabilmektedir (Busby ve Wogan, 1984; Steyn ve Stander, 1999).

Aflatoksin üretimi için optimum sıcaklık 20-38°C olmasına rağmen daha uzun süreli inkübasyonlarda 7-12°C'lik sıcaklığa sahip ortamlarda da üretim olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle daha düşük sıcaklıklarda depolama aflatoksin üretiminin engellemek için yeterli bir koşul sağlamamaktadır. Özellikle hasat öncesi kuraklığa bireleştiğinde hasat sonrası rutubetli depolama koşulları yüksek aflatoksin bulaşması ile sonuçlanır (Steyn ve Stander, 1999; Concon, 1988).

Tohum ve yağlar üzerinde etanol (%95), 2-propanol (%80), asetonun (%90) sulu çözeltileri ve hekzanın alkol, sulu alkol veya sulu asetonla olan karışımıları gibi bazı çözücüler ile denenen arındırma çalışmalarının aflatoksinleri ayırmada başarılı olduğu bildirilmektedir. Nemli veya kuru öğütme ile fraksiyonlandırma toksinlerin çok az bir miktarının geçmiş olması sağlanabilir. Bu miktar yine de izin verilen 20 µg/kg'luk düzeyi aşabileceğinden dolayı dikkatli olunmalıdır. Saf haldeki aflatoksinler genellikle erime dereceleri olan 250°C'ye kadar dayanıklıdır. Isı uygulanan bulaşık ürünlerde bir miktar aflatoksin kaybının meydana gelmesi büyük olasılıkla nem, pH ve çevrenin kompleks yapısı nedeniyle oluşmaktadır. Bu yöntemin pratikte bir detoksifikasiyon yöntemi olarak kullanılamamasının nedeni aflatoksinlerin yukarıda belirtildiği gibi ısı uygulamalarına dayanıklı olmaları ve söz konusu yüksek ısı uygulamalarında ürünün besin değerini kaybedecek olmasıdır. Örneğin sütteki aflatoksinin pastörizasyon, depolama ve çeşitli işlemlere tabi tutulması sürecinde değişen sıcaklıklara dayaniksız olduğuna dair raporlar bulunmaktadır fakat sütteki aflatoksinin sütün içerdiği besleyici bileşenlere zarar vermeden uzaklaştıracak veya etkisiz hale getirecek bir yöntem henüz bilinmemektedir (Busby ve Wogan, 1984).

Yerfistiklerinin kavrulması, misirların patlatılması gibi bazı pişirme işlemleriley de aflatoksin düzeyleri azaltılabilir fakat bu azalma çok az düzeyde olduğu bildirilmiştir (Steyn ve Stander, 1999).

Aflatoksin bulaşıklıkları yerfistiği ve ürünlerinde rastlanan önemli sorunlardan biridir. 38'i hasattan hemen sonra, 16'sı kurutma ve 22'si depolama dönemlerinden alınmış toplam 76 yerfistiği aflatoksin oluşumları CD-ELISA yöntemi ile belirlenmiştir. Hasattan hemen sonra alınmış olan 38 örneğin 5'inde ve kurutma aşamasında 2 örnekte toksin içeriği saptanmazken, hasat sonrası 33 örnekte 0.2-16.3 ppb, kurutma döneminde 14 örnekte 0.2-11.2 ppb ve depolama döneminde 22 örnekte 0.1-38.1 ppb seviyelerinde toksin bulaşıklığı belirlenmiştir. Yerfistiğine yüksek sıcaklık uygulamasına rağmen toksin artışı gözlemlenmiştir (Gürsoy ve Biçici, 2006).

Baharatlarla, UV lambası ve vakumlama gibi çeşitli detoksifikasyon çalışmalarında karabiber, tarçın, nane, kekik, zencefil gibi baharatların aflatoksin oluşumunu kısmen veya tamamen inhibe ettiği gözlenmiştir. Bu baharatların fungusların çoğalmasından çok aflatoksin oluşumunu engelledikleri düşünülmektedir (Tantaoi ve Beraoud, 1994; Mabrouk ve El-Shayeb, 1980).

Yapılan çalışmalar sonucunda amonyaklamanın arındırma çalışmalarında en etkin kimyasal uygulama olduğu saptanmıştır. Araştırmalar; amonyak uygulanmasının aflatoksinlerin tamamına yakınının inaktive edebildiğini ortaya koymuştur. Ancak ürünün kullanımdan önce amonyağın uzaklaştırılması için tamamen kurutulması gerekmektedir (Williams ve Iatropoulos, 1996).

Aflatoksin molekülü asit, baz ve okside edici ajanlardan oldukça etkilenen bir moleküldür. Bulaşma ürünlerin kimyasallarla muamelesinin aflatoksin miktarını azaltmada etkin olması mümkün olsa da diğer olası toksik maddelerin oluşması, besin değeri kaybı ve protein kalitesindeki düşüş, organoleptik özelliklerde istenmeyen değişiklikler ve maddi kayıp gibi diğer faktörler de göz önünde bulundurulmalıdır (Girgin vd, 2001).

Fındık ve keten tohumu üzerinde yapılan pek çok arındırma çalışmaları sonucunda amonyak, metilamin, sodyum hidroksit ve formaldehitin oldukça etkili kimyasallar oldukları saptanmıştır. Bu işlemlerden amonyaklamanın en etkin uygulama olduğu bildirilmiştir (Steyn ve Stander, 1999).

Çeşitli çalışmalarda amonyak uygulamasının aflatoksinlerin inaktive edilmesiyle sonuçlandığı bildirilmiştir. Ancak ürünün kullanımdan önce amonyağın uzaklaştırılması için tamamen kurutulması gerekmektedir. Amonyak pek çok yiyecekte aflatoksinlerin detoksifiye edilmesi için gaz veya amonyum hidroksit çözeltisi halinde kullanılmaktadır (Steyn ve Stander, 1999; Busby ve Wogan, 1984). Amonyak aflatoksin etkileşmesinde aflatoksinin lakton halkasının açıldığı ve takiben aflatoksin bileşiginin meydana geldiği gösterilmiştir. Amonyaklanmış ürünler hayvanlarda herhangi bir toksisiteye neden olmamıştır. Amonyaklanmış tahıllarla beslenen inek sütlerinde aflatoksin rastlanmamasının yanı sıra karaciğer, böbrek ve kalpte de herhangi bir aflatoksin kalıntısı bulunmadığı gözlenmiştir. Metilaminle yapılan çalışmalarda ise bileşigin keten tohumu ürünlerinde, özellikle sodyum hidroksit varlığında aflatoksinleri önemli ölçüde etkisiz hale getirirken başta karaciğer büyümesi olmak üzere organizmada istenmeyen bazı etkiler oluşturduğu gözlenmiştir. Fenilik antioksidanlardan olan bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) ve bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) ile yapılan çalışmalarla, bu

iki antioksidanın farelerde karaciğer kanserinin başlatma aşamasını inhibe ettiği gözlenmiştir. BHT'in etki mekanizması karaciğer glutatyon-S-transferazlarını (GST) indükleyerek AFB₁ 8,9-epoksitin DNA'ya bağlanması etkin olarak inhibe etmesidir (Allameh, 1997). Farelerle yapılan çalışmalarda BHA'ün etkisinin BHT'den daha fazla olduğu belirlenmiştir (Williams ve Iatropoulos, 1996).

Sodyum hipoklorit, formaldehit-kalsiyum hidroksit karışımı ve bisülfüt gibi pek çok bileşikle çalışmalar yapılmasına rağmen günlük kullanıma çok az madde girebilmiştir. Örneğin Hindistan'da düşük konsantrasyonda hidrojen peroksitin yerfışıği ürünlerinin mikotoksinlerden arındırılmasında kullanımına izin verilmektedir (Busby ve Wogan, 1984).

Hayvan yemlerine ilave edilen aktif karbon, sodyum bentonit, sodyum aluminosilikat hidrat gibi sekestre edici ajanların aflatoksinlerden arındırma amacıyla yapılan çalışmalarda hidrojene sodyum kalsiyum alüminosilikat (HSCAS)'ın aflatoksinleri bağlamada oldukça etkili olduğu saptanmıştır (Steyn ve Stander, 1999). Yemlerine HSCAS (Hidrat Sodyum Kalsiyum Alimünyum Silikat) ilavesi yapılan ineklerin sütlerine itrah edilen AFM₁ miktarında anlamlı bir azalma olduğu bildirilmiştir (Edrington vd., 1996).

Aflatoksin bulaşmanın engellenmesi amaçlı bir başka yaklaşımı da *A. flavus* ve *A. paraciticus*'un toksijenik olmayan suşlarının geliştirilip bunlar aracılıklı, biyolojik mücadele kapsamında toksik olan *Aspergillus* türlerinin üremesinin yavaşlatılabilmesi veya durdurulabilmesidir (Steyn ve Stander, 1999).

Günümüzde detoksifikasyon çalışmaları arasında çevre dostu, sağlık üzerinde zararlı etkisi bulunmayan, kolay uygulanabilir sistemlerinden biri olan ozon uygulamaları dikkati çekmektedir. Ozonlama yoluyla aflatoksin oluşumlarının artışının engellendiği, toksin konsantrasyonunun sabitlendiği yada azaltıldığı çeşitli çalışmalarda araştırılmıştır (Öztekin vd., 2006; Tzortzakis vd., 2007; Zorlügenç vd., 2008; Akbaş ve Özdemir, 2008).

1.8 OZON

Son derece karakteristik bir kokusu olan ozonun (O₃) yararları ilk kez 1840 yılında İsviçre'de Alman kimyacı Christian Fredrick Schönbein tarafından keşfedilmiştir. 1903-1906 yılları arasında Amerika'da bitkiler için su arıtımı alanında kullanılan ozon, 1940'larda içme suyu arıtımında kullanılmaya başlanmıştır. 1980'li yıllarda teknolojinin

gelişmesiyle ozon üretiminin kolay ve nispeten ucuz olmasına paralel olarak kullanım alanları artmıştır (Anonim, 2005; Beltran vd., 2005).

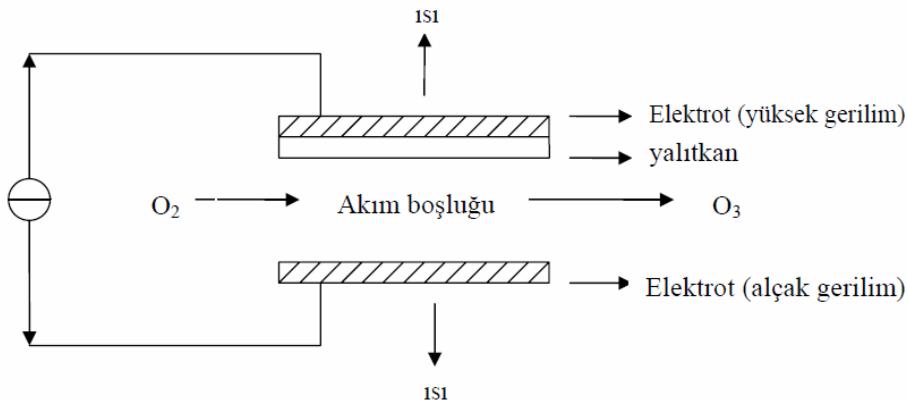
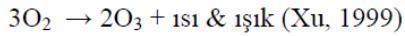
Gıda işleme ve suların dezenfeksiyonunda Avrupa'da yıllardır kullanılmasına rağmen, ozonun Amerikan gıda endüstrisinde kullanımına Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ancak 2001 yılında izin vermiştir (Xu, 1999; Palou vd., 2003).

Günümüzde ozon gıda endüstrisinde; yüzey hijyeni, ekipman dezenfeksiyonu ve atık suların yeniden değerlendirilmesinde başarı ile kullanılırken (Anonim, 2005). Ayrıca akvaryum, yüzme havuzu, soğutma suları, hastane su sistemlerinin dezenfeksiyonu ile tıp ve diş hekimliği gibi farklı alanlarda da ozon yaygın olarak kullanılmaktadır (Öztekin vd., 2006; Nagayoshi vd., 2004).

1.8.1 Ozon Üretimi, Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Ozon, diatomik oksijen moleküle (O₂) oksijen atomunun eklenmesiyle oluşan son derece kararsız bir moleküldür. Ozon ticari olarak Şekil 1'de gösterilen korona akım metodu ile oksijen moleküllerinin (O₂) elektrik akımından geçirilmesi yoluyla üretilmektedir (Rice vd., 1981). Oksijenin elektrik akımından geçirilmesi sırasında oksijen molekülü parçalanarak reaktif serbest oksijen atomuna dönüştürmektedir. Serbest oksijen atomları (O') moleküller oksijenle karşılaşlığında son derece kararsız olan ozon molekülü (O₃) oluşmaktadır. Ozon hızlı bir şekilde moleküller oksijene (O₂) ve serbest oksijen atomlarına (O') dönüştürmektedir. Daha sonra yeniden diğer serbest oksijen atomları ile birleşebileceği gibi, serbest oksijen atomları moleküller oksijene de dönüşebilmektedir. Bu moleküller ortamdaki diğer reaktiflerle de reaksiyona girebilmektedir. Bu nedenle ozon son derece reaktif bir bileşen olarak tanımlanmaktadır (Seydim vd., 2004).

Ozonun element florin, klorin trifluorid, atomik oksijen ve hidroksil radikalinden sonra termodynamik oksidasyon potansiyeli en yüksek olan 5. bileşen olduğu belirtilmektedir (Ketteringham vd., 2006). Şekil 1.1'de Korona akım metodu şeması verilmiştir.



Şekil 1.1 Korona akım metodu şeması (Rice vd., 1981).

Korona akım yönteminde biri yüksek akım diğerı alçak akım elektrotu olmak üzere iki adet elektrot kullanılmaktadır. Bunlar seramik dielektrik alanı ve dar bir boşaltım aralığı ile ayrılmışlardır. Yeterli kinetik enerji olması durumunda elektrotlar oksijen molekülünü ayırtırır ve her bir oksijen atomundan bir ozon molekülü oluşur. Jeneratörden hava geçirilmesi durumunda %1-3 ozon üretilirken, saf oksijen kullanılması durumunda bu değer %6'ya çıkmaktadır. Ozon gazı, kendiliğinden oksijen atomlarına parçalanması nedeni ile depolanamamaktadır (Seydim vd., 2004).

Saf halde bulunan ozonun bazı özellikleri Çizelge 1.10'da gösterilmektedir (Seydim vd., 2004). Ozonun suda çözünürlüğü üzerine sıcaklığın ve konsantrasyonun etkisi Çizelge 1.11'de gösterilmiştir. Ozonun suda kısmen çözündüğü ve diğer gazlarda olduğu gibi sıcaklık arttıkça çözünürlüğünün azaldığı bildirilmiştir (Anonim, 2005). Yüksek enerjili bir molekül olan ozonun oda sıcaklığında yarılanma süresinin 20 dakika olduğu ve bu süre sonunda kalıntı bırakmadan oksijene parçalandığı belirtilmektedir (Xu, 1999).

Ozon -112°C'de koyu mavi renkte bir sıvıya dönüşmektedir. Sıvı ozon %20'den fazla oksijen-ozon karışımı oluştukunda kolayca patlayabilmektedir. Patlamalar elektrik kivircımları, ani sıcaklık ve basınç değişimleri sonucunda da gerçekleşebilmektedir. Bununla birlikte, ozon patlamalarıyla pek sık karşılaşılmadığı belirtilmektedir (Seydim vd., 2004).

Ozonun gıda endüstrisinde sınırlı kullanılmasının nedeni ozon jeneratörlerinin hantal ve pahalı olmasından kaynaklandığı bildirilmektedir (Jaksch vd., 2004). Ozon

uygulamalarında kullanılan ekipman jeneratörler, gazın ürünle temas ettiği tanklar, gazdan arıtma sistemleri, ozon imha üniteleri, filtreler, ozon monitörleri ve egzoz sistemlerinden oluşmaktadır. Ancak teknolojideki gelişime paralel olarak yeni jeneratörlerin daha küçük olarak dizayn edilmesiyle birlikte ozon jeneratörlerine daha sık rastlamak mümkün olmaktadır. Nitekim günümüzde gıda işletmelerinde büyük modifikasyonlar yapılmadan, küçük bir alana sistem kurmak mümkün olmaktadır (Xu, 1999). Çizelge 1.10'da saf ozonun bazı özellikleri verilmiştir. Çizelge 1.11'de Ozonun suda çözünürlüğü üzerine sıcaklığın ve konsantrasyonun etkisi verilmiştir.

Çizelge 1.10 Saf ozonun bazı özellikleri (Seydim vd., 2004).

Özellik	Ozon
Formülü	O_3
Molekül ağırlığı	48
Renk	Açık mavi
Koku	Kendine has
Sudaki çözünürlük ($0^{\circ}C$)	0.64
Yoğunluk (g/L)	2.144
Kaynama noktası	-111.9±0.3°C
Erimme noktası	-192.5±0.4°C
Kritik sıcaklık	-12.1°C
Kritik basınc	54.6 atm

Çizelge 1.11 Ozonun suda çözünürlüğü üzerine sıcaklığın ve konsantrasyonun etkisi (Anonim, 2005).

% O_3 kons. (gaz)	5°C	10°C	15°C	20°C
1.5	11.09	9.75	8.40	6.43
2	14.79	13.00	11.19	8.57
3	22.18	19.50	16.79	12.86

1.8.2 Ozonun Antimikroiyal Etkisi

Ozon; bakteri, fungus, protozoa, virüs ile bakteriyel ve fungal sporlara karşı güçlü ve geniş spektrumlu bir antimikroiyal ajandır. Ozonun su ortamında farklı kimyasal bileşiklerle reaksiyonu, moleküller ozonun doğrudan reaksiyona girmesi veya serbest radikaller aracılığıyla parçalanma reaksiyonu şeklinde olmak üzere iki farklı mekanizmayla gerçekleşmektedir. Ozonun etkisiyle gerçekleşen biyokimyasal hasarlanmada ara reaktif ürün olarak singlet oksijen oluşturmaktadır. Çok adımlı olarak

gerçekleşen bu reaksiyonlar sonucu ozon mikroorganizmaları parçalamaktadır. (Khadre vd., 2001).

Mikroorganizmaların inaktivasyonunda antimikrobiyal ajan olarak geniş ölçüde kullanılması yanında güçlü okside edici özelliğinden dolayı mantar gelişimini kontrol altına almada ve mikotoksin konsantrasyonunu azaltmada da etkili bir şekilde kullanılabilmektedir. Ozon uygulamasını cazip kilan özelliklerden biri yarılanma ömrünün kısa olması ve 20-50 dak. gibi kısa bir süre içerisinde hiçbir kalıntı bırakmadan tekrar moleküller oksijene dönüşmesidir (Kells vd., 2001).

Ozon işlemi sonrası mikroorganizmada enzim dehidrojenasyon sistemi de parçalanmakta ve hücre solunumu etkilenderek ölüm gerçekleşmektedir. Enzim sistemindeki etki için diğer bir görüş de sülfidril gruplarının oksidasyonuyla (SH'nin S-S'ye dönüşümü) ölümün gerçekleştiği şeklindedir. Ozon ayrıca mikroorganizmaların genetik materyalinde hasara da sebep olmaktadır (Kim vd 1999; Moore vd., 2000).

Meyve ve sebzelerin bozulma ve çürümesine en çok neden olan mikroorganizmaların küfler olduğu bilinmektedir. Örneğin elma ve armutta oluşan mavi küflerin nedeni *P. expansum*, turunçgillerde oluşan yeşil ve mavi küflerin nedeni *P. digitatum* ve *P. italicum*, yine turunçgillerde gözlenen ekşi çürüklerin nedeni *Geotrichum citriaurantii*, üzümde meydana gelen gri küflerin nedeni de *Botrytis cinerea*'dir. Ozonlama, oluşan bu küfleri engellemek, azaltmak veya geciktirmek amaçlı birçok çalışma ve uygulamada yer almaktadır. Tüm bu çalışmalarda, ozon konsantrasyonları, temas zamanları, pH ve sıcaklık değiştirilmiştir. Buna göre, turunçgillerde, ozonlama işlemi yeşil, mavi fungus ve ekşi çürüklerin oluşumunu engelleymemekle beraber bu çürük oluşumlarını geciktirmektedir. Bu geciktirme özellikle düşük sıcaklıklarda daha çok telaffuz edilmektedir. Şeftalide oluşan kahverengi çürükler, aerobik bakteriler ve sporlar ozonlu su uygulamasıyla azaltılabilmeyecektir, bununla beraber artan ozonlama süresi ve ozon konsantrasyonu arttırıldığında yüzeyde istenmeyen çukurlar oluşabilecektir. Ayrıca ozon gazıyla uzun süreli soğuk depolama işleminde şeftalinin su kaybettiği kaydedilmektedir. Benzer şekilde ozonlu suya daldırma yöntemiyle çilekteki küf, maya ve aerobik mezofilik bakteriler ve üzümdeki gri funguslar azaltılabilmeyecektir. Ancak üzümdeki gri küfleri kontrol etmede düzensizlik söz konusu olmaktadır (Smilanick vd., 1999; Palou vd., 2001; Smilanick, 2002; Palou vd., , 2003; Palou vd., 2002; Gao vd., 2006).

Başka bir çalışmada, üzüm, marul, çilek, soğan, biber mantar, havuç, brokoli gibi birçok soğutulmuş meyve sebze su/hava ozonlaması kullanılarak dumanlama sistemi ile nemlendirilmiş ve bu işlemin sonucunda nemlendirmenin tüm ürünlerde ağırlık kaybını ve görünüş bozumlalarını azalttığı ifade edilmiştir (Brown, 2004).

Değişik bir çalışmada ise, kivi meyvesine ileri oksidasyon proseslerinden (AOPs) biri olarak kabul edebileceğimiz TiO₂ photocatalytic ozonlama yapılmış ve bu metodun fungal patojenleri, oluşan çürükleri kontrol etmede ve fungisit kalıntılarını azaltmada etkili olduğu belirtilmiştir (Hur, 2005).

Yapılan bir çalışmada, lahana, elma, havuç, salatalık, kavun, ıspanak, patates, marul ve portakal gibi birçok meyve sebze kullanılmış ve ozonlanmış suyun total mikroorganizmaları etkili şekilde azaltmasa da raf ömrünü uzattığı gösterilmiştir. Ayrıca ozon modifiye atmosfer paketinin de *Escherichia coli* popülasyonunu azalttığı ifade edilmiştir. Çilek ve dilimlenmiş marula ozonlama ve klorlama işlemleri uygulanmış ve sonuçlar karşılaştırılmıştır (Naito ve Takahara 2006).

Ozonlama, marulun kahverengileşmesini az miktarda artırılmış, solunum hızını ve sertleşme bozukluklarını geciktirmiştir. Çilek için ise iki metot arasında önemli bir fark kaydedilmemiştir (Wei, 2007).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Yeryüzündeki tüm canlılar varlıklarını sürdürmek ve soyları devam ettirebilmek için beslenmek zorundadır. Tüm gıda maddelerinde olduğu gibi üzüm, incir ve kayısı meyvelerinde fungal gelişim dolayısıyla aflatoksin oluşumu, hem ülke ekonomisi hem de halk sağlığı açısından önem arzettiği için çok sayıda araştırmaya konu olmuştur (Derici, 1997; Kocaşaban, 1991; Şanlı ve Kaya, 1992; Evren, 1999).

Toksin oluşumunda en önemli faktörlerden birisi depolama olup, depolanan ürünün nem miktarı, sıcaklık, depolama süresi, deponun nisbi nemi ve depolanan ürünlerdeki zararlı yoğunluğu gibi faktörler fungus gelişiminde etkilidir. Yapılan araştırmalar *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un aflatoksin üretmesi için depo sıcaklığının 25-30 °C ve nisbi nemin %85'ten fazla olması gerektiğini ortaya koymuştur (Charles ve Hurlburgh, 1995).

Yapılan bir çalışmada kuru üzümde, tespit edilen fungus türleri, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. parasiticus* olarak belirlenmiştir (Eltem, vd., 2001; Albayrak vd., 2002).

İncir mikoflorasında yaygın olarak *A. niger*, *A. parasiticus*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *P. expansum*, *Cladosporium spp.*, *Rhizopus sp*, *Fusarium spp*, *Trichoderma sp.*, *Mucor sp.* varlığı belirlenmiştir (Arıcı, 2001; Var vd., 2001). Bunlardan *A.niger*, *A.parasiticus-A.flavus* ve *Fusarium'un* en sık rastlanan funguslar olduğu belirtilmektedir (Heperkan, 2005).

Kayısı meyvesinde yapılan bir çalışmada ise, izole edilen üç fungus cinsi, *Aspergillus*, *Alternaria* ve *Rhizopus*'tur. *Aspergillus spp.* diğerlerine göre daha sık rastlandığı belirtilmiştir (El-Sayed vd., 2007; Pratella, 1996).

1996-2000 yılları arasında Türkiye'nin çeşitli yerlerinden alınan kuru üzüm, kuru incir, ayçekirdeği, iç ceviz, zeytin ezmesi, misirin ana madde olarak kullanıldığı gıdalar, bisküvi ve yaş maya olmak üzere toplam 2535 gıda maddesi örneği ve 726 karma yem örneğinde aflatoksin içerikleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda gıda örneklerinde aflatoksin bulaşıklığı ve yasal limit aşma oranları sırasıyla kuru incirde %13 ve %9.2, kuru üzümde %3.5 ve %0.9 olarak tespit edilmiştir (Anonim, 2002).

Yapılan bir çalışmada, Tunus'taki üzüm bağlarından temin edilen üzümlerde, aflatoksin üreten funguslar belirlenmeye çalışılmıştır. 100 *Aspergillus* cinsinden, en fazla *A. niger* (%70) en sık görülen fungus türü olarak belirlenirken, ardından *A. flavus* (%23) ve *A. carbonarius* (%7) olarak tespit edilmiştir. İzolatların mikotoksin üretme

kapasitelerinin de araştırıldığı bu çalışmada, *A. flavus*'un aflatoksin üretimi 21-54 µg/g olarak bulunmuştur (Fredj vd, 2009).

Lüblan'dan 2005 yılında, hasat döneminde temin edilen üzümlede 510 fungus türü izole edilmiştir. 510 izolatın 487'si *Aspergillus* spp. (%95.5) olarak belirlenirken, 23 izolat *Pencillium* spp. ait olduğu tespit edilmiştir. Siyah *Aspergillus* spp. %59.6 kısmı oluştururken bu kısmın içinde %52.2 *A. niger aggregates*, %2.9 *A. japonicus* ve %1.8 *A. carbonarius* yer aldığı bulunmuştur. Diğer *Aspergillus* cinslerinden %43.1 oranında *A. flavus* izole edilmiştir. Mikotoksin üretimi en fazla izole edilen *A. flavus* tarafından 22.6 µg/g olarak ölçülmüştür (El-Khoury vd, 2008).

Yapılan başka bir çalışmada, Kaliforniya'dan temin edilen üzüm örneklerinde 2,781-147 µg/kg arasında değişen oranlarda aflatoksin bulaşıklığı tespit edilmiştir (Hussein vd., 1986)

Brezilya'da satışa sunulan kuru incir örneklerinde yapılan çalışmada, analiz edilen 19 kuru incir örneğinin 10 adedinin (%53) 0,3 – 2,0 µg/kg aflatoksin ile bulaşma olduğunun belirlendiği, bir örneğin ise 1500 µg/kg Aflatoksin B₁ içerdiği rapor edilmektedir. Yapılan bu çalışmada elde edilen aflatoksinle bulaşık örnek yüzdesi %53 olarak tespit edilmiştir (Iamanaka vd., 2007).

Yapılan bir çalışmada, Erzurum piyasasından aflatoksin analizi için 2001 yılı içerisinde 17 kuru incir örneği temin edilmiştir. 17 incir örneğinin 5'inde (%29.4) aflatoksine rastlanmış ve toplam aflatoksin miktarları 4.1-33.9 µg/kg arasında belirlenmiştir. Yapılan çalışmada bir kuru incir örneğinde belirlediğimiz 33,9 µg/kg'luk değerin Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen 10 ppb'lik (10 µg/kg) sınır değerin oldukça üzerinde olduğu görülmüştür (Erdoğan vd., 2003).

Yapılan bir çalışmada, Türkiye'de 2003 ile 2006 yıllarında ihraç edilen incirlerden örnekler temin edilerek, HPLC (High-Pressure Liquid Chromatography) yöntemiyle aflatoksin analizi yapılmıştır. Her sevkiyat için kurutulmuş 30 kg incir örneklerinden harmanlanıp, 10 kg örnek alınmıştır. Ürünlerde 2 ng/g 'dan daha yüksek düzeyde aflatosin sıklığı görülmüştür. Ortalama 2003 yılında %0.6, 2004'de 2.0, 2005'de 4.0 ve 2006 yılında ise %2.4 olarak belirlenmiştir (Senyuva vd., 2007).

Yapılan bir çalışmada, Bursa ilinden temin edilen 15 kuru kayısı örneği, 25 kakaolu fındık kreması, 130 peynir örneğinde ELISA yöntemiyle aflatoksin analizi yapılmıştır. Kurutulmuş kayısı örneklerinde, $1.441.3 \pm 331.9$ ng/kg düzeyinde aflatoksin belirlenmiştir (Günsen ve Büyükyörük, 2002).

Yapılan başka bir çalışmada, kayısı meyvesinde en fazla *A. flavus* ve *A. niger* fungus türleri tespit edilmiş olup, *A. flavus* türünün üretmiş olduğu aflatoksin miktarı 0.98 µg/g olarak belirlenmiştir (Singh, 2012).

Yapılan başka bir çalışmada, Pakistanda çeşitli marketlerden temin edilen 180 kuru meyve örneğindeki aflatoksin düzeyleri, sıvı kromatorafi, floresan dedeksiyon ve immüne-affinity kromatografi yöntemleri ile analiz edilmiştir. Kurutulmuş kayısı (%20), hurma (%10), kurutulmuş dut (%26) oranında aflatoksin tespit edilmiştir. Tüm kontamine örnekler arasında 1 kayısı, 3 incir ve 1 üzüm örneğinde aflatoksin düzeyi 4-14 µg/kg arasında bulunmuştur (Ghosia ve Arshad, 2010).

Gıdalarda aflatoksin oluşumlarının ozonla detoksifikasyonu, işinlama, bakteriyosin uygulamaları konusunda yapılan derleme çalışmasında, kullanılan bu üç yöntemin gıda ürünlerinde bulunan patojenleri tahrip ettiği açıklanmıştır. Spesifik gıda üretim uygulamalarında bu üç yöntemin potansiyel bir koruma sağladığı rapor edilmiştir (Mahapatra vd., 2005).

Ozon uygulamasının mikotoksin ve pestisit kalıntıları problemlerinin çözümlenmesinde, ümit verici olduğu belirlenmiştir. Ozon uygulaması yapılmış gıdalardaki orta düzeydeki tehlikeli kalıntıların kendiliğinden ayrılabileceği belirtilmiştir. Ozon yeterli düzeyde uygulanmadığı taktirde gıdaların duyusal kalitesinde kayıplara neden olduğu gibi ürünlerde bazı eksikliklere sebep olabilir. Ozonun güvenli uygulaması ve etkisi her ürün için özellikle belirlenmesi gerektiği belirlenmiştir (Karaca ve Velioğlu, 2011).

Üzümlerde yaygın olarak görülen demet çürüklüğünü azaltmak için, üzümler depolama sürecinde 0.3 µL/L ozonla zenginleştirilmiş havayla 24 saat muamele edilmiştir. Kullanılan diğer kimyasallara göre ozonun etkisinin 1.6, 2.8 ve 3.6 kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Fungusların azaltılmasında ozonun etkisi önemli bulunmuştur (Karaca vd., 2011).

Türkiye'de yapılan bir çalışmada, kuru incirlerde *Bacillus cereus* sporları ve *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* sayılarının azaltılmasında ozon gazının etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın başlangıcında kuru incir örneklerine *E. coli*, *B. cereus* ve *B. cereus* sporları 10^7 m.o./g düzeyinde inoküle edilmiştir ve 25 °C'ta 1 saat ozonlamadan önce inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında örnekler reaksiyon tankı içerisinde %70 nem ile 20 °C'da ozon gazıyla muamele edilmiştir. Ozon uygulamasından sonra pH ve nem içerikleri gözlemlenirken, renk değişimleri önemsenmemiştir. *E. coli* ve *B. cereus*'u inaktif etmek için 0.1, 0.5 ve 1 ppm

konsantrasyonunda ve 360 dak. süreyle ozon gazı uygulanırken, *B. cereus* sporlarını inaktif etmek için 360 dak. 1.0, 5.0, 7.0 ve 9.0 ppm ozon gazı uygulanmıştır. *E. coli* ve *B. cereus* sayıları 1 ppm ozon konsantrasyonunda 360 dak. süreyle log 3.5 olarak azaldığı belirtilmiştir, *B. cereus* sporlarında ise 1 ppm ozon konsantrasyonunda ve 360 dak. sürede log 2.0 düzeyinden daha fazla azalma gözlemlendiği bildirilmiştir (Akbaş ve Özdemir, 2008).

Öztek'in ve arkadaşlarının ozon uygulamasının kuru incir mikoflorası üzerine etkisi konulu çalışmada, kuru incirlere mikofloranın inaktivasyonu için 3 ve 5 saat 5 ve 10 ppm gaz formunda ozon gazı uygulanmıştır. Total aerobik mezofilik mikroorganizma ve maya/fungus sayıları azalmıştır. Koliform bakterilerin ise %38 ve %72 düzeylerinde azaldığı gözlenenmiştir. Kuru incirlerde mikroorganizma sayısının azaltılmasında minimum 3 saat 5 ppm ozon uygulanması gerektiği vurgulamışlardır (Öztek'in vd., 2006).

Kuru incirlerde aflatoksin azaltılması ve mikrobiyal flora üzerine ozon gazı ve ozonlu suyun etkisi konulu çalışmada, kuru incirler 13.8 mg/L ozon gazı ve 1.7 mg/L ozonlu suya maruz bırakıldıktan sonra, aerobik mezofilik bakteri çeşidi, *E. coli*, koliform, maya ve fungus sayıları belirlenmiştir. Her iki ozon muamelesinde aerobik mezofilik bakteriler tamamen inaktif edilememiştir, *E. coli* ise 7.5 dak. içerisinde tamamıyla inaktif edilmiştir. 15 dak. ozon uygulaması fungusların inaktivasyonu için yeterli olduğu belirtilmiştir. Yapay olarak aflatoksin inoküle edilen örnekler sırasıyla, 30, 60 ve 180 dak. ozon gazı ve ozonlu su uygulanmış, ozon süresinin artışıdan dolayı her iki uygulamada aflatoksin parçalanması artmıştır. Ayrıca bu çalışmada, ozonlu su uygulaması ozon gazına göre aflatoksin azaltılmasında daha etkin olmuştur (Zorlugenç vd., 2008).

Mısır'da yapılan çürümüş kayısı meyvelerinde aflatoksin oluşumu hakkındaki bir çalışmada, çürümüş kayısı örneklerinde üç mantar cinsi izole edilmiştir. Bu cinsler *Alternaria*, *Rhizopus* ve *Aspergillus*'tur. *Aspergillus* spp. daha baskın olarak tespit edilmiştir. *Aspergillus* spp. kendi içerisinde değerlendirildiğinde, *A. niger*'in *A. paraciticus*'tan daha fazla olduğu saptanmıştır. *Rhizopus stolonifer* orta düzeyde olmuştu, *Alternaria* cinslerinin az sayıda bulunduğu belirlenmiştir. Sonuçta *Aspergillus* spp. çürümüş kayısı meyvelerinde önemli ölçüde yaşı ağırlık, meyve kalitesi ve kimyasal besin içeriğini azalttığı ifade edilmiştir (Embab' vd., 2007).

Yapılan bir çalışmada, kayısı, badem ve şeftali meyve fidanları 25 µL/L ozon konsantrasyonunda 4 saat süreyle uygun bir odada ozon gazına maruz bırakılmıştır.

Ürünlerin büyümesi üzerine ozon gazının etkisi olduğu belirlenmiştir. Badem ozona en duyarlı meyve fidanı olarak bulunmuştur. Kayısı ve şeftali fidanları ozonun etkisine duyarsız kaldığı ve kayısının gövdesinin kalınlaşmadığı gözlenlenmiştir (Patrick ve Robert, 1990). Ozonlu gazi ve ozonlu suyun taze narenciye, şeftali ve sofralık üzüm meyvelerinde mantar sporlarının azaltılmasına ilişkin çalışmada, hasat sonrası çürümeye neden olan mantar sporlarının ozonlu suyun etkisiyle ozon gazına göre daha hızla öldüğü bildirilmiştir. Taze narenciye, şeftali ve üzüm meyvelerine 1-10 ppm konsantrasyonunda ve 1-20 dak. süreyle ozon gazi ve ozonlu su uygulanmış, başlangıçta bulaşık olan fungus türlerinin %1.7-35 oranında azaldığı gözlemlenmiştir (Smilanick vd., 2002).

Yapılan başka bir çalışmada yerfistiği ve unda düşük ısı işlem uygulanarak ozonun etkisi incelenmiş ve uygulama yapılmamış örneklerle kıyaslanmıştır. Yerfistiği numuneleri belirli konsantrasyonlarda toplam aflatoksin ile bulaştırılmıştır. Ozonlanmış ve ozonlanmamış örnekler asetonitril-su kobra hücrede türetilmiş ve HPLC yöntemi kullanılarak analiz gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre ozonun verimliliği yüksek sıcaklıklarda (25, 50 ve 75 °C) ve uzun sürede (5, 10 ve 15 dak.) etkisini artırmıştır. Yüksek seviyede toksin azaltılması yerfistiği ve unda gözlemlenmiştir (Proctor vd., 2004).

Yumuşak ve sert buğday örneklerinde 1.5 ve 11.5 mg/L ozon gazi içeren ozonlu su uygulanmıştır. Mikrobiyal, kimyasal, reolojik ve renk özellikleri değerlendirilmiştir. Ozonlu su uygulanmış sert ve yumuşak buğday örneklerinden elde edilen unların kimyasal, fiziksel ve reolojik özelliklerinde önemli oranda değişik olmadığı belirlenmiştir. Fakat ozonlu su uygulamasından sonra istatistiksel olarak total bakteri ve maya/fungus sayıları önemli oranda azaldığı belirtilmiştir (İbanoglu, 2001).

Tahılların işlenmesi boyunca artan miktarda pestisitlerin kötü kullanımında ortaya çıkan endişeler sonucunda alternatif bir yöntem olarak ozon benzersiz avantajlar sunduğu için kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmada ozon etkisi tahlil ürünlerini koruduğu ve ürün kalitesi üzerinde etkili bir ajan olduğuna dikkat çekilmiştir (Tiwari vd., 2010).

Yapılan bir çalışmada, domates meyvesinde 13 °C'da ve %95 bağıl nemde, 0,005 ve 1 µmol/mol arasında değişen konsantrasyonlarda ozon uygulanarak, ürünün kalitesiyle ilgili özellikleri ve duyusal özellikleri incelenmiş, daha sonra zenginleştirilmiş ozon uygulanan domatesler ve normal atmosferde kalmış domatesler karşılaştırılmış, ürünün bileşenlerine ve ağırlığı üzerine ozonun etki etmediği aktarılmıştır (Tzortzakis vd., 2007).

Türkiye'de kırmızıbiberde aflatoksin ozon kullanımı ile detoksifikasyonu konulu çalışmada çeşitli konsantrasyonlarda (16, 33 ve 66 mg/L) ve sürelerde (7.5, 15, 30 ve 60 dak.) ozon uygulandığı bildirilmiştir. Kuşbaşı ve doğranmış kırmızıbiber örneklerine sırasıyla 33 mg/L ve 66 mg/L konsantrasyonlarında 60 dak. süreyle ozon gazı uygulanmış ve sonuç olarak %80 ve %93 oranında aflatoksin içeriği azaldığı belirtilmiştir (İnan vd., 2007).

3.MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1 Örnekleme

Çalışmada kullanılan kuru üzüm ve kuru incir Sivas ve İzmir, kuru kayısı ise Malatya ilinde piyasada satılan ürünlerden temin edilmiştir. Örneklemede 2010 üretim yılina ait kuru üzüm ($n=30$; her paket 105 g), kuru incir ($n=30$; her paket 105 g), kuru kayısı ($n=30$; her paket 105 g) örnekleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan örnek çeşitleri Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



a) Kükürtlenmiş Kuru Kayısı



b) Gün Kurusu Kayısı



c) Çekirdeksiz Sarı Kuru Üzüm



d) Kuru İncir

Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan örnek çeşitleri

Örnekler uygun koşullarda laboratuvara getirilerek testlenme aşamasına kadar etiketli bez torbalar içerisinde, 4 °C sıcaklığında buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.1.2 Mikolojik İzolasyonlarda Kullanılan Materyaller

Çalışmada kullanılan örneklerin yüzeyden sterilizasyonları, mikrobiyolojik ekimleri ve izolasyonları Thermo Scientific marka Herasafe KS model laminer kabin içerisinde yapılmıştır. Yüzey sterilizasyonlarında %2 (v/v)'lık sodyum hipoklorit (NaOCl), distile su ve steril kurutma kağıtları kullanılmıştır. Materyallerin ekimi steril petrilerde hazırlanmış Lab098 marka Patates Dekstroz Agar (PDA) ve Chapex Dox Agar (CDA) üzerine yapılmıştır. Kolonilerin gelişimi için inkübasyon ortamı Memmert marka inkubatörde sağlanmıştır.

3.1.3 Fungal Tür Tanımlamalarında Kullanılan Materyaller

Tek spor izolatlarının morfolojik tanımlamaları için Olympus marka CX21 model ışık mikroskopu kullanılmıştır. Mikolojik izolasyonlar sonucunda yoğun olarak belirlenen fungus türlerinin tanımlanmasında Samson ve Pitt (1990), tarafından geliştirilmiş spesifik tür teşhis anahtarlarından faydalanyanmıştır.

3.1.4 Aflatoksin Analiz Metodunda Kullanılan Materyaller

Toplam aflatoksin oluşumlarının belirlenmesi için CD-ELISA yöntemi uygulanmıştır. CD-ELISA da kullanılan Neogen Veratox®Aflatoksin kiti; 0, 1, 2, 4, 8 ppb seviyelerinde 5 farklı seviyede aflatoksin standart kullanılmıştır. Örneklerin hazırlanması ve ekstrasyonları, Neogen Veratox®'un prosedürüne göre yapılmıştır.

Örneklerin ekstraksiyon aşamalarında ise Waring marka 8011S model blender, metanol ve Whatman no: 1 filtre kağıdı kullanılmıştır.

CD-ELISA sonuçları, Awareness Technology marka Stat Fax-3500 model microwell okuyucusunda 650 nm'de okunarak elde edilmiştir. Toksin değerlerinin ppb olarak hesaplanması Veratox Software for Windows; Log/Logit and Single Test Format versiyon 3.02 paket programından faydalanyanmıştır.

3.1.5 Ozon Uygulamasında Kullanılan Materyaller

Çalışmada deneylerin yapılmasında ozon temin edilmesi için Ozomax Ozo 1VTTL ozon jeneratörü kullanılmıştır. Kuru oksijen beslemesi ile ozon gazı üretimi sağlanmıştır. Ozon gazı uygulaması reaksiyon tankı içerisinde, ozonlu uygulaması Polietilenteraftalat (PET)'tan tasarlanmış bir kabin içerisinde ve Vakumla paketleme işlemi ise Webomatic marka vakum paketleme cihazında yapılmıştır.

3.2 Metot

3.2.1 Mikolojik İzolasyonlar

3.2.1.1 Örneklerinin Yüzey Sterilizasyonu

Kuru üzüm, kuru incir ve kuru kayısı örnekleri %2 (v/v) NaOCl çözeltisi içeren 250 ml'lik steril erlenmayere alınmıştır. Erlenmayer alüminyum folyo ile kapatılarak üzüm, incir ve kayısı yüzeyinin NaOCl çözeltisi ile tamamen ıslanabilmesi için 2 dakika şiddetle çalkalanmış daha sonra boşaltılarak kimyasalların uzaklaştırılması amacıyla distile su ile yıkılmıştır. Distile su içerisinde 2 kez çalkalanıp steril kurutma kağıtları üzerinde, steril kabinde, kurumaya bırakılmıştır.

3.2.1.2. Mikrobiyolojik Ekim

Yüzeyden sterilize edilmiş olan üzüm, incir ve kayısı örnekleri kurutuluktan sonra direkt PDA ve CDA besi ortamına ekilmiştir. Her örnek için 10 petri kullanılarak toplam 100'er ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petri kutuları parafilmle kapatılarak 24 °C'de 4-5 gün inkübe edilerek koloni gelişimi sağlanmıştır. İnkübasyon sonunda; fungal kolonilerin büyülüklüğü, rengi, yüzeysel veya havai gelişimi gibi makroskopik kriterlere bağlı ayırmaları yapılmış, farklı gelişme gösteren koloniler *Aspergillus* (A₁, A₂,...) gibi sınıflandırılarak saflaştırılmıştır.

Saflaştırılan fungal koloniler 7 gün süre ile 25 °C'de inkübe edildikten sonra mikroskopta incelenerek genel morfolojik tanımlamaları yapılmış, koloni sayısı ve özellikleri kayıt altına alınmıştır.

3.2.2 Fungal tür tanımlamaları

Mikolojik izolasyonlar sonucunda yoğun olarak belirlenen fungus türleri için spesifik teşhis anahtarları kullanılmıştır. *Aspergillus* spp.'nin tanılanmasında Samson ve Pitt (1990) tarafından geliştirilmiş teşhis anahtarlarından yararlanılmıştır.

Fungusların tür tanımlamalarında belirli sıcaklıklardaki büyümeye oranları (koloni çapı ve özellikleri), havai miselyum oluşumu (rengi ve yapısı), klamidosporların varlığı veya yokluğu, sporodiyum gelişimi, fiyalitik özellikler, konidiyal başlık (rengi ve şekli), konidiyal sıralanma, koloni renkleri, sklerotların varlığı ya da yokluğu, makro ve mikro konidia varlığı gibi özellikleri değerlendirmeye alınmıştır.

3.2.3 Ozon Uygulaması

Ozon temin edilmesi için Ozomax ozon jeneratörü kullanılmıştır. Ozon üretimi için kaynak olarak kuru oksijen temin edilmiştir. Şekil 3.2'de ozon jenaratörü ve Oksijen tüpü görülmektedir.



Şekil 3.2 Ozon jenaratörü ve Oksijen tüpü

Ürünler dört gruba ayrılarak ozonlama işlemine tabi tutulmuştur. İlk grup örnekler kabin içerisinde (reaksiyon tankı) ozon gazıyla muamele edilmiştir, ikinci grup örnekler PET kabin içinde ozonlanmış su uygulanmıştır, üçüncü grup örnekler hem reaksiyon tankı içerisinde ozon gazı hem de PET kabin içerisinde ozonlu su ile muamele edilmiştir. Son grup örnekler ise ozon gazıyla muamele edildikten sonra ürünlerin vakum paketlemesi gerçekleştirilmiş ve örnekler aflatoksin analizlerinden önce 1 hafta süreyle 4 °C'ta saklanmıştır.

Ozon gazı uygulama işlemi, uygun büyülükte PET malzemeden tasarlanmış bir kabinin reaksiyon tankı içerisinde konulmasıyla gerçekleştirilmiştir. Tasarlanan bu kabin içerisinde üzüm, incir ve kayısı örneklerinden ayrı ayrı 10 g alınarak, reaksiyon tankı içerisinde yerleştirilmiştir. Mikrobiyal çalışma için, 10 g/h akış hızı 13.8 mg/L (13.8 ppm) ozon gazı çıkışı ile 15-30 dak. muamele edilmiştir. Şekil 3.3'de ozon gazı uygulaması için tasarlanmış PET kabin ve reaksiyon tankı görülmektedir.



a) PET kabin

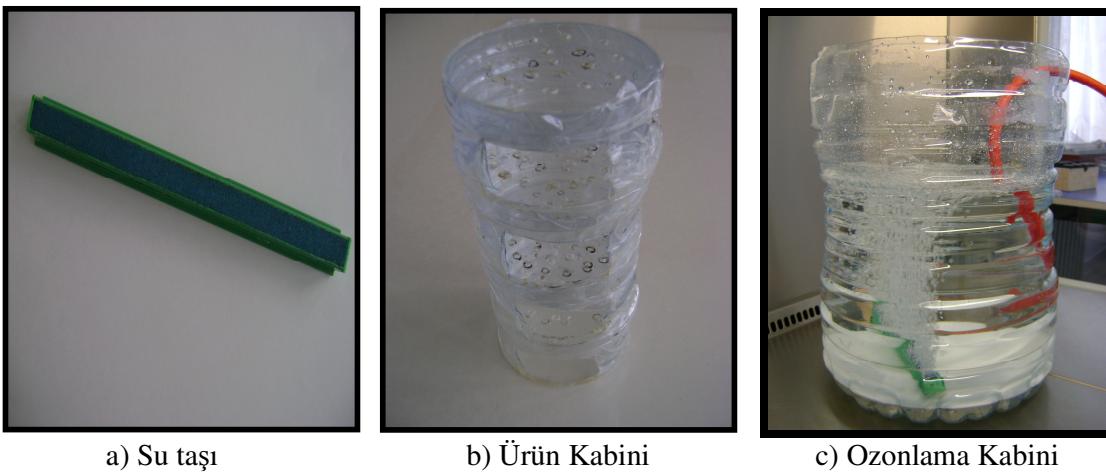


b) Reaksiyon tankı



Şekil 3.3 Ozon uygulama araçları

Oznlama işlemi ozon gazı ve ozonlu su ile gerçekleştirilmiştir. Ozon gazı her iki muamelede sürekli olarak kabine verilmiştir. Ozonlu su uygulaması, 1.7 mg/L (1.7 ppm) ozon suda çözüldükten sonra, üzüm, incir ve kayısı örneklerinden ayrı ayrı 10 g alınarak, 10 L steril distile suda su taşıyla kabarcık oluşturulup örnekler muamale edilmiştir. İncir, üzüm ve kayısı örneklerine 30 dak. süreyle ozonlu suda bekletilmiştir. Şekil 3.4'de Ozonlu su uygulaması görülmektedir.



a) Su taşı

b) Ürün Kabini

c) Ozonlama Kabini



d) Kabine Ürün yerleştirme

e) Kabin Ürün Kontrolü

Şekil 3.4 Ozonlu su uygulaması

Üzüm, incir ve kayısı örneklerine diğer bir uygulama grubu ise Ozon gazı ve Ozonlu su uygulamasıdır. Bütün örnekler için ($n=30$) her gruptaki üzüm, incir ve kayısı örneklerinden ayrı ayrı 10 g alınarak ozon gazıyla 20 dak. muamele edildikten sonra bekletilmeden ozonlu su ile 30 dak. uygulamaya tabi tutulmuştur. Uygulamanın dördüncü grubunda ise ozon gazı ile muamele edilmiş üzüm, incir ve kayısı örneklerine vakumlama işlemi gerçekleştirılmıştır. Şekil 3.5'te vakumlama işlemi görülmektedir.



a) Vakum Makinesi



b) Vakumlama İşlemi



c) Örnek Vakumlanması



d) Vakumlanan Örnekler

Şekil 3.5 Vakumlama işlemi

3.2.4 Aflatoksin Analiz Metodu

Kuru üzüm, incir ve kayısı örneklerindeki toplam aflatoksin oluşumlarının araştırılmasında CD-ELISA (Competitive Direct Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemi kullanılmıştır. Mikotoksin analizlerinde sık kullanılan ELISA yöntemi, antijen-antikor kompleksine, enzim ile işaretli konjugat ve kromojen substrat eklenmesi ile örnekteki antijen varlığına bağlı olarak şekillenecek renk değişiminin gözlenmesi esasına dayanmaktadır. Kimyasal bir olay olan renk değişimi, enzim aktivitesine bağlı olarak değişmektedir (Burrels ve Dawson, 1982). CD-ELISA yöntemi kullanılarak Aflatoksin oluşumları belirlenen ürünler ozonlama işlemine tabi tutulmuştur.

3.2.4.1 Numune Hazırlama ve Ekstraksiyon

Çalışılan kuru üzüm, incir ve kayısı örneklerinden ozonlama işleminden önce her ürün grubundan (n=30) 25 g alınarak parçalayıcıya konulmuştur. Ozon uygulamasında; gaz, ozonlu su ve gaz+ozonlu su işlemleri için 10 g numune kullanılmış ve numunelerin tamamı aflatoksin analizine tabi tutulmuştur. Blender içine 125 mL %70 (v/v) methanol çözeltisine konularak yüksek devirde 3 dk blendirden geçirilmiştir. Blenderden çıkan karışım, Whatman no: 1 filtre kağıdından süzülmüştür. Filtrasyon yapılan bütün örnekler etiketlenmiş steril, ağızı kapaklı cam tüplere konulmuştur.

3.2.4.2 CD-ELISA Analizi

Tüm çalışmalar normal şartlarda oda koşullarında yapılmıştır. Çalışmada kullanılmak üzere 4 °C de korunan test kitleri uygulamadan 1 saat önce normal oda sıcaklığı koşullarına alınmıştır. ELISA yöntemi aşağıda bildirildiği şekilde uygulanmıştır.

1. Teste başlamadan 1 saat önce konjugat hazırlanmış ve test aşamasına kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir.
2. Test karışım çukurları içerisinde 100 µL konjugat eklenmiştir.
3. Her defasında yeni bir pipet ucu kullanılarak örnek süzüntülerinden ve 0, 1, 2, 4, 8 ppb toksin standartlarından 100'er µL alınmış ve konjugata eklenmiştir.
4. Bu karışım 12 kanallı pipetör kullanılarak 3 kez çekiliп bırakılmıştır.
5. Örnek ve kontrollerden 100 µL alınmış ve daha önce antibadi ile kaplanmış çukurlara eklenmiş ve 2 dak. oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
6. İnkübasyondan sonra çukurlar boşalmış ve 5 defa distile su ile yıkılmıştır.
7. Çoklu pipet kullanılarak her çukura 100 µL substrat eklenmiş ve 3 dk inkübe edilmiştir.
8. Renk oluşumu oluştuktan sonra, 100 µL stop solüsyonu eklenmiş ve 20 dk içerisinde 650 nm' de Microwell okuyucusunda okuma yapılmıştır.
9. Okunan Değerler Veratox Software for Windows; Log/Logit and Single Test Format versiyon 3.02 paket programı tarafından ppb cinsine dönüştürülmüştür.

ELISA analizi ozon uygulamasından sonra tekrar yapılarak sonuçlar karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

3.2.5 İstatistik

Toplam 30 adet numunenin her 105 gramlık örneği için ozon uygulaması öncesi (kontrol) ve sonrasında 3'er tekerrür yapılmıştır. Ozonla detoksifikasiyon yapılmadan önce doğal olarak oluşan aflatoksin bulaşımıları ile detoksiifikasiyon yapıldıktan sonraki tespit edilen aflatoksin bulaşımlarının istatistiki değerlendirmeleri SPSS 14.0 programı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve verilerin değerlendirilmesinde Friedman Testi ile Wilcoxon Testi uygulanmıştır.

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Örneklerdeki Doğal Mikofloranın Belirlenmesi

Mikolojik izolasyonlar yapılarak üzüm, incir ve kayısı örneklerinde doğal olarak oluşan *Aspergillus* spp. ve % izolasyon oranları belirlenmiştir. Tanımlamaları yapılan *Aspergillus* türleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Kullanılan örneklerdeki izole edilen ve tanımlaması yapılan *Aspergillus* türleri Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 Tanımları yapılan *Aspergillus* türleri

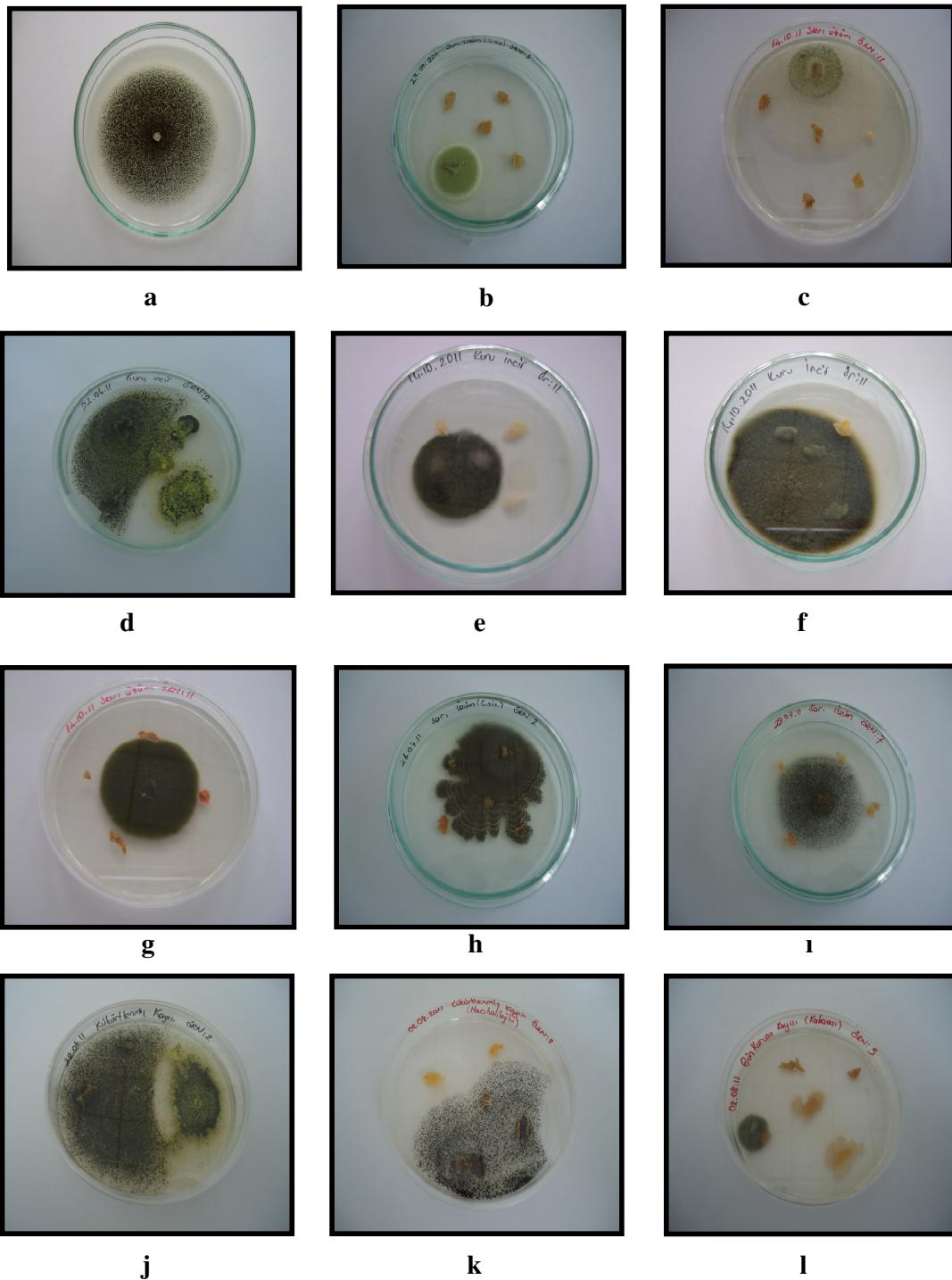
Örnek Türü	<i>Aspergillus</i> türleri	% İzolasyon
Üzüm	<i>A. niger</i>	52
	<i>A. flavus</i>	15
	<i>A. paraciticus</i>	4
İncir	<i>A. niger</i>	60
	<i>A. flavus</i>	18
	<i>A. paraciticus</i>	8
Kayısı	<i>A. niger</i>	54
	<i>A. flavus</i>	20
	<i>A. paraciticus</i>	7

Çalışılan üzüm örneklerinde mikoflorada en sık görülen fungus türü %52 oranında *A. niger* olarak tespit edilmiştir. Diğer fungus türleri ise %15 oranında *A. flavus* ve %4 oranında *A. paraciticus* bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada kuru üzümde tespit edilen fungus türleri, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. parasiticus* olarak belirlenmiştir (Eltem, vd., 2001).

TÜBİTAK yapılan geniş kapsamlı bir araştırmada; içinde 51 farklı kuru üzüm örneğinin de bulunduğu 156 kuru meyve fungus içeriği bakımından incelenmiş ve kuru üzümlerin %63'ünde *A. niger* tespit edilmiştir. Aynı örneklerde bu fungus dışında, *P. aurantiogriseum*, *A. flavus*, *P. expansum*, *P. curustosum*, *A. oryzae*, *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. rugulosum*, *P. glabrum*, *P. viridicatum*, *A. restrictus*, *A. sulphureus*, *A. sydowii* ve *Epicoccum purpureescens* saptanmıştır (Seçer ve İç, 2003).

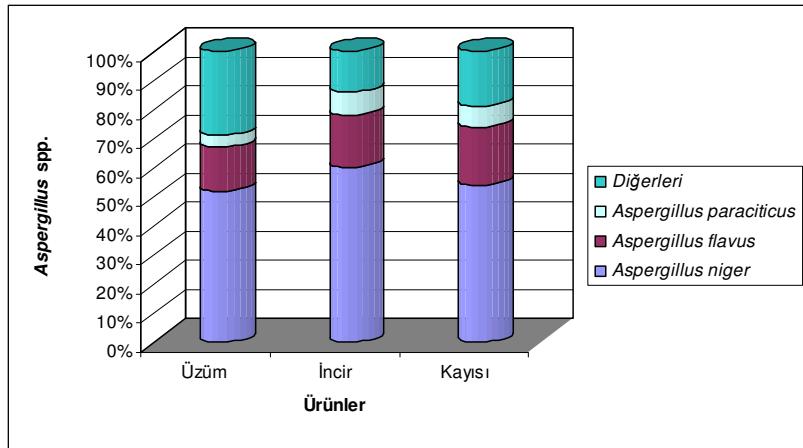
Düzenleme 4.1'de tespit edilen *Aspergillus* türleri, *A. niger*, *A. flavus*, *A. paraciticus* gibi türlerin mikoflorasında da en sık görülen fungüs türleri A. niger'dır. Çalışma bulguları diğer çalışmalarla paralellilik göstermektedir.



Şekil 4.1 Örneklerden izole edilen *Aspergillus* türleri

- a. Kuru incirden saflaştırılmış *A. niger*
- b. Sarı üzümünden izole edilmiş *A. flavus*
- c. Sarı üzümünden izole edilmiş *A. flavus*
- d. Kuru incirden izole edilmiş *A. flavus*
- e. Kuru incirden izole edilmiş *A. paracicicus*
- f. Kuru incirden izole edilmiş *A. paracicicus*
- g. Sarı üzümünden izole edilmiş *A. paracicicus*
- h. Sarı üzümünden izole edilmiş *A. niger*
- i. Sarı üzümünden izole edilmiş *A. niger*
- j. Kükürtlenmiş kayısından izole edilmiş *A. flavus*
- k. Kükürtlenmiş kayısından izole edilmiş *A. niger*
- l. Gün kurusu kayısından izole edilmiş *A. paracicicus*.

Çalışılan tüm örneklerde tespit edilen en baskın tür %55.3 ile *A. niger* olmuştur. Kuru üzüm, incir ve kayısıda tanımlaması yapılmış *Aspergillus* spp. ise Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2 Kuru üzüm, incir ve kayısı örneklerinde tanımlanan *Aspergillus* spp.

İtalya'da yapılan araştırmada, incelenen üzüm bağlarının çok azında *Aspergillus* ve/veya *Penicillium* spp.'lerinin meyve oluşumunun başında üzüm üzerinde olduğu tespit edilmiş, tespit edilen türlerin %95'inin *Aspergillus* cinsine mensup olduğu, *A. niger*'in en baskın olduğu bildirilmiştir (Battilani ve Pietri 2002).

Yapılan diğer bir çalışmada, 1650 üzüm örneğinin 370'inde *Aspergillus*, 301'inde *Penicillium* bulmuşlardır. Teşhis edilen *Aspergillus* türleri arasında yoğun olarak *A. niger aggregate* (%79), *A. carbonarius* (%10), *A. fumigatus* (%1.35), *A. versicolor* (%1.35), *A. ventii* (%1.08) ve *A. ustus* (%1.08) olarak bulunmuştur (Serra vd., 2003).

Aziz ve Moussa (2002), toplam 100 adet üzüm, çilek, şeftali, elma, armut ve dut örneklerinde doğal mikoflorayı araştırmış ve en baskın tür olarak *Aspergillus* sp. (%23-33) ve *Penicillium* sp. (%52-68)'yi belirlemiştir. Türler içerisinde, *A. niger* % 82, *A. flavus* %48, *A. ochraceus* %68, *P. chrysogenum* %77, *P. aurantiogriseum*, %75, *P. griseofulvum*, %81 ve *P. verrucosum* %67 oranında bulunmuştur. Ayrıca meyve örneklerinde *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus nigricans* ve *Rhizoctonia solani* türlerine de rastlanmıştır.

Diaz vd. (2009), çalışıkları 398 üzüm örneğinin 77'sinde (%19) *Aspergillus* spp. teşhis edilmiştir. Tür olarak *A. niger* (%50.6), *A. carbonarius* (%14.2), *A. ventii*

(%14.2), *A. niveus* (%7.7), *A. versicolor* (%5.2), *A. westerdijkiae* (%6.5), *A. paradoxus* (%1.3) olarak bildirilmiştir.

Eltem vd. (2001), Ege bölgесinden temin ettikleri kuru üzüm örneklerinde yapmış oldukları çalışmada, en yayın türlerin *A. foetidus var. pallidus*, *A. aculeatus*, *A. tubingensis* ve *A. awamori* olduğunu belirlemişlerdir.

Çalışma sonuçları ve yukarıda özetlenen çalışma sonuçlarının gösterdiği üzere *Aspergillus spp.* ve bu cinse bağlı türler kuru üzüm, incir ve kayısıda yoğun olarak bulunmuştur. Bu sonuçların alınmasında çevresel faktörler ve iklimsel faktörlerin yanı sıra kimyasal ve biyolojik etkilerde rol oynamaktadır (Kim vd., 1999). Ayrıca üzüm, incir, kayısı gibi sulu meyveler nem ve pH içerikleri nedeniyle başta *Aspergillus* gibi fungal cinslerin oluşum ve gelişimini teşvik etmektedirler (Busby ve Wogan, 1984).

Çalışılan incir örneklerinde mikoflorada en sık görülen fungus türü %60 oranında *A. niger* olarak tespit edilmiştir. Diğer *Aspergillus* türleri ise %18 oranında *A. flavus* ve %8 oranında *A. paraciticus* olarak bulunmuştur.

Ege bölgesinde 11 farklı bahçeden 63 incir örneği üzerine yapılan çalışmada hakim floranın, incirin temin edildiği aşamaya göre farklılık göstermekle birlikte *A.niger*, *A.flavus*, *A.parasiticus* ve *Fusarium* türlerini içерdiği saptanmıştır. *A.flavus*-*A.parasiticus* bulaşması ağaçtan toplanan olgun incirlerde %41, toprak üzerinden temin edilenlerde %21, güneşte kurutulmuş olanlarda %42, depolardan temin edilenlerde %33, işletmelerden temin edilenlerde %25 ve incir ezmelerde %25 olarak belirlenmiştir. (Heperkan 2005).

Aksoy vd. (2001), kuru incirde yapmış oldukları çalışmada, örneklerden izole edilen 40 adet *Aspergillus* cinsine ait türler; *A. aculeatus*, *A. awamori*, *A. carbonius*, *A. ficium*, *A. niger*, *A. ochraceous*, *A. tubingenses*, *A. foetidus var. pallidus* olduğu belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda incir mikoflorasında *A. niger*, *A. parasiticus*, *A. flavus*, *A. ochraceous*, *P. expansum*, *Cladosporium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Fusarium spp.*, *Trichoderma sp.*, *Mucor sp.* varlığı belirlenmiştir (Arıcı, 2001; Var vd., 2001). Bunlardan *A.niger*, *A.parasiticus*-*A.flavus* ve *Fusarium*'un en sık rastlanan funguslar olduğu belirtilmektedir (Heperkan, 2005).

Sivas ve İzmir illerinden temin ettiğimiz piyasada satışa sunulmak üzere hazırlanmış 30 incir örneğinde %60 *A. niger* tespit edilmiştir. Bu sonuçtan hareketle ağaçtan toplanan olgun incirlerde %41 oranında *A. niger* bulunurken (Heperkan, 2005), işleme, depolama, ambalajlama ve satışa sunulma aşamasından sonraki evrelerde %60

gibi bir orana çıkması bizleri ürünün her proses aşamasında fungus yükünün arttığı sonucuna götürmektedir.

Çalışılan kayısı örneklerinde ise mikoflorada en sık görülen fungus türü %54 oranında *A. niger* olarak tespit edilmiştir. Diğer fungus türleri ise %20 oranında *A. flavus* ve %7 oranında *A. paraciticus* olarak bulunmuştur.

Kayısı meyvesinde izole edilen üç fungus türü, *Aspergillus*, *Alternaria* ve *Rhizopus*'tur. *Aspergillus spp.* diğerlerine göre daha sık rastlanmaktadır (El-Sayed, vd., 2007).

Yapılan bir çalışmada kurutulmuş üzüm, incir ve kayısı örneklerinde en yaygın türler *A. niger*, *P. chrysogenum* ve *C. cladosporioides* izole edilmiştir (Zohri ve Abdel-Gawad, 2007).

Kuru üzüm, incir ve hurmada yapılan çalışmada *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *P. chrysogenum*, ve *Rhizopus* en yoğun bulunan fungus türleri olarak belirlenmiştir (Alghalibi ve Shater, 2004).

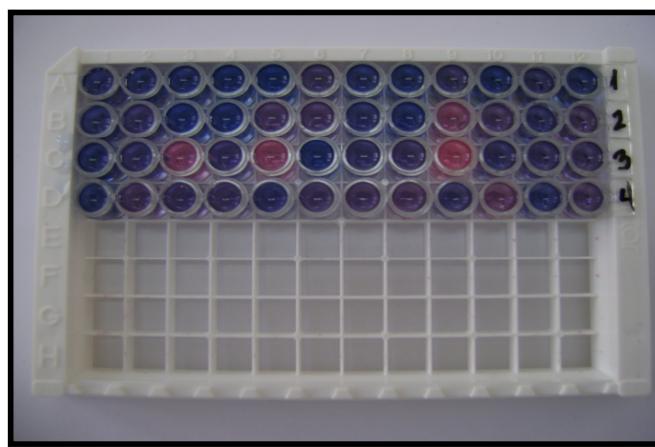
Sekar vd. (2008), üzüm, incir, hurma ve mısır örneklerinde mikotoksin üreten fungusların tarama ve karakterizasyonunu yapmışlardır. Sadece mısır ve incir örneklerinde 12 ppb düzeylerinde aflatoksin bulaşıklığı belirlenmiş. Çalışmalarında sırasıyla *A. flavus*, *A. niger*, *Rhizopus*, *Mucur spp.*, *Penicillium spp.* bulmuşlardır.

Çalışılan her üç örnek olan üzüm, incir ve kayısı mikoflorası incelendiğinde hakim floranın *A. niger* olduğu sonucuna varılmıştır. Her üç meyve kurusunda besin bileşimi açısından değerlendirildiğinde yüksek oranda karbonhidrat içeriği gösterilebilir (Anonim, 2012). Çalışılan örneklerde bulunan glukoz meyvedeki suyu bağlayacağı için su sebest formda bulunamaz. Bu nedenden ötürü su aktivitesi değerinin azalmasıyla fungus türlerinin düşük su aktivitesi değerlerinde de gelişimini devam ettirebileceği bilgisi ışığında, her üç örnekte de bağlı su oranı fazla olunca ve buna bağlı olarak düşük su aktivitesi değerlerinde özellikle *A. niger* ve diğer fungus türlerinin gelişmesi kaçınılmaz bir sonuç olarak değerlendirilebilir.

4.2 CD-ELISA Yöntemi İle Toplam Aflatoksinlerin Belirlenmesi

Testin ana prensibi antijen-antikor reaksiyonuna dayanmaktadır. Özel antikorlarla kaplanmış kuyucuklara konjugat ve örneklerin ilave edilmesiyle aflatoksin derişimine karşı antikor bağlı kuyucuklarda tutulmaktadır. Geride kalan bağlanmamış kuyucuklar bir sonraki aşamada enzim konjugat tarafından bağlanmaktadır. Bağlanmamış enzim

konjugatlar, yıkama işlemi ile uzaklaştırılmaktadır. Substrat ve kromojenin kuyucuklara eklenmesi ile kromojen, bağlı enzim konjugatı çalışılan örnekte toksin oluşumu yoksa mavi var ise pembe renge dönüşmektedir. Durdurma solüsyonu ilavesi ile reaksiyon durdurulmaktadır. Test edilen örneklerin ELISA platelerindeki kuyucuklarda oluşan renk değişimi Şekil 4.3’de verilmiştir.



Şekil 4.3 CD-ELISA testinde kuyuculkardaki renk oluşumu

CD-ELISA yöntemi; hızlı, hassas, güvenilir, çok sayıda örneğin aynı anda test edilebildiği bir yöntem olup mikotoksin analizlerinde güvenle ve yaygın olarak kullanılmaktadır (Trucksess vd., 1998; Park vd., 1996; Gillespie vd., 2003).

Yapılan çeşitli çalışmalarda, ELISA yönteminin güvenilirliği ve hassaslığı araştırılmıştır. Örneğin Sabino vd. (1997) fındık, mısır, balık yemi, yer fıstığı ve bunların işlenmiş ürünlerinin bulunduğu 53 örnekte aflatoksin taramasında iki ticari ELISA kitinin etkinliklerinin TLC yöntemi ile karşılaştırılmış olarak araştırılmışlardır. Elde edilen bulgulara göre, ELISA ve TLC yöntemlerinden elde edilen sonuçların paralel olduğu ve ELISA’nın TLC yönteminden daha hızlı, basit, daha fazla örneğin test edebildiği ve daha az organik çözücü kullandığını bildirmiştirlerdir.

Chu vd. (1999), doğal olarak 0,7-12mg DON/g düzeyinde deoxsynivalenol (DON) bulaşıklığı içeren 6 buğday örneğini, immunoaffinite kolon yüksek performans sıvı kromatografisi (IAC-HPLC) ve CD-ELISA yöntemi kullanarak analiz çalışmaları yapmışlar ve elde ettikleri sonuçların birbiri ile uyumlu olduğunu bildirmiştirlerdir.

Çalışılan tüm örneklerde CD-ELISA yöntemi ile belirlenen aflatoksin içerikleri ve bulaşıklık oranları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Örneklerde belirlenen toksin içerikleri ve bulaşıklık

Örnek	Örnek Sayısı	Aflatoksin (ppb)	Aflatoksinli Örnek Sayısı	Yasal Sınırı Aşan Örnek Sayısı	% Bulaşıklık
Üzüm	30	0.1-14.4	16	2	53.3
İncir	30	1.4-10.6	12	1	40.0
Kayısı	30	1.5-13.8	13	3	43.3

Çalışmada kullanılan üzüm örneklerinde toplam aflatoksin oluşumları ortalama %25.3 olarak bulunurken, örneklerin sadece 2 tanesinde TGK'nın belirlediği toplam aflatoksin için yasal sınır olan 10 ppb'yi geçtiği saptanmıştır.

Üzümler hasat öncesi, hasat sırası ve işlenmesi aşamalarında çeşitli fungus türleri tarafından bulaşıklık meydana gelebilmektedir. Meyvelerin olgunlaşma aşamasında, dokulardaki pH'nın yükselmeye başlaması, koruyucu tabakanın yumuşaması ve meyvenin savunma mekanizmasının zayıflamasıyla birlikte fungal saldırısı karşı hassas hale gelmektedirler.

Çalışan gıda örneklerinin savunma mekanizmalarının düşük olması her an fungus saldırısı ile karşı karşıya olduğu ihtimalini göz önüne getirmektedir. Üzüm örneklerimizin yapısal olarak herhangi bir kabuk veya yeterli, koruyucu bir tabakaya sahip olmaması, meyvenin dış etkenlere karşı kendini koruyamaması, fungus bulaşıklığının meydana gelmesi ve bu doğrultuda aflatoksin oluşum yüzdesinin yüksek olması kaçınılmaz bir sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır.

Yapılan bir çalışmada, Tunus'taki üzüm bağlarından temin edilen üzümlerde, aflatoksin üreten funguslar belirlenmeye çalışılmıştır. 100 *Aspergillus* cinsinden, en fazla *A. niger* (%70) en sık görülen fungus türü olarak belirlenirken, ardından *A. flavus* (%23) ve *A. carbonarius* (%7) olarak tespit edilmiştir. İzolatların mikotoksin üretme kapasitelerinin de araştırıldığı bu çalışmada, *A. flavus*'un aflatoksin üretimi 21-54 µg/g olarak bulunmuştur (Fredj vd, 2009).

Lüblan'dan 2005 yılında, hasat döneminde temin edilen üzümlerde 510 fungus türü izole edilmiştir. 510 izolatın 487'si *Aspergillus* spp. (%95.5) olarak belirlenirken, 23 izolat *Pencillium* spp. ait olduğu tespit edilmiştir. Siyah *Aspergillus* spp. %59.6 kısmı oluştururken bu kısmın içinde %52.2 *A. niger aggregates*, %2.9 *A. japonicus* ve %1.8 *A. carbonarius* yer aldığı bulunmuştur. Diğer *Aspergillus* cinslerinden %43.1

oranında *A. flavus* izole edilmiştir. Mikotoksin üretimi en fazla izole edilen *A. flavus* tarafından 22.6 µg/g olarak ölçülmüştür (El-Khoury vd, 2008).

Yapılan başka bir çalışmada, Kaliforniya'dan temin edilen üzüm örneklerinde 2,781-147 µg/kg arasında değişen oranlarda aflatoksin bulaşıklığı tespit edilmiştir (Hussein vd.,1986)

Çalışmada kullanılan incir örneklerinde toplam aflatoksin oluşumları ortalama %15.3 olarak bulunurken, örneklerin sadece 1 tanesinde TGK'nın belirlediği toplam aflatoksin için yasal sınır olan 10 ppb'yi geçtiği saptanmıştır.

Çalışılan incir örneklerinde yasal sınırı aşan örnek bir tane olup, buda toplam örnek sayısı üzerinden değerlendirildiğinde yaklaşık olarak %3.3'e karşılık gelmektedir. Örneklerin temin ediildiği bölgenin iklim koşulları, taşıma, depolama, kurutma ve ambalajlama standartlarının bu limit üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Özay (1989), incirin *A. flavus* ve *A. parasiticus* funguslarının gelişimi için uygun bir substrat olduğunu, yetişirildiği bölgelerde, olgunlaşma ve hasat dönemindeki sıcaklıkların (28-30°C), fungus ve mikotoksin oluşumu için ideal sıcaklıklar olduğunu vurgulamıştır.

1993 yılında İsviçre' de analizi yapılan Türkiye kökenli kuru incir örneklerinin (n=25) %28 oranında aflatoksin ile 0.1-0.3 µg/kg düzeyinde bulaşma oldukları saptanmıştır. Örneklerin birinde aflatoksin içeriği 2.2 µg/kg bulunmuştur. Almanya' da 1991-1993 yılları arasında araştırılan kuru incirlerde (n=343); ortalama 15.4 µg/kg konsantrasyonda aflatoksin içeren örneklerin oranı %10 olarak belirlenmiştir. Kuru incir mamullerinde ise rastlanma sıklığı daha da yüksek bulunmuştur. Örneklerin (n=36) % 86'ının aflatoksin içeriği belirlenmiştir. 1989-1992 yıllarını kapsayan 4 yıllık riyotta İsviçre ve Almanya' da test edilen kuru incirlerin (n=105) sınır değerleri aşan aflatoksin içerikli örnek oranı %18.4 olarak saptanmıştır. Türkiye' de 1990-1994 yıllarında taranan kuru incir örneklerinin (n=92) %17.4' ü aflatoksinle bulaşma bulunmuş, %9.8' inin sınır değerleri aşan miktarda aflatoksin içeriği saptanmıştır. Türkiye için önemli bir ihraç ürünü olan ve iç pazarda da sevilerek tüketilen kuru incirde aflatoksin düzeyini aşağıya çekmek için daha fazla önlem almak gerekmektedir. Çünkü basit bir hesapla bu ürünün de izin verilen günlük alımın çok üzerinde vücuda aflatoksin yükleyeceği açıklık (Anonim, 2006).

Yapılan başka bir çalışmada, 63 incir örneğinde *A.flavus-A.parasiticus* izolatlarının %72'sinin besi ortamında aflatoksin oluşturduğu belirtilmiştir. Aynı örneklerde yapılan aflatoksin çalışması sonucunda ağaçtan toplanan örneklerde %32,

yere dökülüp toprakla temas eden örneklerde %21, kurutma aşamasında alınan örneklerde %17, depo örneklerinde %33, işleme aşamasında %25 ve ezmede %60 oranında toksin bulunduğu bildirilmiştir. Bu bulgulara göre henüz incirler ağac üzerinde iken başlayan aflatoksin bulaşma miktarında, kurutma ve depolama sırasında önemli miktarda artış görüldüğü belirtilmiştir (Heperkan, 2005)

Bilinçli toplum bireylerinin tüketim anlayışı incelemişinde sosyo-ekonomik sınıfın artmasına bağlı olarak, fast-food yaşam biçimini yeterli ve dengeli beslenmeye hızla teslim etmektedir. Gün geçmesin ki gözümüze çarpan diyet listelerinde yerini baş sırada alan kuru meyvelerin özellikle metabolizmayı hızlandıracı, bağırsak sistemini düzenleyici olması nedeniyle yapılan çalışmamız da seçtiğimiz üzüm, incir ve kayısı örnekleri çalışmamızın önemini artırmaktadır. Yeterli ve dengeli beslenmek için ara ürün olarak tüketilen bu meyvelerin bir nebzede olsa sağlığı olumsuz etkileyebileceği ihtimali göz ardı edilmemelidir.

Çalışmada kullanılan kayısı örneklerinde toplam aflatoksin oluşumları ortalama %20.1 olarak bulunurken, örneklerin sadece 3 tanesinde TGK'nın belirlediği toplam aflatoksin için yasal sınır olan 10 ppb'yi geçtiği saptanmıştır.

Yapılan bir çalışmada, kayısı meyvesinde aflatoksin üretiminin en fazla *A. paracicicus* tarafından üretildiğini belirlemiştir. *A. paracicicus* iki izolatı birbiriyle karşılaştırıldığında sırasıyla Aflatoksin B₁ ve B₂ 20 µg/kg ve 0.20 µg/kg, 11.75 µg/kg ve 0.39 µg/kg olarak tespit edilmiştir. Fungusların aflatoksin üretmeleri; genetik potansiyel, çevre koşulları (a_w , sıcaklık, substrat, pH, redoks potansiyeli) ve fungusla substratın buluşması gibi faktörlere bağlıdır. *Aspergillus*'lar mezofilik karakterli olup 6-8 °C den 50-60 °C'ye kadar gelişebilirler. Optimum gelişme sıcaklıkları 35-38 °C dir. 10-13 °C'lerin altında ve 41- 42 °C'lerin üzerinde aflatoksin oluşumu sınırlanır. En yüksek toksin oluşumuna ise 25-30 °C'lerde ulaşılır (Embaby vd., 2007).

Yapılan bir çalışmada, Bursa ilinden temin edilen 15 kuru kayısı örneği, 25 kakaolu fındık kreması, 130 peynir örneğinde ELISA yöntemiyle aflatoksin analizi yapılmıştır. Kurutulmuş kayısı örneklerinde, $1.441.3 \pm 331.9$ ng/kg düzeyinde aflatoksin belirlenmiştir (Günsen ve Büyükyörük, 2002).

Yapılan başka bir çalışmada, kayısı meyvesinde en fazla *A. flavus* ve *A. niger* fungus türleri tespit edilmiş olup, *A. flavus* türünün üretmiş olduğu aflatoksin miktarı 0.98 µg/g olarak belirlenmiştir (Singh, 2012).

Pakistanda yapılan bir çalışmada, kurutulmuş kayısıda %20 oranında aflatoksin tespit edilmiş olup, tüm kontamine örneklerde aflatoksin düzeyi 4-14 µg/kg arasında bulunmuş ve 1 kayısıörneğinde yüksek miktarda aflatoksin düzeyine rastlanmıştır (Ghosia ve Arshad, 2010).

Çalışmada üzüm, incir ve kayısı örneklerinin aflatoksin bulasıkları incelendiğinde, yasal sınırı aşan örnek sayısının en fazla kayısıda olduğu gözlemlenmiştir. Kayısı üretiminin en yoğun olduğu Malatya ili klimatik ve çevresel koşullarının *Aspergillus* spp. gelişimi dolayısıyla aflatoksin oluşumları için uygun bir ortam teşkil ettiği söylenebilir. Meyvenin yetiştiği bölgenin sıcak iklim koşullarına sahip olması, *Aspergillus* türlerinin optimum gelişme sıcaklığı olan 50-60 °C'a ulaşmasada bölgede kayısı hasatı yapıldığında sıcaklığın 40-45 °C'a kadar çıktıığı yapılan araştırmalardan bildirilmektedir (Tantaoi ve Beraoud, 1994; Mabrouk ve El-Shayeb, 1980). Fungus gelişmesi için optimum ortam sağlanınca meyvedeki fungus yükünün artması muhtemeldir. Hasatın ardından kayısı meyvelerinin çeşitli aşamalardan geçtiği ve her bir aşamanın normal şartlar altında (25°C) olduğu düşünülürse bu fungus yükünün toksin üretmemesi normal bir sonuçtur.

4.3 Aflatoksin Oluşumlarının Ozonla Detoksifikasyonu

Ozon gıda endüstrisinde pek çok uygulama alanı bulunan güçlü bir antimikrobiyal ajandır. Yüksek reaktivitesi, kendiliğinden parçalanarak ortamda zararlı bileşik bırakmaması ozonun gıdalarda kullanımını güvenilir hale getirmektedir (Kuşçu ve Pazır, 2004).

Ozonun gaz ve su fazında mikroorganizmalar üzerine olan etkisi çeşitli araştırmacılar tarafından belirlenmiştir. Düşük konsantrasyonda, kısa süreli ozon uygulaması bakteri, fungus, maya ve virüsleri inaktif etmek için yeterli olmaktadır. Mikroorganizmaların ozona olan duyarlılıklarını fizyolojik özelliklere (sıcaklık, pH, nem miktarı vb.) göre değişmektedir. Gıda endüstrisinde ozon uygulaması en çok gıda ürünlerinin (meyve-sebzelerin, kuru ürünlerin, etlerin vb.) yüzeyindeki kontaminasyonun önlenmesi ve su arıtımına yönelik olmaktadır. Mikotoksinlerin detoksifikasyonunda ozonun gaz fazı kullanılmaktadır. Aşırı ozon kullanımı gıdaların renk ve tadında olumsuzluklara sebep olabilmektedir (Tan vd., 2005; Xu, 1999).

Ozon uygulamasının mikotoksin ve pestisit kalıntıları problemlerinin çözümlenmesinde, ümit verici olduğu belirlenmiştir. Ozon uygulaması yapılmış gıdalardaki orta düzeydeki tehlikeli kalıntıların kendiliğinden ayırsabilecegi

belirtilmiştir. Ozon yeterli uygulanmadığı taktirde gıdaların duyusal kalitesinde kayıplara neden olduğu gibi ürünlerde bazı eksikliklere sebep olabilir. Bu nedenle ozonun güvenli uygulaması ve etkisi her ürün için özellikle belirlenmedir (Karaca ve Velioğlu, 2011).

Aflatoksin oluşumlarının ozonla detoksifikasyonunun amaçlandığı çalışmada ilk grubu temsil eden üzüm örneklerinde belirlenen aflatoksin düzeylerinin, ozon gazi uygulamasından sonra ortalama %14.06 oranında azalma göstermiştir. Ozonlu su uygulamasından sonra aflatoksin oranı ortalama %26.54 düzeyinde, ozon gazi ve ozonlu su uygulamasından sonra ise ortalama %39.34 oranında azalmıştır.

Üzümlerde yaygın olarak görülen demet çürüklüğünü azaltmak için üzümler, depolama sürecinde 0.3 μ L/L ozonla zenginleştirilmiş havayla 24 saat muamele edilmiştir. Kullanılan diğer kimyasallara göre ozonun etkisinin 1.6, 2.8 ve 3.6 kat daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Fungusların azaltılmasında ozonun etkisi önemli bulunmuştur (Karaca vd., 2011).

Ozonlu suyun sofralık üzüm, taze narenciye ve şeftali meyvelerinde mantar sporlarının azaltılmasına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, taze meyvede hasat sonrası çürümeye neden olan mantar sporlarının ozonlu suyun etkisiyle hızla öldüğü bildirilmiştir. Çürümüş ve yeşil fungus içeren narenciye meyvelerine 20 dak. süresince 10 ppm ozon gazi uygulanmış ve *P. digitatum* ve *Geotrichum citriaurantii* oluşumu azaltılmıştır. Ozon uygulanmasından 24 saat önce fungus ve çürüklerdeki sporlar 1 mm genişliğinde 2 mm derinliğinde görülmüştür. Beş şeftali meyvesinde kahverengi çürüge neden olan *Monilinia fructicola* türünün 1 dak. süreyle 1 ppm ozonlu suya daldırılmasıyla *M. fructicola*'nın %10.9'dan %5.4'e düşüğü belirtilmiştir. Çürüklere 15 dak. süre ve 5 ppm ozonlu su uygulanmasıyla %1.7'den daha fazla azalığı gözlemlenmiştir. Fakat kahverengi çürüklük kontrol edilirken meyvede çukurluklar (duyusal kusur) oluşmuştur. 1 veya 5 dak. 5 ppm ozonlu suya daldırma sonucunda aerobik bakteri popülasyonu 1.1 ve 1.6 log oranında azalmıştır ve sırasıyla maya ve ipliksi fungus sayıları 1.07 ve 1.3 log birim azalığı gözlemlenmiştir. Sofralık üzümlerde ve kurutulmuş üzümlerde kümeler halinde yayılış gösteren *Botrytis cinerea* sporları gri fungslara neden olur. Bu ürünlere 10 ppm ozon 1-6 dak. süreyle uygulanmıştır. 1 dak. ozonlu suya daldırılan üzümlerde gri funguslar %35 oranında, işlenmemiş üzümlerde ise %10 oranında azalış gösterdiği belirlenmiştir (Smilanick vd., 2002).

Ozonlu suda bırakılan üzüm örneklerindeki aflatoksin düzeyi ile ozon gazı-ozonlu su uygulamasından sonra aflatoksin düzeyi arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuş olup, aflatoksin düzeyindeki düşüş ozonlu su, ozon gazı-ozonlu su uygulamasıyla karşılaştırıldığında daha fazla olmuştur. Ozonla detoksifikasyon uygulaması ile yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde bu uygulamamanın önemli bir parametresi olan “uygulama süresi” dikkat çekmektedir. Her üç örnek grubumuz için ozon gazı uygulaması 20 dak. olarak uygulanırken, ozonlu su uygulaması 30 dak. olarak uygulanmıştır. Belirtilen bu uygulama süresinde tutulan örneklerde sağlanan başarı, incelenen diğer çalışmalarda daha fazla ozon uygulamasına tabi tutulan örneklerdeki başarıya eşdeğer olabilecek ölçüdedir. Buradan hareketle kısa sürede sağlanan detoksifikasyon ile hem ürünün aflatoksin düzeyi istenen değere düşürülmüş, hem de ürünün renk, tat ve koku gibi duyusal özelliklerinden taviz verilmeden ozon uygulaması tamamlanmıştır.

Ozon uygulaması yapılmadan önce her üç örnek grubunda aflatoksin içeriği en yüksek ortalama %25.3 ile üzüm olmuştur. Yapılan ozonla detoksifikasyon sonuçları yukarıda da belirtilen değerlerle, üzümlere uygulanan ozonlama çalışmaları paralelik göstermekte olup, antifungal etki sağlanmış ve başarıya ulaşıldığı kanısına varılmıştır.

Çalışılan örnek grubu incirde ise belirlenmiş aflatoksin düzeylerinin azalması üzerine ozon gazının etkisi ortalama %10.26 oranında olurken, ozonlu su uygulamasıyla aflatoksin düzeyi ortalama %18.87 olarak belirlenmiştir. Ozon gazı ve ozonlu suyun etkisiyle aflatoksin düzeyinin ise ortalama %26.18 azaldığı tespit edilmiştir.

Kuru incirlerde aflatoksin azaltılması ve mikrobiyal flora üzerine ozon gazı ve ozonlu suyun etkisi konulu çalışmada, kuru incirler 13.8 mg/L ozon gazı ve 1.7 mg/L ozonlu suya maruz bırakıldıktan sonra, aerobik mezofilik bakteri çeşidi, *E. coli*, koliform, maya ve fungus sayıları belirlenmiştir. Her iki ozon muamelesinde aerobik mezofilik bakteriler tamamen inaktif edilememiştir, *E. coli* ise 7.5 dak. tamamıyla inaktif edilmiştir. 15 dak. ozon uygulaması fungusların inaktivasyonu için yeterli olduğu belirtilmiştir. Yapay olarak aflatoksin inoküle edilen örnekler sırasıyla, 30, 60 ve 180 dak. ozon gazı ve ozonlu su uygulanmış, ozon süresinin artışından dolayı her iki uygulamada aflatoksin parçalanması artmıştır. Ayrıca bu çalışmada, ozonlu su uygulaması ozon gazına göre aflatoksin azalması daha fazla etkinlik sağlamıştır. (Zorlugenç vd., 2008).

Yapılan başka bir çalışmada, ozon uygulamasının kuru incir mikoflorası üzerine etkisi konulu çalışmada, kuru incirlere mikofloranın inaktivasyonu için 3 ve 5 saat 5 ve

10 ppm gaz formunda ozon gazi uygulanmıştır. Total aerobik mezofilik mikroorganizma ve maya/fungus sayıları azalmıştır. Koliform bakterilerin ise %38 ve %72 düzeylerinde azaldığı gözlenmiştir. Kuru incirlerde mikroorganizma sayısının azaltılmasında minimum 3 saat 5 ppm ozon uygulaması gerektiğini vurgulamışlardır. 1,5 ve 10 ppm ozon konsantrasyonunda 3 saatlik uygulamadan sonra maya/fungus sayılarının sırasıyla 1.30; 073 ve 0.57 log cfu/g oranında azaldığı gözlemlenmiştir. 1, 5 ve 10 ppm ozon konsatrasyonunda 5 saatlik bir uygulama sonucunda ise maya/fungus sayıları 1.00, 0.57 ve 0.40 log cfu/g azaltılmıştır (Öztekin vd., 2006).

Çalışılan incir örneklerinde başlangıçta yüksek olan ozon gazi, ozonlu su ve ozon gazı-ozonlu su uygulamaları neticesinde her bir aşamada aflatoksin düzeyinde bir azalma görülmüştür. Yapılan çalışmalarla paralellik gösteren bu çalışmada, ozon uygulaması sonucunda detoksifikasyon istenilen düzeyde sağlanmıştır. Gıda endüstrisinde uygulamada yer alan antimikrobiyal ajanlar arasında hızla yükselen ozon uygulamaları sonucunda incir örneklerimizde başarıyla detoksifikasyon sağlanmıştır. Toplanan incir örneklerindeki aflatoksin oluşumlarını tamamen indirmek mümkün değildir. Fakat yasal sınırın altına düşürmek insan sağlığına belli bir oranda da olsa bu teknolojiyi kullanarak katkı sağlamak, doğal bir antimikrobiyal ajan ile yaşam kalitesini artırmak amaçlanmıştır.

Çalışılan son örnek grubu olan kayısıda ise belirlenen aflatoksin değerlerinin, ozon gazi uygulamasından sonra ortalama %14.05 oranında azaldığı gözlemlenirken, ozonlu su uygulaması ile kayısı örneklerindeki toksin düzeyinin ortalama %21.41 oranında azaldığı, ozon gazi ve ozonlu su uygulamasından sonra ise toksin düzeyinin ortalama %30.77 düzeyinde azaldığı belirlendi.

Kayısı örneklerimizde aflatoksin detoksifikasyonunun sağlanması için kullandığımız ozon uygulaması ile kayısı üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu doğrultuda çalışma verilerimizin ilk olduğu düşünülmektedir. Ozon gazi, ozonlu su ve ozon gazı-ozonlu suyun uygulandığı kayısı örneklerimizde aflatoksin yükünün azaldığı ve her üç parametre içinde aradaki farkın istatistik olarak anlamlı bulunduğu görülmüştür.

Kayısı örneklerimizin temin edildiği bölgede yapılan zirai ilaçlamalar nedeniyle örneklerimizde insan sağlığını tehit eden pestisit kalıntısı olması ihtimaller dahilindedir. Bu durum göz önüne alındığında yapılan ozon uygulamasının aflatoksin oranını düşürdüğü gibi pestisit kalıntılarını da azaltabileceği ozonla detoksifikasyonun ayrıca önemli bulguları arasında sayılabilir.

Yapılan bir çalışmada, kayısı, badem ve şeftali meyve fidanları 25 $\mu\text{L/L}$ ozon konsantrasyonunda 4 saat süreyle uygun bir odada maruz bırakılmıştır. Ürünlerin büyümesi üzerine ozon gazının etkisi olduğu belirlenmiştir. Badem ozona en duyarlı meyve fidanı olarak bulunmuştur (Patrick ve Robert, 1990).

Üzüm, incir ve kayısı meyvesinde başlangıçta ölçülen Aflatoksin değerleri ile Ozon gazı, Ozonlu su, Ozon gazı ve Ozonlu sudan sonra ölçülen aflatoksin değerleri karşılaştırıldığında ölçümler arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Ölçümler ikişerli karşılaştırıldığında başlangıç aflatoksin-ozon gazı, başlangıç aflatoksin-ozonlu su, başlangıç aflatoksin-ozon gazı+ozonlu su arasındaki farklılıkta önemlidir. En düşük değere Ozon gazı-Ozonlu su işleminde rastlanmıştır. Aflatoksinde maksimum azalma için bulunan İstatistikî değerler Çizelge 4.3'te verilmiştir. Buna göre genel olarak bazı standart sapma değerlerinin yüksek çıkışının örneklerin ihtiya ettiği aflatoksin miktarları arasındaki farklılıklardan ileri geldiği düşünülmektedir.

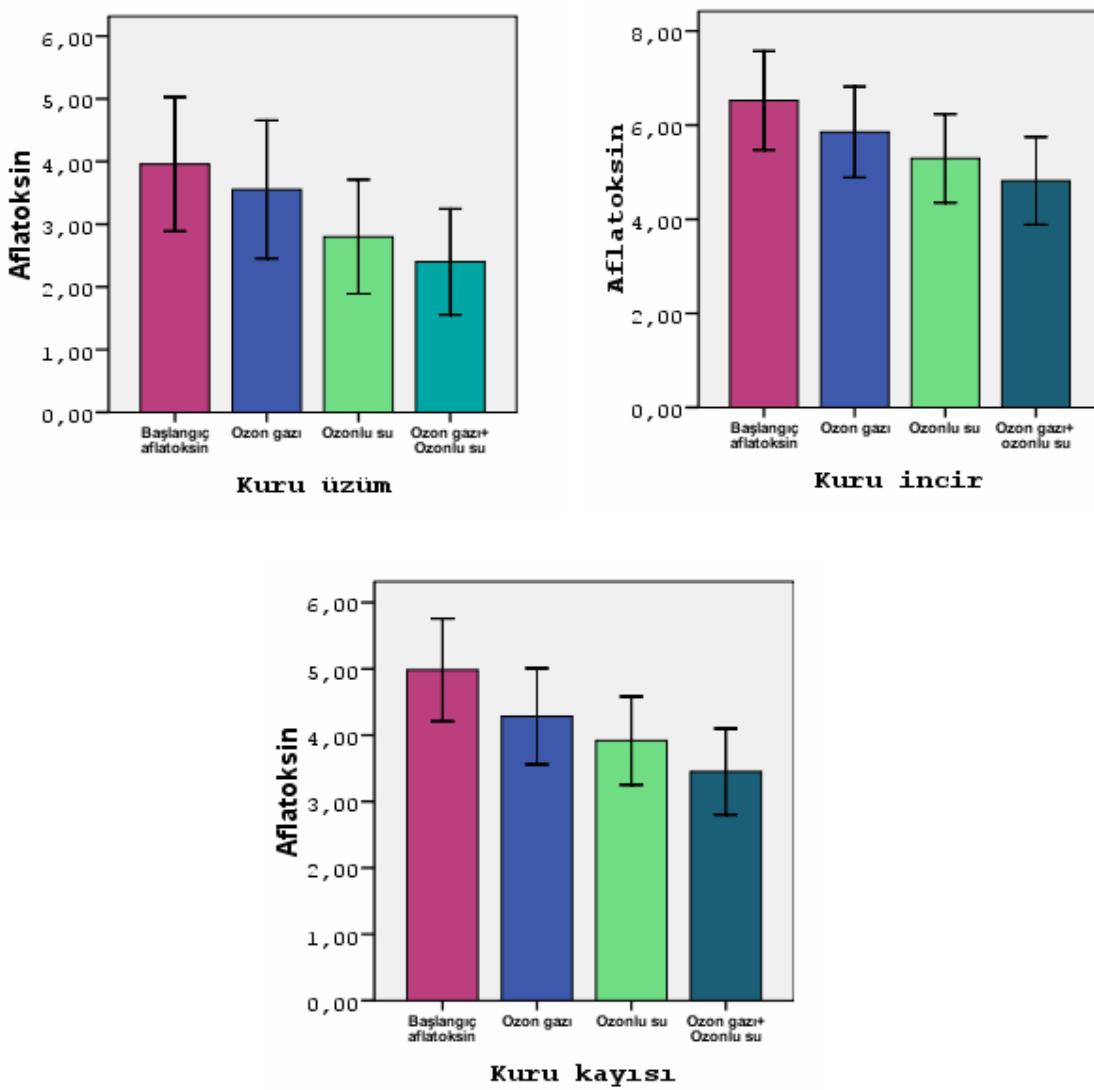
Çizelge 4.3 Ozon uygulamalarının Aflatoksin düzeylerinde maksimum azalmaya sebep olduğu örneklerde istatistiksel analiz sonuçları

PARAMETRELER	ÜZÜM $\bar{X} \pm S$	İNCİR $\bar{X} \pm S$	KAYISI $\bar{X} \pm S$
Aflatoksin	9.67 ± 4.39	11.9 ± 3.29	9.03 ± 2.71
Ozon Gazı	5.23 ± 4.83	9.90 ± 2.72	5.70 ± 3.25
Ozonlanmış Su	5.06 ± 3.86	8.93 ± 2.76	4.86 ± 2.93
Ozon Gazı + Ozonlu Su	7.30 ± 4.25	6.83 ± 3.39	5.96 ± 2.06
SONUÇ *	P = 0.001 P < 0.05 Önemli	P = 0.001 P < 0.05 Önemli	P = 0.001 P < 0.05 Önemli

* Önemli değişiklikler uygulanan yöntem sonrası ve başlangıçtaki aflatoksin arasındaki fark için verilmiştir.

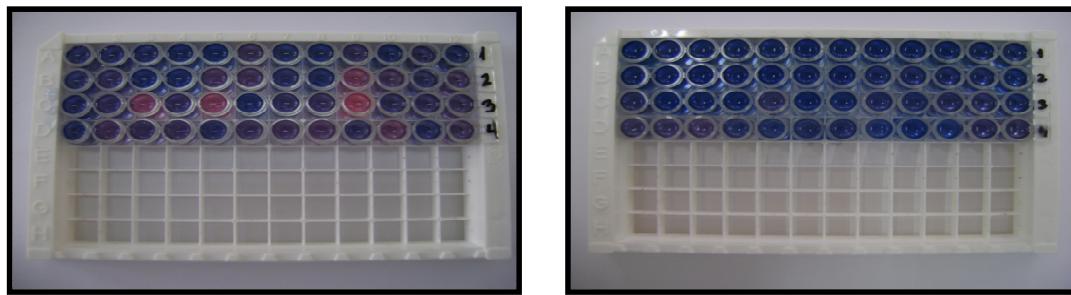
İstatistiksel yöntemin sonuçları göz önüne alındığında, ozon gazı uygulaması üzüm, incir ve kayısı örnekleri üzerindeki aflatoksin içeriklerinin azalması yönündeki etkisi üzüm < incir < kayısı şeklinde gelişmiştir. Ozon gazının her üç örneğe karşı göstermiş olduğu detoksifikasyon sonuçlarının karşılaştırıldığında ilk sırayı kayısı örneği almıştır. Ozonlu su uygulandığında aflatoksin miktarındaki azalma gruplar düzeyinde üzüm < kayısı < incir; ozon gazı-ozonlu su uygulaması birlikte olduğunda ise kayısı < üzüm < incir şeklinde olmuştur. Sonuç olarak ozon gaz olarak ve suya verilerek

uygulandığında incir örneklerinde, sadece ozon gazı olarak kullanıldığında ise kayısı örneklerinde iyi sonuç vermiştir. Ozonla detoksifikasyon sonuçlarının istatistikî değerlendirmeleri Şekil 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.4 Kuru üzüm, incir, kayısında başlangıçta ve ozon uygulamasından sonraki ortalama aflatoksin düzeyleri

Test edilen örneklerinde ozonlama işleminden önceki ve ozon gazı, ozonlu su ve ozon gazı-ozonlu su uygulamasından sonraki CD-ELISA platelerindeki kuyucuklarda oluşan renk değişimi Şekil 4.5'de verilmiştir.



a) Ozonlama işleminden önce

b) Ozonlama işleminden sonra

Şekil 4.5 Ozonlanma işleminden önce ve ozonlama işleminden sonraki ELISA platelerindeki kuyucuklarda oluşan renk değişimi

Ozonun mikroorganizmalar üzerine olan etkisi bazı faktörlerden (sıcaklık, pH, nem miktarı) dolayı değişik çalışmalarda doğal olarak farklılıklar göstermektedir. Değişkenlikler mikroorganizma suşuna, kültürün yaşına, mikroorganizma konsantrasyonuna (sayısına), ozonla reaksiyona girebilecek maddelerin ortamda bulunmasına, ozon uygulanış şekline (gaz olarak veya sulu ortama enjeksiyonyla) ve ozon konsantrasyonu ölçümlerinin doğruluğu gibi etkenlere bağlı olmaktadır (Moore vd., 2000).

Genel olarak mikroorganizmalar ozona karşı duyarlı olsalar da fizyolojik şartlar ve çevresel faktörler mikroorganizmaların ozonla inhibisyonu üzerinde önemli derecede etkili olmaktadır. Mikroorganizmaların ozona karşı olan duyarlılıkları ortamın pH'sına, sıcaklığına, nemine, ortamdaki katkı maddelerinin (asitler, şekerler vb.) varlığına ve hücreyi saran organik maddelere göre farklılık göstermektedir (Kim vd., 1999).

Sonuç olarak yapılan 3 farklı grup kuru meyvede, üç farklı şekilde ozon uygulandığında, ozon gazında kayısı, ozonlu suda incir, ozon gazı ve ozonlu suda ise tekrar incir ürününde aflatoksin içeriğinin azaltılması yönünde başarı sağlanmıştır. En fazla başarı oranı incir ürününde olup, ozonlu su uygulaması ile sağlanmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye'de yoğun olarak yetiştirilen üzüm, incir ve kayısı meyve örneklerinde doğal olarak oluşan *Aspergillus* spp. ve aflatoksin oluşumlarının ozonla detoksifikasyonunun amaçlandığı bu çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda şu sonuçlara varılmıştır;

Örneklerin mikrobiyolojik ekimlerinden sonra gelişen fungus kolonilerinin izolasyonları sonucunda teşhis edilmesiyle, doğal olarak oluşan *Aspergillus* spp. belirlenmiştir. Mikrobiyolojik izolasyonlar sonucunda *Aspergillus* spp. dışında tespit edilen fungus cinsleri dikkate alınmamıştır.

Üzümde belirlenen *Aspergillus* spp.; %52 *A. niger*, %15 *A. flavus*, %4 *A. paraciticus* olarak bulunmuştur. İncirde *Aspergillus* spp.; %60 *A. niger*, %18 *A. flavus*, %8 *A. paraciticus* olarak bulunmuştur. Kayısında belirlenen *Aspergillus* spp.; %54 *A. niger*, %20 *A. flavus*, %7 *A. paraciticus* olarak bulunmuştur. Sonuç olarak çalışılan tüm ürün gruplarında *Aspergillus niger* en yaygın aflatoksijenik cins olarak belirlenmiştir.

Tüm örneklerdeki mikoflora çalışmaları sonucuna göre mikotoksijenik özelliğe sahip *Aspergillus* spp. en yaygın fungus cinsi olarak saptanmıştır. Gerek yetiştirildiği illerin iklim koşulları gerekse kuru meyvelerin *Aspergillus* cinsleri için iyi bir substrat olması, depolanma sürelerinin uzun ve ürün olarak işleme aşamalarındaki yetersizliklerden dolayı *Aspergillus* bulaşıklığı yoğun olarak gözlenmiştir.

Çalışılan toplam 90 kurutulmuş meyve örneklerinin 41'inde (%60.67) 0,1-14.4 ppb seviyelerinde aflatoksin bulaşıklıkları saptanmıştır. 30 kuru üzüm örneğinin 16'sında 0,1-14.4 ppb düzeylerinde aflatoksin oluşumu belirlenmiş ve örneklerden yalnızca iki tanesinin yasal sınırın üzerinde aflatoksin içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. 30 kuru incir örneğinin 12'sinde 1,4-10,6 ppb düzeylerinde aflatoksin oluşumu belirlenmiş ve örneklerden yalnızca bir tanesinin yasal sınırın üzerinde aflatoksin içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. 30 kuru kayısı örneğinin 13'ünde 1,5-13,8 ppb düzeylerinde aflatoksin oluşumu belirlenmiş ve örneklerden yalnızca bir tanesinin yasal sınırın üzerinde aflatoksin içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Türkiye için önemli ihraç ürünlerini olan üzüm, incir ve kayısı meyveleri aynı zamanda dünya genelinde yaygın olarak tüketilen gıda maddeleridir. Gıda güvenliği, kalite ve güvenilirliği gibi konuların üzerinde önemle durulmaktadır. Ancak kuru meyvelerde hasat sırası ve hasat sonrası işlemler sonucunda artan aflatoksin bulaşıklığı, hem ekonomik hem de halk sağlığı açısından karşımıza büyük bir problem olarak

çökmaktadır. Bu nedenle özellikle aflatoksin riski taşıyan bu gibi ürünlerde, aflatoksin oluşumunun kontrolü için üretimden, işlemeye, dağıtımından depolamaya kadar olan tüm aşamalardaki gıda zincirinde çeşitli erken kontrol ve önleme çalışmalarının dikkatle planlanması gerekmektedir.

Tarım ürünlerinin işlenmiş halinin gıda, gıdanın da hammaddesinin tarım ürünleri olduğu unutulmamalıdır. Bu kapsamda kuru meyveler tarlada iken İyi Tarım Uygulamaları (Good Agricultural Practices), ürün olarak işleme aşamasında, İyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacturing Practices) ve İyi Hijyen Uygulamaları (Good Hygiene Practices), ürün olarak işlendikten sonra, İyi Depolama Uygulamaları (Good Storage Practices), İyi Dağıtım Uygulamaları (Good Distribution Practices) ve tüm kuru meyve ve ürünlerinin üretimi esnasında toplam kalite kontrol sistemlerinden HACCP, ISO 22000 gibi toplam kalite sistemleri uygulanmalıdır.

Aflatoksin konusunda uygulamada olan yasal kontroller sadece ihraç edilen ürünlerine değil iç piyasada tüketime sunulan ürünlerde de yapılmalıdır. Bunun içinde ürünler depolarda tutulduğlarında ya da marketlerde tüketime sunulma aşamasına kadar dikkatle izlemelidir. Aflatoksin bulaşıklığı bakımından kuru meyveler gibi riskli ürünlerin, tüketicilere sunulmadan önce aflatoksin analizleri rutin hale getirilmelidir. Bu analizler sonucu tolerans seviyelerinin üzerinde aflatoksin bulaşıklığı içeren gıda ve yemlerin insan ve hayvanlar tarafından tüketimi kesinlikle önlenmelidir.

Ozonla detoksifikasyon uygulamaları güçlü antimikrobiyal özelliği, çevre dostu bir yöntem olup belirli bir süre sonunda ürünlerden uçarak uzaklaşma özelliğinde olması gibi çeşitli faydalı özelliklerinden dolayı son yıllarda geniş uygulama alanlarında kullanılmaktadır. Çalışılan üzüm örneklerinde belirlenen aflatoksin düzeylerinin, ozon gazı uygulamasından sonra ortalama %14.06, ozonlu su uygulamasından sonra aflatoksin oranı ortalama %26.54, ozon gazı ve ozonlu su uygulamasından sonra ise ortalama %39.34 oranında azaldığı saptanmıştır.

Sadece gaz uygulanarak yapılan detoksifikasyon işleminde aflatoksin oluşumlarının azaltılmasında en fazla başarı kayısı örneklerinde sağlanırken su, su ve gaz uygulamaları birlikte uyguladığında ikisinde de incir örneklerinde başarı sağlanmıştır. Çalışma olanaklarının sınırlı olması nedeniyle daha ileri düzeyde örneğin, farklı gruplarda hangi nedenle başarı sağlandığının kimyasal, biyokimyasal, fizyolojik vb. özelliklere dayandırılması mümkün olmamıştır. Fakat daha sonraki çalışmalarda elde edilen sonuçların mutlaka nedensel sonuçlarının araştırılması ve planlanması önerilmektedir.

Taze gıdaların üreticiden tüketiciye ulaşana kadar; hasat, depolama, ürüne işleme ve ulaşım gibi çeşitli aşamalarda önemli bir kısmının bozulduğu düşünüldüğünde, gıdaları korumak amacı ile ıslı işlem, kurutma, radyasyon, ozon uygulamaları gibi farklı yöntemler geliştirilmiştir. Bu uygulamaların hepsinin avantaj ve dezavantajları olması göz önünde bulundurularak seçilmesi gerekmektedir. Bu anlamda düşük konsantrasyonlarda daha kısa temas süresi ile geniş spektrumda mikroorganizma inhibisyonunu sağlayan ozon uygulamaları gıda endüstrisinde başarı ile uygulanabilecektir.

Ozon güçlü bir sanitasyon ajansı olmasından dolayı gıda endüstrisindeki uygulamaları gün geçtikçe artmaktadır. Mikroorganizmalar üzerine geniş spektrumlu bir etkiye sahip olmasının yanı sıra klor ve diğer dezenfektanlara kıyasla düşük konsantrasyonlarda bile daha kısa sürede etkili olmaktadır. Ozonla detoksifikasyon çalışmalarında ozona karşı hassas veya dirençli mikroorganizmaların belirlenmesi, indikatör mikroorganizma seçimi, ozon kullanımında optimizasyona gidilmesi ve ozon hakkındaki bilgilerin geliştirilmesi gibi konulara yönelik çalışmaların yapılması gıda endüstrisinde ozon kullanımının daha başarılı ve etkili bir şekilde uygulanabilirliği için gerekli olduğu kanısındayız.

6. KAYNAKLAR

- A. D. Proctor; M. Ahmedna; J. V. Kumar; I. Goktepe (2004). Food Additives and Contaminants, Volume 21, pp. 786-793(8).
- Ahmet Erdoğan, Mustafa Gürses ve Selahattin Sert, (2003). Erzurum'da Satışa Sunulan Köme (Cevizli Pestil Sucuğu) ve Kuru İncirlerin Aflatoksin İçeriklerinin Saptanması Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. 34 (1), 85-88.
- Ajit K. Mahapatraa; K. Muthukumarappana; James L. (2010). Julsona Agricultural and Biosystems Engineering Department, South Dakota State University, Brookings, SD.
- Aksoy U., (2001). Kuru incir üretiminde verim ve kaliteyi artırmaya yönelik uygulamalar, Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi, Çiftçi Dergisi, 1.
- Albayrak S, Turak S, Gokce AY, Bozbek O. (2002). Preliminary studies on determination of fungal diseases on vineyards in (Erzincan Province. Erzincan ili baglarında fungal hastalıklarının belirlenmesi üzerinde çalışmalar). Bitki Kor Bult. 42: 81-90.
- Anonim, (2000). <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/210010320.pdf>.
- Anonim, (2002). Tarım İstatistikleri Özeti, Devlet İstatistik Enstitüsü, Ankara.
- Anonim, (2003). Kayısı ihtisas borsasının kurulması ve Malatya'nın vadelişlemlere geçebilmeme ekonomik yeterliliği, Malatya Kayısı Araştırma Geliştirme ve Tanıtma Vakfı, Yayın no:4, 138s., Malatya.
- Anonim, (2005a). Statistical Databases, FAOSTAT-Agriculture, <http://www.fao.org>
- Anonim, (2005). <http://ozontek.com/turkish/>
- Anonim, (2006a). Kimya Sanayii Özel İhtisas Komisyonu, Tarım İlaçları Çalışma Grubu Raporu, Dokuzuncu Kalkınma Planı (2007–2013).
- Anonim,(2006b). <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/210010320.pdf> Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü 891112005
- Anonim, (2006c). www.erbeyliincir.gov.tr
- Anonim, (2010a/b). <http://tgm.sanayi.gov.tr/Files/Documents/2010-uzum-raporu>.
- Anonim, (2012). <http://www.tarisincir.com/>

- Arıcı M., (2001). Isolierung von Schimmelpilzen und deren Bestimmung, sowie Mykotoxinanalysen aus Türkischen Feigen, Erdnüssen und Oliven, *Ernährung /Nutrition*, 25, 4, 157-160.
- B.K. Tiwari, C.P. O'Donnell, A. Patras, N. Brunton, P.J. Cullen, (2009). Food Chemistry 113 1119–1126
- Barnes, J. M. (1970). Aflatoxin as A Health Hazard, Journal of Applied Bacteriology, 33, 285-298.
- Battilani P, Pietri A, (2002). Ochratoxin A in Grapes and Wine. Congress on Mycotoxins in Plant Disease Agriculturally Important Toxigenic Fungi, volume 108, No.7:639-643. Rome.
- Batu A, Yurdagül Ü. (1993). Değişik katkılarının kullanımı ile beyaz katı kuru üzüm pekmezi eldesi üzerine araştırmalar. *Gıda Derg*; 18(3):157-163.
- Baysal, T. ve Ersus, S., (1999). Karotenoidler ve İnsan Sağlığı. Gıda 24 (3), 177-185.
- Beltran, D., Selma, M. V., Tudela, J. A., Gil, M. I., (2005). Effect of Different Sanitizers on Microbial and Sensory Quality of Fresh-Cut Potato Strips Stored Under Modified Atmosphere or Vacuum Packaging. Postharvest Biology and Technology, 37: 37-46.
- Beuchat, L. R. (1992). Media for Detecting and Enumerating Yeasts and Moulds, Int. J. Food Microbiol., 17, 145-158.
- Blesa J., Soriano J.M., Molto J.C., Marin R., Manes J., (2003). Determination of aflatoxins in peanuts by matrix solid-phase q dispersion and liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1011, 1-2, 49-54.
- Boudra H., Le Bars J., Le Bars P., Dupuy J., (1994). Time of *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin formation in ripening of figs, *Mycopathologia*, 127, 29-33.
- Brown, T., Corry, J. E. L., & James, S. J., (2004). Humidification of chilled fruit and vegetables on retail display using an ultrasonic fogging system with water/air ozonation. *International Journal of Refrigeration*, 27: 862–868.
- Bullerman, L.B., 1979. Significance of Mycotoxins to Food Safety and Human Health: *Journal of Food Protection*, 42 (1): 65–86.
- Bullerman, L.B., (1986). Mycotoxins and Food Safety: Food Techonology. A Scientific Status Summary by The Institute of Food Technologists' Expert Panel on Food Safety & Nutrition, 59-66.

- Burrels, C., Dawson, A. M. (1982). ELISA Methodology, Variations in Technical Procedures, Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science, Martinus Nijhoff Publishers, 1-9.
- Busby WF Jr, Wogan GN, (1984). Aflatoxins. In: Edwards F, ed. Chemical Carcinogens. York: Maple Press Co,: 945-1136.
- Bülent Zorlügenç, Feyza Kiroğlu Zorlügenç, Serdar Öztekin, I. Bulend Eviya, (2008). Food and Chemical Toxicology 46, 3593–3597.
- Carman, A. Jr., Kuan, S., Ware, G., Umrigar P., Miller K. And Guerrer, H. (1996). Robotic automated analysis of foods for aflatoxin. JAOC, 79(3):476-485.
- Charles, R ; Hurburgh, J.R, (1995). Mycotoxins in the Grainmarket, World Grain, October, page 23-26
- Chu vd. (1999). Doğal olarak 0,7-12mg DON/g düzeyinde deoksynivalenol (DON) bulaşıklığı içeren 6 buğday örneğini, immunoaffinite kolon yüksek performans sıvı kromatografisi (IAC-HPLC) ve CD-ELISA yöntemi kullanarak analiz çalışmaları yapmışlar ve elde ettikleri sonuçların birbiri ile uyumlu olduğunu bildirmişlerdir.
- Cole J.R., Milbra A.S., (2003). *Handbook of Secondary Fungal Metabolites*, Academic Press, 1, 547-569, USA
- Creppy, E.E. (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, Vol 127. (1), 19 -28 ss.
- Çelik H, Çelik S, Kunter BM, Söylemezoğlu G, Boz Y, Özer C, Atak A., (2005). Bağcılıkta Gelişme ve Üretim Hedefleri. VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi Bildirisi, 3-7 Ocak, Ankara,.
- Derici, B., (1997). Kuru İncirlerde Aflatoksin ve Okratoksin-A Oluşumunun Bazı Besin Maddeleri ile İlişkileri Üzerinde Araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Bil. Ens. Bahçe Bitkileri A.B.D. YüksekLisansTezi.
- Domsch KH, Gams W, Anderson TH. (1980). Compendium of soil fungi. London, Academic press.
- Eaton, D. L., Gallagher, E. P. (1994). Mechanism of Aflatoxin Carcinogenesis, Annu. Rev. Pharmacology Toxicology, 34, 135-172.
- EC, 1998, Commission Regulation (EC) No.1525/98 of July (1998), Amending Regulation, Setting Maximum Levels For Certain Contaminants in Foodstuffs. Official Journal of The European Communities.

- Edrington TS, Sarr AB, Kubena LF, Harvey RB, Philips TD. (1996). Hydrated sodium calcium aluminosilicate (HSCAS), acidic HSCAS, and activated charcoal reduce urinary excretion of aflatoxin M1 in turkey poulets. Lack of effect by activated charcoal on aflatoxicosis. *Toxicol Lett*; 89: 115-22.
- El-Sayed M. Embaby, Mona M. Abdel-Galil and Laila F. Hagag, (2007). Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 3(6): 631-637.,
- Eltem R, Ozkale E, Sarigul N, Efendiler H, Karaboz I, Tamer AU. (2001). Manisa ve Izmir illerindeki cesitli sultaniye baglarinda yetisen uzumlerin kuf florasinin incelenmesi. XII. Biyoteknoloji Kongresi. 17-21 September, Balikesir. Bildiri Kitabi. pp. 43-46.
- El Khoury A, Rizk T, Lteif R, Azouri H, Delia ML, Lebrihi A., (2008). *Food Chem Toxicol*. 2008 Jun;46(6):2244-50.
- Erdoğan A, Gürses M., (2003). Gıdalar üzerinde *Penicillium* cinsi funguslar tarafından oluşturulan bazı mikotoksinler. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu; İstanbul, 111-116.
- Evren, M., (1999). Aflatoksinlerin etki şekilleri, gıdalarda bulunma durumları ve önleme çareleri, O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi cilt:14 Sayı:2 , Samsun.
- F. Inan, M. Pala_, I. Doymaz, (2007). Department of Chemical Engineering, Yildiz Technical University, 34210 Esenler, Istanbul, Turkey
- Fischer G, Dott W. (2003). Relavance of airborne fungi and their secondari metabolites for environmental, occuppational and indoor hygiene. *Archives Microbiol* 179:75-82.
- Gao, D., Gu, J., Dong, J., & Xu, X., (2006). Ozone fruits fresh-keeping packaging technology and experimental research. *Nongye Jixie Xuebao/Transactions of the Chinese Society of AgriculturalMachinery*, 37 (8): 190-193.
- Gezer, İ., Haciseferogulları, H., Demir, F., (2002b), Some physical properties of Hacıhaliloglu apricot pit and its kernel, *Journal of Food Engineering*, 56, 49-57.
- Gillespie, J., Schwarz, P., Mostrom, M. S., Tacke, B., Dong, Y. And Munn, B. (2003). Update on USWBSI DON Diagnostic Laboratories, National Fusarium Head Blight Forum Proceedings, Food Safety, Toxicology and Utilization, 186-190 p.
- Ghosia Lutfullah, Arshad Hussain, (2010). Studies on contamination level of aflatoxins in some dried fruits and nuts of Pakistan. *Food Control* (2010) Volume: xxx, Publisher: Elsevier Ltd, Pages: 4-7

- Goldblatt, L.A., and Dollear, F.G., (1977). Detoxification of Contaminated Crops: Mycotoxins in Human and Animal Health. Rodricks, J.V., Hesseltine, C.W., Mehlman, M.A. (Eds.), Pathotox Publishers, Inc., Park Forest South, Illinois. pp. 139-150.
- Gonzalo A. Diaz, Rene Torres, Mario Vega, Bernardo A. Latorre, (2009). Ochratoxigenic *Aspergillus* species on grapes from Chilean vineyards and *Aspergillus* threshold levels on grapes International Journal of Food Microbiology 133(2009) 195-199.
- Gözde Girgin, Nurşen Başaran, Gönül Şahin, (2001). Dünyada Ve Türkiye'de İnsan Sağlığını Tehdit Eden Mikotoksinler. Cilt 58, No 3, S : 97 – 118 Türk Hij Den Biyol Derg.
- Guzel-Seydim, Z., Grene, A. K., Seydim, A. C., (2004b). Use of Ozone in the Food Industry. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 37: 453-460.
- Günana ,(2012).<http://www.gunana.com/gunana-uneraslan/incir/lokum/genelbilgiler/1/tr/315/ incirin insan-sagligi-ve-beslenmedeki-onemi.html>, Günana Tarım İnş. Tur. İthl. Ihr. San. ve Tic. Ltd. Şti. Nazilli/Aydın
- Günsen U, Büyükyörük I., (2002). Aflatoxins in retail food products in Bursa, Turkey. Vet Hum Toxicol. 44(5):289-90.
- Gürses, M., Erdoğan, A., Sert, S. (2003). Erzurum Piyasasında Satılan Yerfistiği, Antep Fıstığı ve Bademlerin Aflatoksin Yönünden İncelenmesi. Gıda. 28(6), 607–610.
- Hakan Karaca, Spencer S. Walse ve Joseph L. Smilanick. (2011) Effect of continuous 0.3 µL/L gaseous ozone exposure on fungicide residues on table grape berries. Postharvest Biology and Technology
- Helperich W., Winter C.K., (2000), *Food Toxicology*, Woodhead Publishing, Cambridge, UK.
- Henry, S. H., Bosch, F. X., Troxell, T. C. and Bolger, P.M. (1999). Reducing Liver Cancer- Global Control of Aflatoxin, Science, 286, 2453-2454.
- Heperkan D., Güler F.K., Kaya G.D., (2005). Türkiye'de Mikotoksin Çalışmaları, // *Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildiriler Kitabı*, İstanbul.
- Herrman, T. (2002). Mycotoxins in Feed Grains and Ingredients. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative ExtensionService. <http://www.oznet.ksu.edu/agronomyblock2/aflatoxin.pdf>. Accessed 20 May 2005.

- Hsieh, D.P.H., Wong, Z.A., Wong, J.J., Michos, C., and Ruebner, B.H., (1977). Comparative Metabolism of Aflatoxin: Mycotoxins in Human and Animal Health. Rodricks, J.V., Hesselton, C.W., Mehlman, M.A. (Eds.), Pathotox Publishers, Inc., Park Forest South, Illinois. pp. 37-50.
- Hur, J-S., Oh, S-O., Lim, K-M., Jung, J. S., Kim, J-W., & Koh, Y. J., (2005). Novel effects of TiO₂photocatalytic ozonation on control of postharvest fungal spoilage of kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology*, 35: 109–113.
- Hussein A. M., N. F. Sommer ve R. J. Fortlage., (1986). Suppression of *Aspergillus flavus* in Raisins by Solar Heating During Sun Drying. The American Phytopathological Society. DOI: 10.1094/Phyto-76-335.
- Iamanaka, B. T.; Menezes, H.,C De; Vicente, E.; Leite, R. S.F.; Tanıwaki, M., H., (2007). Aflatoxigenic fungi and aflatoxins occurrence in sultanas and dried figs commercialized in Brazil, *Food Control*, 18: 454-457.
- Jaksch, D., Margesin, R., Mikoviny, T., Skalny, J. D., Hargunten, E., Schinner, F., Mason, N. J., Mark, T.D., (2004). The Effect of Ozone Treatment on the Microbial Contamination of Pork Meat Measured by Detecting the Emissions Using PTR-MS and by Enumeration of Microorganisms. International Journal of Mass Spectrometry, 239: 209-214.
- Kabak B, Var I. (2006). Meyve Suyu ve Şaraplarda Mikotoksin Varlığı. *Dünya Gıda Dergisi*, 73-79.
- Karabudak E., (2001). Kayısı ve insan sağlığı, Kayısı Sempozyumu, Nisan 2001,Malatya, Türkiye, 89-96.
- Karaca, Hakan and Velioglu, Y. Sedat(2007) 'Ozone Applications in Fruit and Vegetable Processing', Food Reviews International, 23: 1, 91 — 106
- Karadeniz F, Ekşi A. (2002). Gıdalarda Mikotoksin Oluşumu ve Azaltılması. *Dünya Gıda Dergisi*; 104.
- Karbancıoğlu-Güler F, Heperkan D., (2008) Natural occurrence of ochratoxin A in dried figs. *Analytica Chimica Acta* 617:32-36.
- Kells S.A., Mason L.J., Maier D.E., Woloshuk C.P.(2001) Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. Journal of Stored Products Research, 37: 371-382.

- Ketteringham, L., Gausseres, R., James, S. J., James, C., (2006). Application of Aqueous Ozon for Treating Pre-Cut Green Peppers (*Capsicum annuum* L.). Journal of Food Engineering, 76(1): 104-111.
- Khadre Ma and Yousef Ae. (2002). Susceptibility of human rotavims to ozone, high pressure, and pulsed electric field.
- Kim JG, Yousef AE and Dave, S. (1999a). Application of for enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. J. of Food Protect, 62(9): 1071-1087.
- Klich MA. (1993). Morphological studies of *Aspergillus* section Versicolores and related species. Mycologia 85: 100-107
- Kocaşaban, N., (1991). Aflatoksine Duyarlı Bazı Gıdaların Fungal Florası ve Aflatoksiyenik Küflerin Saptanmasında Uygun Besiyeri ve İzolasyon Yöntemi Üzerine Bir Çalışma. Ege Üniversitesi Fen Bil. Ens. Gıda Mühendisliği A.B.D. Yüksek Lisans Tezi.
- Meltem Yesilçimen Akbaş, Murat Özdemir, (2008). Food Microbiology 386–391.
- Moore G, Griffith C and Peters A. (2000). Bactericidal properties of ozone and its potential application as a terminal disinfectant. J. of Food Protect, 63 (8): 1100-1106.
- Moss, M.O., (2002). Mycotoxin Review-1. *Aspergillus and Penicillium*. Mycologist, 16: 116-119.
- Munzuroğlu, Ö., Karataş, F., Geçkil, H., (2003). The vitamin and selenium contents of apricot fruit of different varieties cultivated in different geographical regions, Food Chemistry, 83, 205-212.
- Magan N., Olsen M (2004). Mycotoxins in food Detection and control, ed. by Woodhead Publishing, Cambridge, UK.
- Nagayoshi, M., Fukuizumi, T., Kitamura, C., Yano, J., Terashita, M., Nishihara, T. (2004). Efficacy of Ozone on Survival and Permeability of Oral Microorganisms. Oral Microbiology Immunology, 19: 240– 246.
- Nagy H. Aziz, Loutfy A.A. Moussa, Food Control 13 (2002) 281-288.
- Naito, S. & Takahara, H., (2006). Ozone contribution in food industry in Japan. *Ozone: Science &Engineering*, 28 (6): 425-429.

- Nelson, P.E., Desjardins, A.E. And Plattner, R.D. (1993). Fumonisins, Mycotoxins Produced By Fusarium Species: Biology, Chemistry and Significance. In: R.J. Cook, (Ed) *Ann. Rev. Phytopathol.*, 31: 233-249.
- Nikos Tzortzakis, Anne Borland, Ian Singleton, Jeremy Barnes, (2007). Postharvest Biology and Technology 45 317–325
- Olgun A. ve Adanacıoğlu, H., (2001), Kayısının yurtiçi tüketimini artırma imkanları,Kayısı Sempozyumu, Nisan 2001, Malatya, Türkiye, s. 97-105.
- Özay G., (1989). Kuru incirlerde (*Ficus carina L.*) aflatoksin kontaminasyonu, gıdalarda küfler ve mikotoksinler sempozyumu, *Tübitak Marmara Araştırma Merkezi-İstanbul Ticaret Odası*, İstanbul.
- Özdemir, F., Topuz, A., Doğan, Ü., Karkacier, U. (1998). Fındık Çeşitlerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri, *Gıda* 23(1), 37-41.
- Özkan, M., (2001). Kuru Kayıslardan Kükört Dioksitin Uzaklaştırılması Üzerinde Araştırma, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 113s.
- Öztekin, S., Zorlügenç, B., Kiroğlu Zorlügenç, F., (2006). Effects of Ozone Treatment on Microflora of Dried Figs. *Journal of Food Engineering*, 75 (3): 396-399.
- P. Sekar, N. Yunmam, and K. Ponmurugan, (2008). Screening and Characterization of Mycotoxin Producing Fungi from Dried Fruits and Grains, *Advanced Biotech*.
- Palmgren, M.S. and Hayes, A.W., (1987), Aflatoxins in Food: Mycotoxins in Food. Krogh, P. (Ed.), *Food Science and Technology (A Series of Monograph)*, Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich, Publishers. London – San Diego – New York – Berkeley, pp 65-97.
- Palou, L., Smilanick, J.L., Crisosto, C.H., & Mansour, M., (2001). Effect of gaseous ozone exposure onthe development of green and blue molds on cold stored citrus fruit. *Plant Disease*, 85 (6): 632-638.
- Palou, L., Crisosto, C. H., Smilanick, J. L., Adaskaveg, J. E., & Zoffoli, J. P., (2002). Effects ofcontinuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 24: 39–48.
- Palou, L., Smilanick, J. L., Crisosto, C. H., Mansour, M., Plaza, P., (2003). Ozone Gas Penetration and Control of the Sporulation of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*within Commercial Packages of Oranges during Cold Storage. *Crop Protection*, 22: 1131-1134.

- Park, J. J., Smalley, E. B. and Chu, F.S. (1996). Natural Occurrence of *Fusarium* Mycotoxins in Field Samples from the 1992 Wisconsin Corn Crop, Applied and Environmental Microbiology, 62(5), 1642-1648.
- Patel P., (2004). Mycotoxin analysis: current and emerging Technologies, Mycotoxins in food Detection and control, ed. by Magan N., Olsen M, Woodhead Publishing, Cambridge, UK
- Patrick M. McCool and Robert C. Musselman (1990). Impact of Ozone on Growth of Peach, Apricot, and Almond. HORTSCIENCE 25(11):1384-1385.
- Pitt J.I., Hocking A.D., (1997). *Fungi and food spoilage*, London, Academic Press., USA.
- Pohland, A.E., (1993). Mycotoxins in Review. Food Additives and Contaminants. 10 (1), 17-28.
- Pratella, G.C., (1996). Notes on the bio-pathology and techniques of storage transport of fruits. Apricot.R.Pl.Pathol,75(4):25-44.
- Punam K. Singh., (2012). Assessment of Mycotoxins in Edible Tree Borne Oil Seeds. Journal of Food Research; Vol. 1, No. 3; 2012.
- Quillien,J.F.(2002).Mycotoxins.<http://www.fevia.be/pdf/FLAIR%20FLOW%20ONE%20PAGERS/Synthese/mycotoxins.pdf>.Accessed 20 May 2005
- Rengin Eltem, Uygun Aksoy, Ahmet Altındışlı, Nermin Sarıgül, Evrim Taşkın, Tülin Aşkun, Mustafa Ateş, Betül Meyvacı, Zübeyde Arasiler, Hülya Turgut ve Nurcan Kartal, (2001). Ege Bölgesinde Çekirdeksiz Kuru Üzümlede OTA Oluşumunun Belirlenmesi. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu.
- Reyes, J.E., Aquirre, C., Vargas, C., Petzold, G., Valencia, C. and Luarte, F., (2003). Efficacy of washing by spraying with chlorine dioxide, ozone or Kilol(R) for reduction of bacterial contamination of pieces of beef. *Alimentaria*, 344, 17-21.
- Rice, R. G., Robson, C. M., Miller, G. W., Hill, A. G., (1981). Uses of Ozone in Drinking Water Treatment. Journal of the American Water Works Association, 73(1): 44-57.
- Rita Serra, Luis Abrunhosa, Zofia Kozakiewicz and Armando Venancio, (2003). International Journal of Food Microbiology 88 63-68.
- Sabino, M., Milanez, T. V., Lamardo, L. C. A., Navas, S. A., Stofer, M. and Garcia, C. B. (1997). Evaluation of the Efficiency of Two Immunoassay Kits for Aflatoxin B₁ in Corn, Fish Feed, Peanuts and Its Products. Ciencia e Tecnologia de Alimentos, 17(2):107-110.

- Saeed M. S. Alghalibi and Abdul-Rahman M., (2004). Mycoflora and Mycotoxin Contamination of Some Dried Fruits in Yemen Republic. Ass. Univ. Bull. Environ. Res. Vol. 7 No:2, October 2004.
- Samson RA, Hoekstra ES, Frisvad JD, Filtenborg O. (2002). Introduction to food-and airborne fungi. Sixth Ed. 389 pp. Centraalbureau Voor Schimmelcultures-Utrecht-The Netherlands.
- Seçer, E., ve İç, E., (2003). Kuru Üzümlede Küflenmeye Neden Olan A. niger van Tieghem'e Gama İşınlamasının Etkisi. VIII. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi Sözlü Bildiriler Kitabı. 15-17 Ekim 2003.
- Serdar Öztekin, Bulent Zorlugenç, Feyza Kiroğlu Zorlugenç, (2006). Journal of Food Engineering 75 396–399.
- Senyuva HZ, Gilbert J, Ulken U., (2007). Aflatoxins in Turkish dried figs intended for export to the European Union. J Food Prot. 2007 Apr;70(4):1029-32.
- Sharma, R. P., Salunkhe, D. K. (1991). Mycotoxins and Phytotoxins, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Smilanick, J. L., Crisosto, C., & Mlikota, F., (1999). Postharvest use of ozone on fresh fruit. *Perishables Handling Quarterly*, 99: 10-14.
- Smilanick, J. L. , Margosan, D. M. and Gabler, F. Mlikota (2002) 'Impact of Ozonated Water on the Quality and Shelf-life of Fresh Citrus Fruit, Stone Fruit, and Table Grapes', Ozone: Science & Engineering, 24: 5, 343-356.
- Smith J.E., (1997). Aflatoxins : Handbook of Plant and Fungal Toxicant. J.P. Felix D'mello (Ed.). CRC Press. pp. 269-285.
- Smith JE. (2001). Mycotoxins. In Food Chemical Safety Volume 1: Contaminants; Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Abington Hall, Abington, Cambridge CB1 6AH England, Part II: Particular Contaminants. Secion 11
- Smith, J.E. and M.O. Moss, (1985). Mycotoxins: Formation, Analysis and Significance, Printed in Great Britain, Sons. Ltd., 143p.
- Steyn PS, Stander MA. (1999) Mycotoxins with Special Reference to the Carcinogenic Mycotoxins: Aflatoxins, Ochratoxins and Fumonisins. In: Ballantyne B, Marrs TC, Syversen TLM, eds. General and Applied Toxicology. 2nd Edition. United Kingdom: Macmillan Reference Ltd, 2145-76.
- Stoloff, L. (1980). Aflatoxin M₁ in Perspective, J. Food Prot., 43, 226–230.

- Stroka J., Anklam E., Jörissen U., Gilbert J., (2000). Immunoaffinity Column Cleanup With Liquid Chromatography Using Post-Column Bromination for Determination of Aflatoxins in Peanut Butter, Pistachio Paste, Fig Paste and Paprika Powder: Collaborative Study, *Journal of AOAC International*, 83, 2, 320-340.
- Sweeney, M. J., Dobson, A. D. W. (1998). Mycotoxin Production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* Species, *International Journal of Food Microbiology*, 43, 141–158.
- S. Melki Ben Fredj*, S. Chebil and A. Mliki, (2009). Isolation and characterization of ochratoxin A andaflatoxin B1 producing fungi infecting grapevines cultivated in TunisiaAfrican Journal of Microbiology Research Vol. 3(9) pp. 523-527.
- Şanlı, Y. ve Kaya, S., (1992). Veteriner Klinik Toksikoloji. Medisan Yayınları Yayın No:5, Ankara.
- Şenol İbanoğlu, (2001). Deparment of Food Engineering, Faculty of Engineering, The Universti of, 27310 Gaziantep, Turkey. *Journal of Food Engineering* 48 345-350
- Tantaoi-Elaraki A, Beraoud L. (1994) Inhibition of growth and aflatoxin production in *A. parasiticus* by essen-tial oils of selected plant materials. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*; 13 (1): 67-72.
- Taşkaya B. (2003). Kuru üzüm, T.E.A.E-Bakış. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü Dergisi. Sayı 3, Nusha 7.,
- Temiz, A., ve Özkaray, S. (2003). Aflatoksinler: Kimyasal Yapıları, Toksisiteleri ve Detoksifikasiyonları, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 01, 1-21.
- TGK (2009). Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2008/26) Resmi Gazete Tarihi: 16 Şubat 2009 - Sayı: 27143.
- Toğrul, İ.T. and Pehlivan, D., (2003), Modeling of drying kinetics of single apricot, *Journal of Food Engineering* , 58, 23-32.
- Trucksess, M. W., (1998). Mycotoxinns, *J. AOAC Intl.*, 81, 128-137.
- Tuğ, Y., (2002). Kuru incir raporu, T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Araştırma Planlama ve Koordinasyon Kurulu Başkanlığı, Ankara.
- Uygun Aksoy, Elif sabır, Rengin Eltem, Selma Kıraç, Nermin Sarıgül, K. Betül Meyvacı, Mustafa Ateş ve Meltem Çakır, (2001). Kuru İncirlerde Okratoksin A'nın Potansiyel Kontaminasyon Riskinin Azaltılması.Uluslararası Mikotoksin Sempozyumu.

- Van Egmond, H., (1999). "Worlwide Regulation for mycotoxins." Thirt joint FAO/WHO/UNEP İnternational conference on mycotoxins. MYC-CONF/99/8a.
- Var I., Evliya B., Zorlugenç B., Duman A.D., (2001). Kuru incirlerde Küf İzolasyonu ve Tanimlanması ve Aflatoksin Belirlenmesi, *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16, 1, 61-66.
- Wei, K., Zhou, H., Zhou, T. & Gong, J., (2007). Comparison of aqueous ozone and chlorine assanitizers in the food processing industry: Impact on fresh agricultural produce quality, *Ozone: Science &Engineering*, 29 (2): 113 – 120.
- Williams GM, Iatropoulos MJ. (1996). Inhibition of the hepatocarcinogeneity of aflatoxin B1 in rats by low levels of the phenolic antioxidants butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *Cancer Lett*; 104 (1): 49-53.
- Wilson, B.J., (1978). Hazards of Mycotoxins to Public Health, *Journal of Food Protection*, 41(5), 375-384.
- Xu, L., (1999). Use of Ozone to Improve the Safety of Fresh Fruits and Vegetables. *Food Technology*, 53 (10): 58-63.
- Yu, J., Mohawed, S. M., Bhatnager, D., Cleveland, T. E. (2003). Substrate-Induced Lipase Gene Expression and Aflatoxin Production *A. parasiticus* and *A. flavus*, *Journal of Applied Microbiology*, 95(6), 1334.
- Yücecan, (1994). Kayısının Beslenmemizdeki Yeri ve Önemi, Standart, Kayısı Özel Sayısı, Mayıs, 61-63.
- Zohri A., Abdel-Gawed M., (2007). *Journal of Basic Microbiology*, Volume 33, Issue 4, Pages 279

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Servet KARAÇINAR
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas, 11/04/1983
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Suşehri Timur Karabal Meslek Yüksekokulu, 58600-Suşehri/Sivas
E-posta Adresi	skaracinar@cumhuriyet.edu.tr

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	İmranlı Çok Programlı Lisesi (İmranlı/Sivas), 2000
Lisans	Atatürk Üniversitesi, 2006
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2009

İş Tecrübesi

Sistem Yemek A.Ş	Sorumlu Yöneticilik, 2006
Cumhuriyet Üniversitesi	Öğretim Görevlisi(Suşehri Meslek Yüksek Okulu), 2008
Avrupa Birliği Proje	Sütten Gelen Lezzet Evlere Bereket Projesi, 2009