

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**KURU İNCİRLERDEKİ AFLATOKSİNLERİN GİDERİMİNDE
ADSORBENTLERİN ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞEYDA ŞENTÜRK

DENİZLİ, AĞUSTOS - 2020

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**



**KURU İNCİRLERDEKİ AFLATOKSİNLERİN GİDERİMİNDE
ADSORBENTLERİN ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞEYDA ŞENTÜRK

DENİZLİ, AĞUSTOS - 2020

Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2019 FEBE 012 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

şeyda şENTÜRK



ÖZET

KURU İNCİRLERDEKİ AFLATOKSİNLERİN GİDERİMİNDE ADSORBENTLERİN ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞEYDA ŞENTÜRK

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. HAKAN KARACA)

DENİZLİ, Ağustos - 2020

Bu tez çalışmasında, ilk olarak aflatoksin kontaminasyonunun incirdeki dağılımını belirlemek amacıyla, UV ışık altında ışımaya veren kuru incirlerin çekirdeksiz kısmında ve çekirdeğinin yağlarında aflatoksin analizleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar kontaminasyonun genellikle meyvenin çekirdeksiz kısmında gerçekleştiğini, ancak incir çekirdeği yağının da 6.9-11.9 ppb düzeyinde toplam aflatoksin ile kontamine olabildiğini göstermiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında incir ekstraktları ve çekirdek yağları çeşitli adsorbentlerin farklı dozlarıyla (%0.1-5.0) muamele edilmiştir. Aflatoksin azaltılmasında en etkili adsorbentlerin incir ekstraktlarında aktif karbon ve bentonit, incir çekirdeği yağında ise; aktif karbon ve pekmez toprağı olduğu belirlenmiştir. Söz konusu uygulamalarla incir ekstraktlarında ve incir çekirdeği yağlarındaki toplam aflatoksin seviyelerinde sırasıyla %90 ve %88'e varan azalmalar gerçekleşmiştir. Adsorbent uygulamaları; incir ekstraktlarının briks değerlerinde herhangi bir değişime neden olmazken, titrasyon asitliği değerlerinde azalmalara ve pH değerlerinde artış ve azalmalara sebep olmuştur. Bazı adsorbent uygulamaları sonucunda incir ekstraktlarının antioksidan aktivite değeri ve toplam fenolik madde içeriğinde sırasıyla %81 ve %45'e varan azalmalar tespit edilmiştir. İncir çekirdeği yağının fizikokimyasal özelliklerinin de adsorbent uygulamalarından önemli ölçüde etkilendiği gözlenmiştir. Özellikle aktif karbon adsorbentinin %5.0 dozunun uygulanması halinde, yağların renk ve antioksidan aktivite değerleri ile toplam fenolik madde ve tokoferol içeriğinde önemli düzeyde azalmalar meydana geldiği tespit edilmiştir. Çalışmanın diğer aşamasında, aflatoksinli kuru incirler 20 gün süreyle etil alkol fermantasyonuna bırakılmıştır. Elde edilen sonuçlar; aflatoksinli incirlerin aflatoksin seviyelerinde, fermantasyonun ilk 5 gününde önemli düzeyde (%65-80) azalmalar gerçekleştiğini göstermiştir. Aflatoksinli incirlerde, aflatoksinsiz incirlere göre etil alkol üretiminin daha hızlı gerçekleştiği; ancak fermantasyonun sonunda iki incir grubunda tespit edilen briks, indirgen şeker ve etil alkol miktarları arasında önemli bir farklılığın olmadığı görülmüştür.

ANAHTAR KELİMELELER: İncir (*Ficus carica*), İncir çekirdeği yağı, Aflatoksin, Aktif karbon, Bentonit, Pekmez toprağı, Polivinilpirolidon, Jelatin

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE EFFICIENCY OF ADSORBENTS IN REMOVAL OF AFLATOXINS IN DRIED FIGS

MSC THESIS

SEYDA SENTURK

**PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
FOOD ENGINEERING**

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. HAKAN KARACA)

DENİZLİ, August 2020

In this thesis, in order to determine the distribution of aflatoxin contamination in the fruit, we conducted aflatoxin analyses in the seedless part and seed oil of dried figs showing fluorescence under UV light. Results showed that the contamination generally occurred in the seedless part, however fig seed oil could also be contaminated with aflatoxins at the level of 6.9-11.9 ppb. In the second part of the study, aqueous extracts of dried fig and fig seed oils were treated with different doses (0.1-5.0%) of various adsorbents. Activated carbon and bentonite were the most effective adsorbents in reducing aflatoxin contents in fig extracts while the highest aflatoxin reductions in fig seed oil were obtained with activated carbon and molasses soil. These treatments resulted in up to 90 and 88% reductions in total aflatoxin levels in fig extracts and fig seed oils, respectively. Adsorbent treatments did not cause any changes in brix values, but resulted in decreases in titratable acidity and decreases/increases in pH values of the extracts. Antioxidant activity and total phenolic content of fig extracts decreased by up to 81 and 45%, respectively, after some treatments. Adsorbent treatments had substantial effects also on the physicochemical characteristics of fig seed oil. Especially, activated carbon treatment at the dose of 5.0% caused significant decreases in color values, antioxidant activity, tocopherols and total phenolic contents of the fig seed oil. In the last part of the study, dried figs contaminated with aflatoxins were fermented for 20 days. Results showed that aflatoxin levels dramatically decreased (65-80%) in the first five days of the fermentation. Alcohol production was faster in aflatoxin-contaminated figs than in uncontaminated ones; however the brix, reducing sugar and ethyl alcohol contents of these two groups were not significantly different at the end of fermentation.

KEYWORDS: Fig (*Ficus carica*), Fig seed oil, Aflatoxin, Activated carbon, Bentonite, Molasses soil, Polyvinylpyrrolidone, Gelatin

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Tezin Amacı	3
1.2 Literatür Özeti	3
1.2.1 İncir.....	3
1.2.1.1 İncirin Kullanım Alanları ve İncir Çekirdeği.....	5
1.2.1.2 İncir Çekirdeği	6
1.2.1.3 İncir Çekirdeği Yağı.....	6
1.2.2 İncirlerin Kurutulması.....	7
1.2.3 Gıda Maddelerinde Küf ve Mikotoksin	9
1.2.4 Aflatoksin.....	10
1.2.4.1 Gıdalardaki Aflatoksin Varlığı ve Yasal Düzenlemeler	13
1.2.4.2 Türkiye’de Aflatoksin Limitleri.....	13
1.2.4.3 Aflatoksinlerin Giderilmesi.....	16
1.2.5 Adsorpsiyon İşlemi ve Adsorbentler	17
1.2.5.1 Adsorbentlerin Gıda Sanayisinde Kullanımı	19
1.2.5.2 Gıdalarda Mikotoksinlerin Adsorpsiyonu.....	20
1.2.5.3 Adsorbentlerin Bağlanma Mekanizmaları	21
2. YÖNTEM.....	28
2.1 Aflatoksinli Kuru İncirlerin Temini ve Temel Özelliklerinin Belirlenmesi.....	28
2.2 Adsorbentlerin ve Diğer Kimyasalların Temini	29
2.3 Kuru İncirlerde Aflatoksin Dağılımının Belirlenmesi.....	29
2.4 İncir Çekirdeklerinden Yağ Eldesi	30
2.5 İncir Ekstraktının Eldesi	31
2.6 Aflatoksin Analizleri	31
2.6.1 İncir Kitlesi ve İncir Ekstraktlarında Aflatoksin Analizleri	31
2.6.2 İncir Çekirdeği Yağında Aflatoksin Analizleri.....	32
2.6.3 Aflatoksinlerin Kromatografik Ayrımı ve Belirlenmesi.....	32
2.6.4 Aflatoksinlerin Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi	34
2.6.5 Aflatoksin Analizlerinde Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırının (LOQ) Belirlenmesi.....	35
2.7 Kuru İncir Ekstraktlarında ve İncir Çekirdeği Yağlarında Adsorpsiyon Denemeleri	36
2.8 Adsorpsiyon Uygulamalarının İncir Ekstraktı ve İncir Çekirdeği Yağı Örneklerinin Bazı Kalite Parametreleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi	38

2.8.1	İncir Ekstraktlarında Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Hesaplanması.....	40
2.8.2	İncir Ekstraktlarında Antioksidan Aktivite Değerinin Hesaplanması.....	41
2.8.3	İncir Çekirdeği Yağında Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Hesaplanması.....	43
2.8.4	İncir Çekirdeği Yağındaki Antioksidan Aktivite Değerinin Hesaplanması.....	43
2.9	İncir Çekirdeği Yağında Tokoferol Analizleri.....	44
2.10	Tokoferol Kalibrasyon Eğrilerinin Oluşturulması.....	45
2.11	İncir Çekirdeği Yağındaki Yağ Asitleri Kompozisyonunun Belirlenmesi.....	46
2.12	Kuru İncirlerin Etil Alkol Üretiminde Kullanılabilirliğinin Belirlenmesi.....	48
2.13	Fermentasyon Sürecinde Örneklerdeki Briks, İndirgen Şeker ve Etil Alkol Miktarlarının Belirlenmesi.....	48
2.14	İstatistiksel Analiz.....	51
3.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	52
3.1	Aflatoksinli Kuru İncirlerin Temel Özellikleri.....	52
3.2	İncir Kütlesi ve Çekirdek Yağında Aflatoksin Dağılımının Belirlenmesi.....	52
3.3	Farklı Adsorbent Uygulamalarının İncir Ekstraktlarından Aflatoksinlerin Uzaklaştırılması Üzerine Etkisi.....	53
3.4	Farklı Adsorbent Uygulamalarının İncir Ekstraktlarının Bazı Kalite Parametreleri Üzerine Etkisi.....	58
3.5	Farklı Adsorbent Uygulamalarının İncir Çekirdeği Yağlarında Aflatoksin Adsorpsiyonu.....	60
3.6	Farklı Adsorbent Uygulamalarının İncir Çekirdeği Yağından Aflatoksinlerin Uzaklaştırılması Üzerine Etkisi.....	64
3.7	Aflatoksinli İncir Ekstraktlarının Etil Alkol Üretiminde Kullanılması.....	71
4.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	76
	KAYNAKLAR.....	79
5.	ÖZGEÇMİŞ.....	96

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1. 1: İşletmelerde kuru incirlerin izlediği proses basamakları	8
Şekil 1. 2: <i>A. flavus</i> ve <i>A. parasiticus</i> 'un elektron mikroskobu altındaki görüntüleri	11
Şekil 1. 3: Aflatoksin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , M ₁ ve M ₂ 'nin kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2. 1: Kullanılan adsorbentler (soldan sağa; pekmez toprağı, jelatin, aktif karbon, PVP ve bentonit)	29
Şekil 2. 2: Yağ eldesinde kullanılan soğuk ekstraksiyon yöntemi.....	30
Şekil 2. 3: Aflatoksin analizlerinde kullanılan HPLC cihazı	33
Şekil 2. 4: Aflatoksin kalibrasyon eğrileri a) Aflatoksin B ₁ için çizilen kalibrasyon eğrisi, b) Aflatoksin B ₂ için çizilen kalibrasyon eğrisi, c) Aflatoksin G ₁ için çizilen kalibrasyon eğrisi, d) Aflatoksin G ₂ için çizilen kalibrasyon eğrisi	35
Şekil 2. 5: Çekirdeksiz incir kitlesi ve incir çekirdeğı	36
Şekil 2. 6: İncir çekirdeğı yağlarının aflatoksin standart çözeltisi ile kontaminasyonu	37
Şekil 2. 7: İncir çekirdeğı yağının 350-800 nm aralığındaki spektrumu.....	39
Şekil 2. 8: İncir ekstraktlarında toplam fenolik madde içeriğinin analizinde kullanılan gallik asit kalibrasyon eğrisi	40
Şekil 2. 9: İncir ekstraktlarında antioksidan aktivite analizinde kullanılan troloks kalibrasyon eğrisi	42
Şekil 2. 10: İncir çekirdeğı yağlarında toplam fenolik madde içeriğı analizinde kullanılan gallik asit standart eğrisi.....	43
Şekil 2. 11: İncir çekirdeğı yağlarında antioksidan aktivite değerinin analizinde kullanılan troloks standart eğrisi	44
Şekil 2. 12: Gama-, delta- ve alfa tokoferol kalibrasyon eğrileri.....	46
Şekil 2. 13: Alkol üretim düzeneğı	49
Şekil 2. 14: Etil alkol miktarının belirlenmesinde kullanılan ebülyometre	50
Şekil 2. 15: Uçar asit analizinde uygulanan prosedür	50
Şekil 3. 1: Farklı adsorbent uygulamalarının incir ekstraktlarındaki aflatoksin düzeyine etkisi, (a) Aflatoksin B ₁ seviyesindeki yüzde azalmalar, (b) Toplam aflatoksin seviyesindeki yüzde azalmalar.....	55
Şekil 3. 2: İncir ekstraktlarının, farklı adsorbentlerle %5.0 oranında muamesi sonrasında tespit edilen aflatoksin azalmasına ait kromatogram ...	58
Şekil 3. 3: Farklı adsorbent uygulamalarının incir çekirdeğı yağlarındaki aflatoksin düzeyine etkisi (a) Aflatoksin B ₁ seviyesindeki yüzde azalmalar, (b) Toplam aflatoksin seviyesindeki yüzde azalmalar..	61
Şekil 3. 4: İncir çekirdeğı yağlarının, farklı adsorbentlerle %5.0 oranında muamelesi sonrasında örneklerde tespit edilen aflatoksin azalmasına ait kromatogram	63
Şekil 3. 5: Aflatoksinli ve aflatoksinsiz incir ekstraktlarının fermantasyon boyunca briks, indirgen şeker ve alkol miktarında meydana gelen değişimler	71
Şekil 3. 6: Alkol üretim basamaklarında aflatoksinin adsorpsiyonu.....	74

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1. 1: Türkiye'nin 2010-2019 yılları arasında gerçekleştirdiği kuru incir üretimi	4
Tablo 1. 2: Dünya genelinde yapılan yaş ve kuru incir ihracatı (milyon \$).....	5
Tablo 1. 3: Türk Gıda Kodeksi tarafından tüketilmeden işleme tutulması gereken gıdalarda kabul edilen aflatoksin limitleri.....	14
Tablo 1. 4: Türk Gıda Kodeksi tarafından gıdalarda kabul edilen aflatoksin limitleri	15
Tablo 1. 5: Türk Gıda Kodeksi tarafından sütlerde ve bebekler için özel üretilen gıdalar kabul edilen aflatoksin limitleri	15
Tablo 1. 6: Atık suların arıtılmasında adsorbent maddelerin kullanımı.....	22
Tablo 1. 7: Mikotoksinlerin gideriminde adsorbentlerin kullanılması.....	23
Tablo 1. 8: Mikroorganizmaların mikotoksin adsorbsiyonu.....	26
Tablo 2. 1: Aflatoksin analizlerinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizlerde kullanılan kromatografi koşulları.....	34
Tablo 2. 2: Tokoferol analizlerinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizlerde kullanılan kromatografi şartları	45
Tablo 2. 3: Yağ asidi kompozisyonu analizlerinin gerçekleştirildiği GC cihazının özellikleri ve analizlerdeki kromatografi şartları	47
Tablo 3. 1: İncir kitlesi ve çekirdek yağlarında tespit edilen aflatoksin B ₁ ve toplam aflatoksin miktarlarının belirlenmesi	53
Tablo 3. 2: Farklı adsorbent uygulamalarının incir ekstraktlarının bazı kalite parametreleri üzerine etkisi	59
Tablo 3. 3: Farklı adsorbent uygulamalarının incir çekirdeği yağının bazı kalite parametreleri üzerine etkisi	66
Tablo 3. 4: Farklı adsorbent uygulamalarının incir çekirdeği yağında bulunan tokoferoller üzerine etkisi.....	68
Tablo 3. 5: Farklı adsorbent uygulamalarının incir çekirdeği yağının yağ asidi kompozisyonu üzerine etkisi.....	70
Tablo 3. 6: Etil alkol fermantasyonu süresince aflatoksinli ve aflatoksinsiz kuru incirlerdeki briks, indirgen şeker, alkol, aflatoksin B ₁ ve toplam aflatoksin seviyelerinin değişimi.....	72

SEMBOL LİSTESİ

kg	:	Kilogram
g	:	Gram
Mg	:	Miligram
µg	:	Mikrogram
L	:	Litre
hL	:	Hektolitre
mL	:	Mililitre
µL	:	Mikrolitre
mM	:	Milimol
M	:	Molar
N	:	Normal
Mm	:	Milimetre
°C	:	Santigrat Derece
kob	:	Koloni Oluşturan Birim
GAE	:	Gallik Asit Eşdeğeri
ppb	:	Milyarda bir
ppm	:	Milyonda bir

ÖNSÖZ

Çalışma konusunun belirlenmesi, planlanması, yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesinde kıymetli fikirleriyle bana yol gösteren, beni yönlendiren, kendimi geliştirmeme yardımcı olan ve kendisiyle çalışmaktan onur duyduğum çok değerli hocam sayın Doç. Dr. Hakan Karaca'ya teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca, değerli fikirleri ile bize yol gösteren Prof. Dr. Fatih Şen hocamıza teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmanın yürütülmesinde gerekli olanakları sağlayan Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanlığı'na, değerli fikirlerini benimle paylaşan saygıdeğer hocalarıma, teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca, tez çalışmamı destekleyen üniversitemizin Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine katkılarından dolayı teşekkür ediyorum. Aflatoksinli kuru incirlerin temininde yardımcı olan Ege İhracatçılar Birliği'ne ve incir çekirdeği yağı temin eden Egesia firmasına teşekkürlerimi sunuyorum.

Son olarak hayatım boyunca benden maddi ve manevi hiçbir desteği esirgemeyen, her daim yanımda olan beni bu günlere getiren annem Cevriye Şentürk, babam Mustafa Şentürk ve ablam Fatmana Şentürk'e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

1. GİRİŞ

İncir (*Ficus carica*) Akdeniz kıyılarında yetişen tipik bir meyvedir. Türkiye İstatistik Kurumu'nun 2015 yılı verilerine göre; ülkemizde toplamda 10.7 milyon adet incir ağacı bulunmakta ve bunlardan 9.7 milyonu meyve vermektedir (Anonim 2018). Ülkemizde İzmir ve Aydın en önemli incir üretim alanlarıdır. Türkiye'de birçok incir çeşidi yetiştirilse de özellikle "Sarılöp" ismi verilen çeşit, üstün özellikleriyle ön plana çıkmaktadır. Bu incir çeşidi; büyüklüğü, tadı, etli yapısı, açık rengi ve yumuşak kabuğu sayesinde kurutulmaya en uygun türlerden biri olarak nitelendirilmektedir (Anonim 2018).

İncir meyvesi ağaçta kendiliğinden kısmen kurur ve bir süre sonra kendiliğinden dökülür. Dökülen bu buruk incirler toplanarak kerevitlere serilir ve burada bir süre daha kurutulmaya devam edilir (Göçmez ve Seferoğlu 2014). Kurutmadaki esas amaç, meyvenin nem içeriğini ve su aktivitesini azaltarak mikrobiyal gelişiminin ve enzimatik faaliyetlerin minimize edilmesidir. Böylece ürünün raf ömrünün uzatılmasıdır (Villabos ve diğ. 2016).

Türkiye'nin ılıman iklim kuşağında yer alması çok çeşitli meyve ve sebzelerin yetiştirilmesine ve ticaretinin yapılmasına olanak sağlamaktadır. Ülkemiz, kuru incir ihracatında dünyada birinci sırada yer almaktadır. Dünya kuru incir ihracatının yaklaşık %65'i Türkiye tarafından yapılmaktadır. Türkiye'yi İran, İspanya, Amerika (ABD) ve Yunanistan takip etmektedir (Anonim 2018).

Önemli ihraç ürünlerimizde (kuru incir, fındık vb.) bazı küf türleri tarafından üretilen ve "mikotoksin" olarak adlandırılan toksik bileşiklerin varlığı söz konusu olabilmektedir. Bu nedenle zaman zaman toplumumuzda sağlık açısından kaygılar ve ihracatımızda ciddi ekonomik sıkıntılar gündeme gelebilmektedir. Bilinen mikotoksinler arasında kontaminasyon sıklığı ve toksisitesiyle en önemli olanları aflatoksinlerdir.

Aflatoksinler genellikle *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus paraciticus* türü küfler tarafından üretilen ikincil metabolitlerdir (Moss 2002). Doğadan birçok

aflatoksin çeşidi izole edilmiş olsa da, aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ çeşitleri gıdalarda bulunma sıklıkları açısından önem taşımaktadır (Karaca ve Nas 2008). *A. paraciticus* türü küfler aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ çeşitlerini üretebilirken, *A. flavus* nadiren aflatoksin G₁ ve G₂ üretmektedir (Wright ve diğ. 2000).

Aflatoksinler, yol açtıkları ekonomik kayıplar ve insan sağlığı üzerindeki muhtemel olumsuz etkileri nedeni ile dikkat çekmektedir. Ülkemizin önemli ihracat ürünlerinden biri olan kuru incirde aflatoksin problemi ile sıklıkla karşılaşmaktadır. Ege İhracatçı Birlikleri (EİB) tarafından “Aflatoksinli Kuru İncirlerin İmhası Projesi” 2000 yılından bu yana devam etmektedir. Proje kapsamında kuru incir firmaları tarafından UV ışık altında ışımaya verdiği için ayrılan kuru incirler işletmelerden toplanmaktadır. Bu kapsamda yılda ortalama 500-600 ton aflatoksinli kuru incir imha edilmektedir. Bu nedenle ciddi ekonomik kayıplar meydana gelmektedir (Anonim^b 2018).

Aflatoksin oluşumunu önlemede, ilk basamak küf gelişimini önlemektir. Küf gelişiminin önlenemediği durumlarda ise toksik etkinin azaltılması ya da toksinin giderilmesine dair yöntemler gündeme gelmektedir. Mikotoksinlerin dekontaminasyonu fiziksel (adsorpsiyon, termal işlemler vb.), kimyasal (asit, alkali, oksidanlar vb. ile muamele) ve biyolojik (fermantasyon, mikrobiyolojik metabolizasyon, enzim atık parçalama vb.) yöntemlerle yapılabilmektedir. Fiziksel dekontaminasyon yöntemlerinden biri olan adsorpsiyon işleminde çeşitli adsorbentler kullanılmaktadır (Filazi ve Avcı 2018, Pankaj ve diğ. 2018).

Yapılan literatür araştırmaları, kontamine kuru incirlerden aflatoksinlerin giderilmesi üzerine bazı çalışmaların bulunduğunu göstermektedir (Bahar ve Altuğ 2009, Karaca ve Nas 2009, Öztekin ve diğ. 2007, Tabata ve diğ. 1994). Fakat kuru incirlerde bulunan aflatoksinlerin adsorbent maddelerle giderilmesi üzerine çok fazla çalışma bulunmadığı tarafımızca tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında, işletmelerde UV ışık altında ışımaya vermesi nedeniyle ayrılan, aflatoksinle kontamine olması muhtemel kuru incirler kullanılmıştır. Gerçekleştirdiğimiz literatür araştırmasında; incirlerde aflatoksinin meyve içerisinde dağılımını ortaya koyan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca aflatoksinli incir ekstraktlarının alkol üretiminde kullanımına yönelik bazı çalışmalar bulunmasına

karşın konunun halen derinlemesine araştırılmasının gerekli olduğu düşünölmektedir.

1.1 Tezin Amacı

Bu tezin temel amacı, aflatoksinle kontamine olduğu gerekçesiyle imha edilmek üzere ayrılan kuru incirlerin yeniden kullanılma potansiyelinin belirlenmesidir. Bu amaçla, aflatoksinli kuru incirlerin çekirdeksiz kısmında ve çekirdek yağında ayrı ayrı aflatoksin analizleri gerçekleştirilmiştir. Kuru incirlerin belirli oranda sulandırılması ile elde edilen incir ekstraktlarına ve incir çekirdeği yağlarına, çeşitli adsorbentler uygulanarak aflatoksin giderimi ve adsorbent uygulamasının söz konusu ürünlerin önemli kalite parametreleri üzerine etkisi incelenmiştir. Ayrıca aflatoksinli incir ekstraktlarının alkol üretiminde kullanılma potansiyelinin belirlenmesi amacıyla, aflatoksinli ve aflatoksinsiz incirler ayrı ayrı alkol fermantasyonuna tabi tutulmuş, fermantasyon sürecinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Bu tez ile, insan sağlığını tehdit eden ve ölkemiz ekonomisinde ciddi kayıplara sebep olan aflatoksinle kontamine olmuş kuru incirlerin ölkemiz ekonomisine kazandırılma potansiyelinin ortaya konması amaçlanmıştır.

1.2 Literatür Özeti

1.2.1 İncir

İncir *Ficus carica* L. Akdeniz kıyılarının tipik bir meyvesi olup, ılıman iklim koşullarında rahat yetişen bir bitkidir. Kış aylarında ılık, yaz aylarında ise; sıcak ve kurak koşulları seven incir bitkisi için yıllık sıcaklık ortalaması 18-20°C olan yerler uygun yetişme ortamlarıdır. Bu iklim kuşağında yer alan Ege Bölgesi'ndeki Büyük Menderes ve Küçük Menderes havzası incir yetiştiriciliği açısından en uygun ekolojik koşullara sahiptir. Türkiye'deki incir üretiminin %80'i bu havzada yapılmaktadır (Anonim 2018, Karaca 2005).

Türkiye, dünyadaki kuru incir üretiminde birinci sıradadır ve üretilen bu kuru incirler yaklaşık yüz ülkeye ihraç edilmektedir. Dünya'daki yaş incir üretiminin %26.9'u ve kuru incir üretiminin %36.4'ü Türkiye tarafından gerçekleştirilmektedir. 2016 yılında, dünya genelinde incir ihracatının (kuru, taze) %62.2'si Türkiye tarafından gerçekleştirilmiştir (Kırıcı 2018).

Ege Bölgesi'nde yaklaşık otuz bin ailenin incir üretimi ile uğraştığı ve bu insanların bölgedeki genel nüfusun %11.04'ünü oluşturduğu bilinmektedir. Bunlara incirlerin hasat edilmesi, işlenmesi ve pazarlanması sırasında çalışan işçi kapasitesi de dahil edildiğinde incir meyvesinin oldukça geniş bir sosyoekonomik etkinliğe sahip olduğu görülmektedir (Karaca 2005).

İncir meyvesi taze ve kuru olarak ihraç edilmesinin yanı sıra farklı ürünlere dönüştürülerek de ihraç edilebilmektedir. Bunlar incir ezmesi, hurda ve kesmedir (Anonim 2018, Kırıcı 2018). Türkiye, Dünya kuru incir ihracatında birinci sırada yer alırken diğer önemli ihracatçı ülkeler arasında İran, İspanya, ABD ve Yunanistan yer almaktadır. Dünyada kuru incir ihracatının %60'tan fazlası Türkiye'den yapılmaktadır (Anonim 2018).

Tablo 1.1'de Türkiye'nin 2010-2019 yılları arasında kuru incir üretim (Anonim 2018) raporları verilmiştir.

Tablo 1. 1: Türkiye'nin 2010-2019 yılları arasında gerçekleştirdiği kuru incir üretimi

Yıl	Miktar (Ton)
2010/11	58.662
2011/12	55.653
2012/13	56.935
2013/14	61.909
2014/15	69.731
2015/16	74.505
2016/17	72.000
2017/18	78.000
2018/2019	80.000

Tablo 1.2'de dünya genelinde yapılan yaş ve kuru incir ihracatı (milyon \$) verilmiştir. Tablo 1.2 incelendiğinde en çok üretimin gerçekleştiği ülkenin Türkiye olduğu görülmektedir.

Söz konusu tablo incelendiğinde taze ve kuru incir ihracatının %62.2'lik kısmının Türkiye tarafından gerçekleştirildiği görülmektedir (Anonim 2018). 2010 ve 2019 yılları arasında dünya genelinde yapılan yaş ve kuru incir ihracatı Tablo 1.2'de verilmiştir (Anonim 2020, Kırıcı 2018).

Tablo 1. 2: Dünya genelinde yapılan yaş ve kuru incir ihracatı (milyon \$)

	2010	2011	2014	2015	2016	2017	2018	2019
Dünya	335.0	340.0	348.9	472.8	451.3	623.1	594.6	585.5
Türkiye	184.7	180.8	196.8	241.5	280.8	298.7	298.7	284.5
ABD	21.6	21.3	24.4	20.6	24.8	16.9	17.5	13.5
Almanya	11.4	17.5	17.3	18.8	20.9	15.6	18.2	17.6
Avusturya	3.9	3.1	5.1	8.1	20.2	22.2	19.1	23.0
İspanya	9.0	10.5	9.9	13.3	17.8	16.9	20.1	21.2
Hollanda	16.1	18.8	19.2	19.4	16.5	23.1	22.8	20.8
Yunanistan	7.6	7.2	10.5	12.6	11.7	15.8	12.6	16.5

1.2.1.1 İncirin Kullanım Alanları ve İncir Çekirdeği

Kuru incir, doğrudan kuru meyve olarak tüketildiği gibi pasta imalatında, tatlı, reçel, bisküvi ve şekerli mamullerin üretiminde ve meyve karışımlarında kullanılmaktadır. İkinci kalitedeki incirler pekmez üretiminde kullanılırken, üçüncü kalitedeki incirler etil alkol üretiminde değerlendirilebilmektedir. Etil alkol üretiminde atık olarak ortaya çıkan incir çekirdekleri boya, kozmetik ve ilaç sanayisinde kullanılmaktadır (Duman ve Yazıcı 2018, Karaca 2005). Ayrıca bu

incir çekirdekleri son yıllarda başlı başına bir ürün olarak gündeme gelen incir çekirdeği yağı üretiminde de kullanılmaktadır.

1.2.1.2 İncir Çekirdeği

Bir incir meyvesinde bulunan çekirdek sayısı, 30-1600 aralığında değişmektedir. Çekirdek boyutları küçük, orta ve büyük olarak gruplandırılmaktadır (Güven ve diğ. 2019). İncir çekirdekleri %5.54-5.64 aralığında nem, %2.99 kül, %14.74-15.07 aralığında protein, %52.62-53.66 aralığında karbonhidrat ve %23.06-23.67 aralığında yağ içermektedir. Ayrıca incir çekirdeklerinin çeşitli mineralleri (Mg, Mn, Zn, Fe, Ca, Cu, Na, K ve P) içerdiği bildirilmektedir (Nakilcioğlu Taş 2019).

1.2.1.3 İncir Çekirdeği Yağı

Değerli bir yağ çeşidi olan incir çekirdeği yağı, işletmelerde hurdalık olarak ayrılan incirler kullanılarak üretilir. İncir çeşitlerine göre, elde edilebilecek yağ oranı değişmektedir. İncir çekirdekleri %89.02-92.9 aralığında doymamış yağ asitleri içerirken %7.10-10.98 aralığında doymuş yağ asitleri içermektedir (Nakilcioğlu Taş 2019).

Duman ve Yazıcı (2018) tarafından yapılan çalışmada, Sarılop cinsi incir çekirdeklerinin yaklaşık olarak %20.54 oranında yağ içerirken, Mor güz cinsi incir çekirdeklerinin yaklaşık %23.53 oranında yağ içerdiği belirlenmiştir. Bir diğer çalışmada ise; incir çekirdeklerinin %30 oranında yağ içerdiği belirtilmektedir (Joseph ve Raj 2011).

İncir çekirdeği yağının yağ asidi kompozisyonunun, %18.99 oleik asit, %33.72 linoleik, %32.95 linolenik, %5.23 palmitik, %2.1 stearik ve %1.05 arşidonik asitten oluştuğu bildirilmiştir (Joseph ve Raj 2011). İncir çekirdeği yağında alfa tokoferol, delta tokoferol ve gama tokoferol bulunmaktadır (Güven ve diğ. 2019).

İncir çekirdeği yağının antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde miktarı sırasıyla %52.54 ve 79.5 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/100 g yağ olarak belirlenmiştir (Güven ve diğ. 2019).

1.2.2 İncirlerin Kurutulması

Gıdaların kurutularak dayandırılması en eski muhafaza yöntemlerinden biridir. İncir kısa süren üretim sezonu ve hassas yapısı nedeniyle genellikle kurutularak tüketilir. Ülkemizde incir sezonu temmuz ayının ortalarında başlayıp ekim ayının sonlarına kadar sürmektedir.

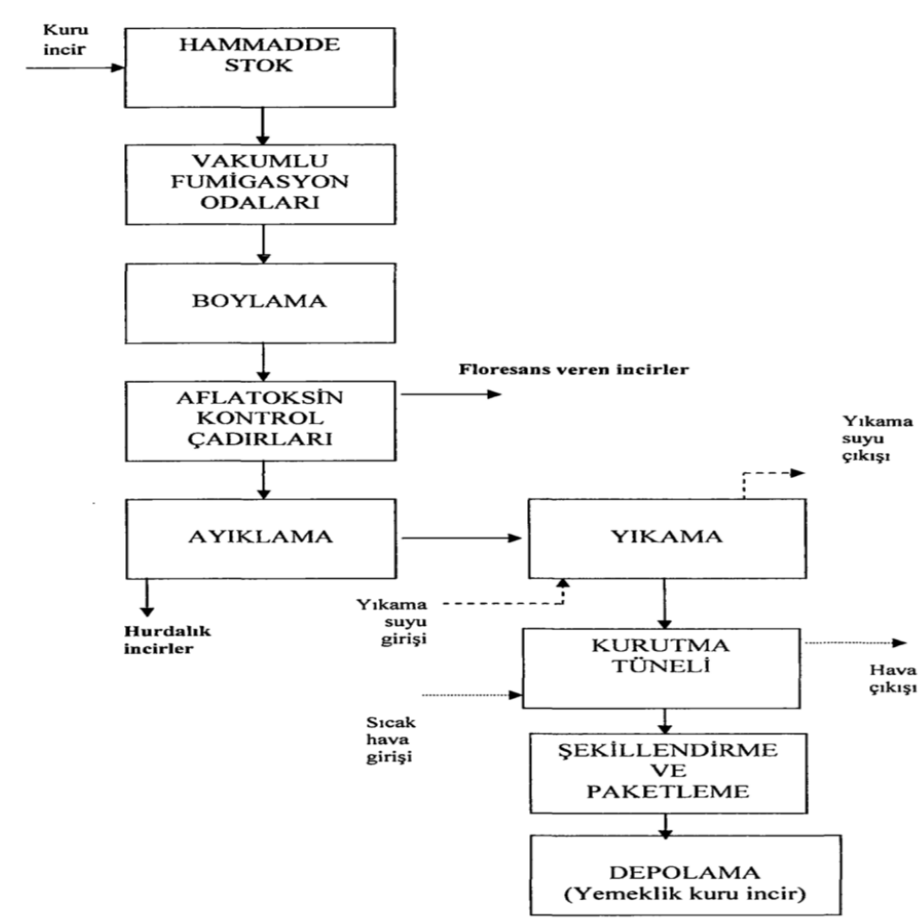
Kurutmalık olarak yetiştirilen incirler arasında az çekirdekli ve ince kabuklu “Sarılop” çeşidi başta yer alırken, “Göklop”, “Karayaprak”, “Hesevi” ve “Halebi” gibi çeşitleri bulunmaktadır (Karaca 2005).

Diğer meyve çeşitlerinden farklı olarak incirler, ağaçta bırakılarak kurutulurlar. Ağaçta tutunamayacak kadar kuruyan ve buruk aşamaya gelen incirler kendiliğinden ağaçtan düşer. İncirler bu aşamada %25-50 aralığında su içermektedir. İncirler daha sonra kerevetlere serilerek su oranı %18-20 olana kadar kurutulmaya devam edilir (Göçmez ve Seferoğlu 2014).

Nem içeriği yeterli seviyeye düşen kuru incirler üreticiler tarafından plastik kasalara doldurularak incir işletmelerine veya tüccarlara getirilir. Gelen kuru incirler, kabul kriterlerine göre satın alınır ve hammadde depolarına transfer edilir. Kuru incirler işletmeye getirildiğinde fumige edilir. Bu işlemin temel amacı incirlerde bulunabilecek zararlıların yumurta, lavra ve erginlerin öldürülmesidir. Konvansiyel üretimde yaygın olarak fosfin (Ecofüme vb.), organik kuru incirlerde ise; derin dondurma veya yüksek CO₂ uygulanmaktadır.

Fumigasyon işleminden sonra kuru incirler işletme içine alınır, doğrudan işlenir veya depolara transfer edilir. Daha sonra boylama makineleri ile incirler boylarına göre sınıflandırılır. Sınıflandırılmış kuru incirler, içerisinde UV (ultraviyole) lambalar bulunan bölüme getirilir ve UV ışık altında parlak yeşilimsi sarı floresans veren meyveler belirlenir. Bu incirler imha edilmek için diğer incir kitlesinden ayrılır. Kontrolden geçerken floresans vermeyen incirler normal

ışıklandırılmış bir ortamda geniş masalara dökülerek çürük, çatlak, hasarlı vb. olanları ayıklar. Fiziksel olarak zarar görmüş ve insan tüketimine uygun olmayan nitelikteki bu incirler “hurdalık” olarak adlandırılmaktadır. İçlerinden hurdalıkları ayrılan kuru incirler yıkama bölümüne gönderilir. Yıkama aşamasında incirlerin üzerinde olabilecek toprak, çamur vb. şeylerden arındırılır. Mevsimsel olarak değişken sıcaklıktaki su ile yıkama yapılır. Olabilecek mikroorganizma gelişimini durdurmak amacıyla yıkama suyuna tuz eklenebilir. Daha sonra incirleri istenen nem oranına getirmek için kurutma işlemi yapılır. Bu amaçla işletmelerde kurutma tünelleri kullanılır. İşlem sonunda kuru incirlerdeki nem miktarının %18-20 civarında olması istenirken, Türk Standartlar Enstitüsü tarafından yayınlanan "Kuru İncir Standardı"na göre kuru inciler %26'dan fazla nem içermemelidir (Anonim 2006, Karaca 2005). Daha sonra ürünlere istenen şekiller ve ambalajlama yapılarak oda sıcaklığında veya soğuk depolarda depolanır (Karaca 2005, Öztekin ve diğ. 2007). İşletmelerde kuru incirlerin izlendiği proses basamakları Şekil 1.1'de verilmiştir (Karaca 2005).



Şekil 1. 1: İşletmelerde kuru incirlerin izlendiği proses basamakları

1.2.3 Gıda Maddelerinde Küf ve Mikotoksin

Doğada yaygın olarak bulunan bir mikroorganizma grubu olan küfler; tıp, ilaç, kozmetik, tarım ve gıda gibi sektörlerde bazı ciddi sorunlara yol açmaktadır (Emenli ve Tiryaki Gündüz 2019). Gıdalarda meydana gelebilecek küf bulaşmalarını önlemek amacıyla çeşitli önlemler alınmasına rağmen, hasat öncesinde, hasat sırasında ve hasat sonrasında ürünlerin işleme, depolama ve satış süresinde ürünlere çeşitli küfler bulaşabilmektedir (Korkmaz ve Tiryaki Gündüz 2018).

Gıdalara bulaşan küfler üretimin başlangıcından gıdanın tüketilmesine kadar geçen zaman içinde, koşullara bağlı olarak gelişebilir ve istenmeyen bozulma ya da değişimlere neden olabilmektedir (Karaca 2005). Küfler gıdaların bozulmasından kaynaklanan ekonomik sorunlara neden olduğu gibi, insan sağlığı açısından zararlıları olan mikotoksinleri de oluşturabilmektedir (Korkmaz ve Tiryaki Gündüz 2018).

Mikotoksinler; *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Claviceps* gibi filamentöz küfler tarafından üretilen düşük moleküler ağırlığa sahip olan ikicil metabolitlerdir. Mikotoksin adı, 1960'lı yılların başlarında o an için nedeni bilinmeyen bir hastalık olan Turkey X hastalığı ile yaşamımıza girmiştir. Turkey X hastalığı 100.000'den fazla hindi ölümüyle sonuçlanmıştır. Hindilerin ölüm nedeninin aflatoksin ile kontamine olmuş yer fıstığı olduğu belirlenmiştir (Wen ve diğ. 2016). Tarımsal ürünlerde, hasat öncesinde, hasat sırasında, nakil, işleme veya depolama aşamalarında fungal gelişimi takiben mikotoksin gelişimi gerçekleşebilir (Erzurum 2001). Mikotoksinleri üreten küfler rüzgar ve hava akımlarıyla taşınabilirler. Mikotoksinlerin kontaminasyon düzeyleri iklim, ürün çeşidi ve coğrafi konuma bağlı olarak farklılık gösterebilir (Girgin ve diğ. 2001).

Mikotoksin üreten küflerin büyümesi, gelişmesi ve mikotoksin üretebilmesi için bazı koşulların uygun olması gerekmektedir. Bunlar nem, sıcaklık, besin, atmosferdeki gaz bileşimi (oksijen ve karbon dioksit), küf türleri, genetik şartlar ve coğrafi konumdur (Girgin ve diğ. 2001). Mikotoksinler, alınan doza ve alan kişinin direncine bağlı olarak, ölümlü sonuçlanan akut etkilere neden olabilir. Ayrıca kanserojen, teratojen, tremorgen, hemorajik, dermatitik, hepatotoksik, nefrotoksik,

immunosupresif, östrojenik, embriyotoksik ve neurotoksik etkileri de görülebilmektedir (Oğuz 2017, Topal ve diğ. 1999).

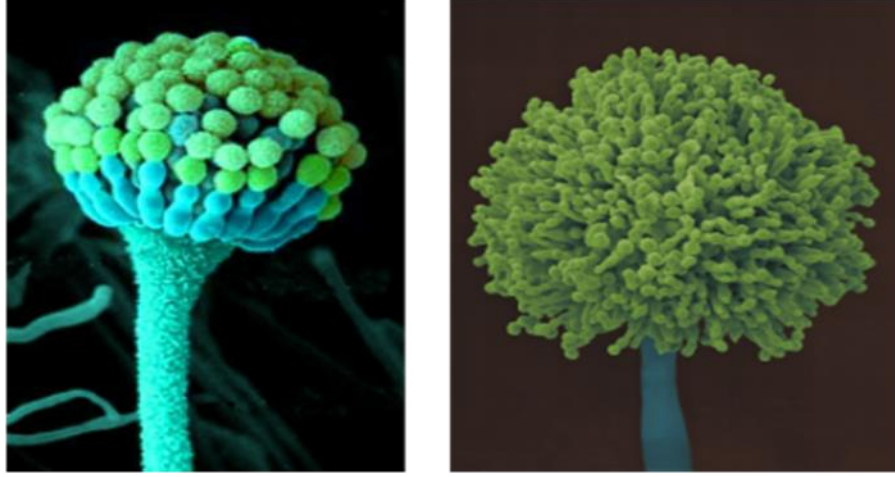
Avrupa Birliği'nde gıdalardaki ve yemlerdeki uygunsuzlukların bildirilmesi ve gerekli önlemlerin alınması için Gıda ve Yemlerde Hızlı Uyarı Sistemi (Rapid Alert System for Food and Feed-RASFF) oluşturulmuştur. Bu sistem sayesinde hızlı bilgi akışı sağlanmaktadır. Her yıl RASFF tarafından yıllık raporlar yayınlanmaktadır.

Çınar ve diğ. (2017) tarafından 2009 ve 2016 yılları arasında yayınlanan RASFF raporları incelenmiş ve ülkemiz tarafından Avrupa'ya ihraç edilen ürünlerdeki temel sorunun aflatoksin düzeyinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu sorun en çok kuru yemiş, tohumlar ve meyve-sebze ürünlerinde görülmüştür. 2009 ile 2016 yılları arasında toplamda 993 adet mikotoksin bildirim raporu edilmiştir. Bu bildirimlerin %98.05'i kuru meyveler ve kuru yemişler için yapılmıştır. Aflatoksin problemi kuru incir, fındık ve ürünlerinde sıklıkla görülmektedir.

2017 yılına ait RASFF raporunda aflatoksin için toplam 416 tane bildirim yapılmıştır. Bu bildirimlerden ise 129 tanesi Türkiye'den ihraç edilen fındık, Antep fıstığı ve kuru incirler için yapılmıştır (RASFF 2017). 2018 yılındaki raporda ise; 380 tane aflatoksin bildirim yapılmış ve bunlardan 98 tanesi Türkiye'den ihraç edilen fındık, Antep fıstığı ve kuru incirler için yapılmıştır (RASFF 2018).

1.2.4 Aflatoksin

Aflatoksinler bazı *Aspergillus* türleri tarafından üretilen ikincil metabolitlerdir. Önemli aflatoksin üreticilerinden olan *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un bazı suşları tarafından üretilmektedir. *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un elektron mikroskobu altındaki görüntüleri Şekil 1.2'de verilmiştir (Anonim 2016).



Şekil 1. 2: *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un elektron mikroskobu altındaki görüntüleri

A. flavus en önemli aflatoksin üreticilerinden biri olup 6-8°C'den 44-45°C'ye kadar geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilse de daha dar bir sıcaklık aralığında (11-37°C) toksin oluşturabilmektedir. Tarlada gelişmekte olan ürünlerde oluşan mekanik hasarların *A. flavus* gelişimine ve aflatoksin oluşumuna sebep olduğu gözlenmiştir (Duman 2002). Kuraklık vb. faktörlerin ürünlerde yarattığı stres aflatoksin oluşumunu çok fazla arttırmaktadır. Bunların yanı sıra böcek zararları ve bu zararlıların neden olduğu bulaşlar, bitkilerde zarara sebep olan diğer fungal hastalıklar, bitkiyi zayıf düşürerek ürünlerde aflatoksin oluşumuna sebep olabilmektedir. Bitkilerin *A. flavus*'a karşı dirençlerinin farklılığı, üründe oluşabilecek aflatoksin düzeyini etkileyebilmektedir (Duman 2002).

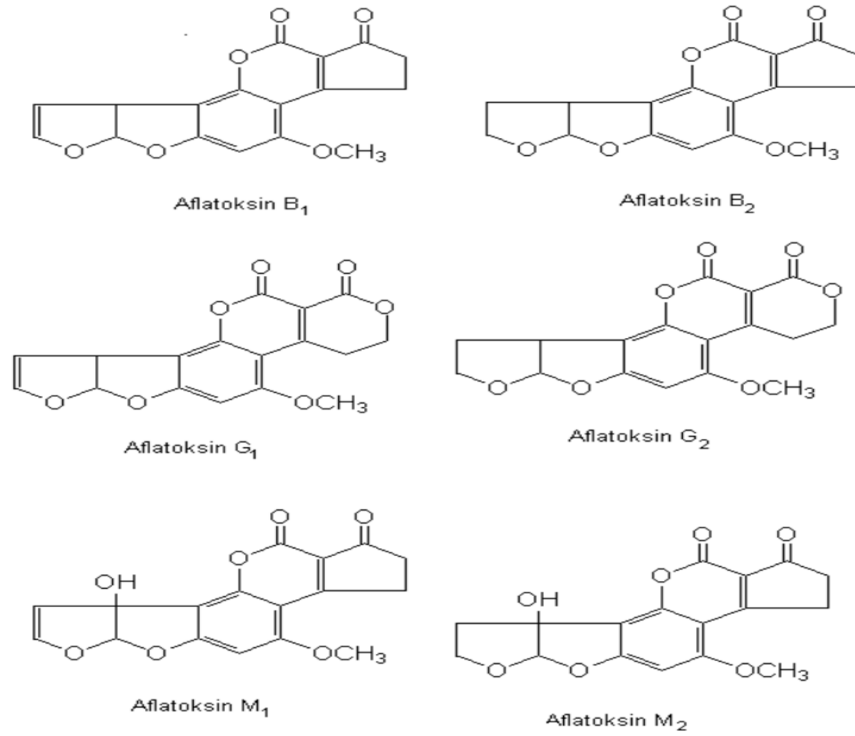
Aflatoksinler, kimyasal yapılarında oksijen bulunan iki difuran halka sistemine sahip mikotoksinlerdir. Aflatoksin çeşitlerinin yüksek dozlarda alınması sonucunda akut, sub-letal dozlarda alınması ise; kronik toksisiteye neden olmaktadır. Düşük dozlarda sürekli alınması, birçok hayvan denemesinde karsinojen etki ile sonuçlanmıştır (Özkaya ve Temiz 2003).

A. flavus'un birçok suşu aflatoksin üretmediği halde, karbonhidratça zengin substratlar üzerinde çok geniş sıcaklık aralığında gelişebilmesi, doğada farklı gıdaların aflatoksinle kontamine olmasına yol açmaktadır. Yer fıstığı, fındık, Antep fıstığı, badem, çam fıstığı, çeşitli cevizler, tahıllar (buğday, çavdar, arpa, yulaf, pirinç), baklagiller (soya fasulyesi, fasulye, bezelye, börülce, mercimek), yağlı tohumlar (pamuk tohumu, ayçekirdeği, susam, kolza tohumları), baharatlar (kırmızı

toz biber, pul biber, karabiber), incir, zeytin ve kakao gibi birçok üründe aflatoksinlerin doğal olarak bulunabildiği belirlenmiştir (Oruç 2005).

Doğada yüksek sıcaklık ve yüksek nemin bulunduğu koşullar, aflatoksin çeşitlerinin oluşmasını teşvik eder. Bu nedenden dolayı mikotoksinler yeryüzündeki tüm ülkelerin ortak sorunu olarak belirtilirken aflatoksinler, tropik ve subtropik kuşakta sorun olarak ortaya çıkmaktadır.

Aflatoksinler, “difurokumarosikloptenenon” ve “difurokumarolakton” gruplarında sınıflandırılmıştır. Doğada bir çok aflatoksin türü bulunmasına rağmen; sadece bazılarının (aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂) gıdalarda sıklıkla bulunabildiği belirlenmiştir. İsimlendirme kromatografik ayırma sonrası, uzun dalga boyu UV ışığı altında aflatoksin B₁ ve B₂'nin mavi, aflatoksin G₁ ve G₂'nin ise yeşil floresans vermesiyle ilişkilidir (Özkaya ve Temiz 2003). M grubu aflatoksinler ise; temelde süt ve süt ürünlerinde bulunabilmeleri nedeni ile "M" harfi ile simgelenmektedir (Aksoy 1990). Adı geçen aflatoksin türlerinin kimyasal yapıları Şekil 1.3'te verilmiştir (Özkaya ve Temiz 2003).



Şekil 1. 3: Aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂ 'nin kimyasal yapısı

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.

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım rgt (Food and Agriculture Organization, FAO)'ne göre dünya üzerinde üretilen gıdaların %25'i büyüme ve depolama sırasında mikotoksinlerce kontamine olmaktadır (Park ve diğ. 1999).

1.2.4.1 Gıdalardaki Aflatoksin Varlığı ve Yasal Düzenlemeler

Aflatoksinler birçok gıda çeşidinde bulunabilirler. Tahıl eşitlerinde (buğday, arpa, yulaf vb.), yerfıstığı, fındık, kakao, kahve, mısır, pirinç gibi gıdalarda bulunabilmesinin yanında kırmızı biber dahil olmak üzere baharatlar, kurutulmuş meyveler ile süt ürünlerinin aflatoksin içerebildiği bildirilmiştir (Gürhayta ve Çağındı 2015, Yentür ve Er 2012).

Aflatoksin miktarı yüksek olan gıdaların uzun süre tüketilmesi halk sağlığı açısından önemli problemlere neden olabilmektedir. Bu sebeple mikotoksinlerin izlenebilirliği önem taşımaktadır. Türkiye'de ve birçok ülkede aflatoksin kontaminasyonu ile ilgili yasal kısıtlamalar bulunmaktadır (Yentür ve Er 2012).

1.2.4.2 Türkiye'de Aflatoksin Limitleri

Türkiye'de aflatoksin limitlerinin denetlenmesi Türk Gıda Kodeksi (TGK) Bulaşanlar Yönetmeliği tarafından belirlenmektedir (Anonim 2011). Yönetmelik'te aflatoksin B₁, toplam aflatoksin (aflatoksin B₁, aflatoksin B₂, aflatoksin G₁ ve aflatoksin G₂) ve aflatoksin M₁ için maksimum limit değerleri verilmektedir.

Limitler belirlenirken, doğrudan tktilecek ürünleri ve çeşitli işlemlerden sonra tktilecek ürünler olarak iki kategori oluşturulmuştur (Anonim 2011).

Doğrudan tüketime sunulmayacak olan gıdalar; bu gıdalar tüketime sunulmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan gıdalardır. Tablo 1.3'te bu tip gıdalar için Türk Gıda Kodeksi tarafından belirlenen aflatoksin limit değerleri verilmiştir (Anonim 2011).

Diğer bir grup ise doğrudan insani tüketimde kullanılan veya doğrudan gıda bileşeni olarak kullanılan gıdalar olarak belirlenmiştir. Tablo 1.4'te bu tip gıdalar için Türk Gıda Kodeksi tarafından belirlenen aflatoksin limitleri verilmiştir (Anonim 2011).

Tablo 1. 3: Türk Gıda Kodeksi tarafından tüketilmeden işleme tutulması gereken gıdalarda kabul edilen aflatoksin limitleri

Ürün Çeşidi	Aflatoksin limitleri (µg/kg)	
	Aflatoksin B ₁	Toplam Aflatoksin
Yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar	8	15
Badem, Antep fıstığı ve kayısı çekirdeği	12	15
Fındık ve Brezilya fıstığı	8	15
Sert kabuklu meyveler	8	15

Bir diğer grup ise, sütlerde ve bebekler için özel üretilen gıdalar için Türk Gıda Kodeksi tarafından belirlenen aflatoksin limitleri Tablo 1.5'te verilmiştir. Tablo 1.5'ten görüldüğü üzere bu ürün gruplarında kabul edilebilir aflatoksin limitleri çok daha düşüktür (Anonim 2011).

Tablo 1. 4: Türk Gıda Kodeksi tarafından gıdalarda kabul edilen aflatoksin limitleri

Ürün Çeşidi	Aflatoksin limitleri (µg/kg)	
	Aflatoksin B ₁	Toplam Aflatoksin
Yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar	5	10
Badem, Antep fıstığı ve kayısı çekirdeği	8	10
Fındık ve Brezilya fıstığı	5	10
Sert kabuklu meyveler	5	10
Kuru meyveler	8	10
Tahıllar ve bunlardan üretilen ürünler	2	4
Mısır ve pirinç	5	10
Kırmızı biber Karabiber Hint cevisi/muskat Zencefil Zerdaçal Bunlardan birkaçını içeren karışım baharatlar	5	10

Tablo 1. 5: Türk Gıda Kodeksi tarafından sütlerde ve bebekler için özel üretilen gıdalar kabul edilen aflatoksin limitleri

Ürün Çeşidi	Aflatoksin limitleri (µg/kg)		
	Aflatoksin B ₁	Toplam Aflatoksin	Aflatoksin M ₁
Süt (çiğ, işlem görmüş, süt bazlı ürünler)	-	-	0.050
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0.10	-	-
Bebek ve devam formüller	-	-	0.025
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0.10	-	0.025

Ülkemizde yemeklik yağlar için herhangi bir aflatoksin limiti yoksa da, FDA'nın susam yağları için belirlediği aflatoksin üst sınırı 20 µg/kg olarak belirlenmiştir (Elzupir ve diğ. 2010). Avrupa Komisyonu'nun (EU, European Commission Regulation) yemeklik yağlar için belirlediği üst limit ise, yine 20 µg/kg'dır. İran standardına göre ise yemeklik yağlarda aflatoksin üst limiti 30 µg/kg olarak belirlenmiştir (Nabizadeh ve diğ. 2018).

1.2.4.3 Aflatoksinlerin Giderilmesi

Gıdalarda mikotoksinlerin kontrolü için izlenebilecek stratejiler temelde 2'ye ayrılabilir. Bunlar, mikotoksin oluşumunun önlenmesi ve oluşan mikotoksinin dekontamine edilmesidir (Pankaj ve diğ. 2018).

Mikotoksin oluşumunun önlenmesi için uygulanabilecek işlemler hasat öncesi ve hasat sonrası olarak ayrılmaktadır. Hasat öncesinde yapılabilecek işlemlerden biri pest (zararlı) kontrolü iken; hasat sonrasında, çeşitlere göre ayırma, uygun depolama ve dekontaminasyon yöntemlerinin kullanılması düşünülebilir.

Dekontaminasyon için uygulanabilecek yöntemler ise fiziksel yöntemler, kimyasal yöntemler ve biyolojik yöntemler olarak ayrılmaktadır. Fiziksel yöntemler; ürünlerin hızlı kurutulması, ayıklanması, UV uygulanması, adsorpsiyon ve termal (pişirme, fırınlama, kavurma vb.) uygulamalarıdır. Kimyasal (asit, alkali, oksidanlar vb. ile muamele) ve biyolojik (fermantasyon, mikrobiyolojik metabolizasyon, enzim atık parçalama vb.) yöntemlerle de dekontaminasyon yapılabilmektedir (Diao ve diğ. 2018, Filazi ve Avcı 2018, Pankaj ve diğ. 2018).

Pek çok farklı gıda maddesinde olduğu gibi incirde de aflatoksin seviyesinin azaltılması amacıyla farklı araştırmacılar tarafından farklı yöntemler denenmiştir.

Karaca ve Nas (2009) tarafından yapılan çalışmada aflatoksinli kuru incirlerden elde edilen ekstraktlara farklı pH (3.1, 3.5, 6.0, 8.0 ve 10.0) değerlerinde, 2 farklı sürede (1-2 saat), farklı sıcaklık (50, 75 ve 98°C) uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Uygulamalar sonucunda en düşük degradasyon pH 6'da görülmüştür. pH 6.0-3.1 aralığında degradasyonun düşerken, pH 6.0-10.0

aralığında degradasyonun yükseldiği görülmüştür. Ayrıca sıcaklık uygulamalarının degradasyon değerini etkilediği bildirilmiştir.

Tabata ve diğ. (1994) aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ içeren örneklere 40°C'de 16 saat boyunca HCl ve H₂SO₄ uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda asit uygulamaları ile aflatoksin B₁ ve aflatoksin G₁'in tamamen degradasyona uğrarken, aflatoksin B₂ ve aflatoksin G₂ seviyelerinde önemli bir değişim olmadığı tespit edilmiştir.

Öztekin ve diğ. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada aflatoksinli kuru incirler üzerine 2 farklı yöntem ile ozon uygulaması yapılmıştır. Kuru incirler ozon fümigasyon uygulama süresi uzadıkça (30, 60 ve 180 dakika) aflatoksin B₁ miktarında (%48.76, %72.42 ve %95.25) meydana gelen azalmalar artmıştır. Diğer ozon uygulaması ise, sulu ortamda yapılmıştır ve ozon uygulanma süresi uzadıkça (30, 60 ve 180 dakika) aflatoksin B₁ miktarında meydana gelen azalmalar artmıştır.

Bahar ve Altuğ (2009) tarafından yapılan çalışmada aflatoksinle kontamine kuru incirler kullanılarak 2 farklı yöntem ile pekmez üretilmiştir. Kuru incirlerde bulunan aflatoksinin %35-68'inin incir pekmezinde transfer edildiği tespit edilmiştir. Pekmez üretim aşamasında uygulanan işlem basamaklarında %5-22 oranında aflatoksin azalmalarına sebep olduğu belirlenmiştir. Pekmez üretimi sonunda ise, aflatoksin miktarında %38-62 oranında azalma meydana geldiği tespit edilmiştir.

1.2.5 Adsorpsiyon İşlemi ve Adsorbentler

Bir maddenin bir ortamda tutulmasına **sorpsiyon** denir. Gaz, buhar, çözünmüş maddelerin ve sıvı moleküllerinin bir katının yüzeyinde tutulması olayına veya konsantrasyon değişimine **adsorpsiyon** denir (Demir ve Yalçın, 2014).

İdeal bir adsorbent çevreye zararsız, ucuz, kolay elde edilebilen, geri kazanılabilir, fonksiyonel grupları içeren, suda çözünmeyen, geniş yüzey alanına sahip ve bilimsel olarak kabul edilmiş olmalıdır. Adsorbent çeşidi, sıcaklık, pH,

nem, tanecik boyutu, polarite, temas hızı ve süresi adsorpsiyon işlemini etkilemektedir.

Adsorbentler doğal ve işlenmiş adsorbentler olmak üzere temel olarak iki gruba ayrılabilirler.

Doğal adsorbentler: Doğrudan kullanılabilen adsorbentlerdir. Çeşitli sebze ve meyvelerin kabuk, çekirdek, sap ve posası, ayrıca tarımsal endüstriyel ve evsel atıkların adsorbent (selüloz, kitosan, ağaç kabuğu, talaş, reçine, çekirdek potası, tahıl artıkları, saman, çay posası, kahve posası, muz kabuğu, üzüm posası), doğal mineralli maddeler (perlit, zeolit, bentonit vb.) olarak kullanılmalarının yanı sıra mikroorganizmalar da adsorbent olarak (mayalar, laktik asit bakterileri, bira tortusu vb.) kullanılabilirler.

Doğal adsorbentlerin avantajları; doğadan kolayca elde edilebilir, düşük maliyetli, atıkların değerlendirilmesi nedeniyle çevre dostudur. Bu avantajlarına karşın tüm ürün çeşidinde kullanılmaya uygun değildir.

İşlenmiş adsorbentler: Doğal adsorbentlere çeşitli işlemlerin uygulanmasıyla üretilebildikleri gibi yapay olarak da üretilebilirler. Örneğin; doğal adsorbentler olarak adlandırılan tarımsal artıklar (sebze ve meyvelerin kabuk, çekirdek, sap ve posası, selüloz, kitosan, ağaç kabuğu, talaş, reçine, çekirdek potası, tahıl artıkları, saman, çay posası, kahve posası, muz kabuğu, üzüm posası ve evsel atıklar) asit ya da sıcaklık uygulamaları ile çeşitli özellikler kazandırılabilir. Aktif karbon, silikajel, aktif alümina, reçineler ve polimerler işlenmiş adsorbentlere örnek olarak verilebilir. Bunların dışında doğal mineralli maddeler (perlit, zeolit, bentonit vb.) farklı bileşenler ile nanokompozit edilerek kullanılabilir.

İşlenmiş adsorbentlerin avantajları; istenen özelliklere sahip adsorbentler üretilebilmektedir. Üretilen adsorbentin doğrudan hedef alınan bileşeni tutabilmesi nedeniyle önemli yere sahiptir. Son yıllarda yapılan çalışmalar sayesinde çevre ile uyumlu adsorbentler üretilmektedir. Avantajlarının yanında üretimleri zor ve maliyetleri yüksektir.

Adsorbentlerin kullanım alanları (Bilgin ve Ercüment 2013):

- Atık sularda bulunan ağır metallerin giderimi
- Tekstil sanayisi (boyar maddelerin giderimi)
- Su kalitesinin yükseltilmesi (sertliğin düşürülmesi, pH, iletkenlik vb.)
- Hava kirliliğine yol açan gazların temizlenmesi (CO, CO₂, H₂S, NH₃, NO_x)
- Petrol sızıntılarının temizlenmesi (aktifleştirilmiş zeolite, genişletilmiş perlit, sodyum karbonat)
- Kapalı mekanlarda kötü kokuların giderilmesi
- Nükleer artıklardaki radyoaktif maddelerin uzaklaştırılması (CS, SR ve RB)
- Gıda sanayisi

1.2.5.1 Adsorbentlerin Gıda Sanayisinde Kullanımı

Adsorbent maddeler farklı amaçlarla uzun yıllardır gıda sektöründe tercih edilmektedir. Adsorbentlerin gıda sanayisinde kullanımlarına dair baz örnekler aşağıda sıralanmıştır.

- Bazı ürünlerde renk stabilitesinin sağlanması ve korunması

Palm yağlarından beta-karotenin giderilmesinde aktifleştirilmiş bentonit kullanılmaktadır (Permana ve diğ. 2018).

Rose şaraplarda bulunan polifenollerin miktarını azaltarak istenen rose şarap rengini stabil hale getirmek için PVPP (polivinilpolipirolidon) adsorbenti kullanılmaktadır (Gil ve diğ. 2017).

Şeker kamışı sularının açık renkli olması istenen bir durumdur. İstenilen renk için şeker kamışı suyuna aktif karbon ve bentonit gibi çeşitli adsorbentler ilave edilmektedir (Lacsameethasana ve diğ. 2012).

- Yağ kalitesinin geliştirilmesi

Balık konservesi (*Sardinella lemuru*) üretiminde elde edilen düşük kaliteli yağların rafinasyonunda bentonit kullanılmaktadır. Çalışmada bentonitin zatk giderme, nötralizasyon ve ağartma açısından yağı daha kaliteli hale getirdiği belirtilmiştir (Nadhiro ve diğ. 2018).

Kızartmada kullanılan ayçiçek yağlarında farklı adsorbentler (CaO, MgO, MgCO₃, magnezyum silikat, aktif karbon, bentonit, doğal pekmez toprağı) kullanılarak kalite özelliklerinin (viskozite, serbest yağ asiti ve renk özelliğı) geliştirilebileceğı belirlenmiştir (Maskan ve Bağcı 2006).

- Bazı ürünlerden bulanıklığın giderilmesinde

Beyaz şaraplarda bulanıklık gidermek amacıyla aktif karbon ve kitosan kullanılmaktadır (Colangelo ve diğ. 2018).

Şeker pancarı melasında bulanıklığı azalmak amacıyla Ca-Na bentonit kullanılmaktadır (Djordjevic ve diğ. 2018).

Yukarıda verilen çalışmalarda görüldüğü üzere adsorbentler daha çok gıda kalitesini geliştirmek amacıyla kullanılmaktadır. Bunun dışında adsorbent maddeler kirleticilerin uzaklaştırılmasında kullanılır.

Sularda doğal olarak bulunan, bulaşan ve sonradan oluşan kirleticilerin (pestisit, ağır metal vb.) giderilmesinde uzun süredir adsorbentler kullanılmaktadır. Atık suların arıtılmasında adsorbent maddelerin kullanımı üzerine yapılan bazı çalışmalara ve sonuçları Tablo 1.6'da özetlenmiştir.

1.2.5.2 Gıdalarda Mikotoksinlerin Adsorpsiyonu

Adsorpsiyon işlemi uzun yıllardır meyve sularından patulini uzaklaştırmak için kullanılmaktadır. Meyve sularında renk değişimlerinin önlenmesi ve berrak meyve suyunun üretilmesi için meyve suyunda yer alan melanoidin ve fenolik maddelerin azalması gerekmektedir. Bu amaçla aktif karbon, bentonit, kazein, iyon değiştirici reçineler ve PVPP (polivinilpolipropilidon) gibi çeşitli adsorbentler kullanılmaktadır (Nasehi ve diğ. 2012).

Sanayide aktif karbon ve makro gözenekli reçineler bu işlem için yaygın olarak tercih edilmektedir. Bunların dışında inaktif ve inaktif olmayan mikroorganizmaların patulini adsorbe ettiğini bildiren çalışmalar vardır (Diao ve diğ. 2018).

Mikotoksinlerin giderilmesinde adsorbent maddelerin kullanımı üzerine yapılan bazı çalışmalar ve sonuçları Tablo 1.7'de özetlenmiştir. Mikotoksinlerin mikroorganizmalar tarafından adsorbe edilmesi üzerine de birçok çalışma bulunmaktadır. Çalışmalarda kullanılan mikroorganizmalardan bazıları laktik asit bakterileri (*Lactobacillus bulgaricus*, *L. rhamnosus*, *L. debrueckii*), *Bacillus licheniformes*, *Streptomyces cacaoi*, *Rodococcus eritropoli*, *Bifidobacterium lactis* olarak bildirilmiştir (Ismail ve diğ. 2018). Mikroorganizmaların adsorbent olarak kullanılması üzerine yapılan bazı çalışmalar ve sonuçları Tablo 1.8'de özetlenmiştir.

1.2.5.3 Adsorbentlerin Bağlanma Mekanizmaları

Mikroorganizmaların mikotoksinleri (okratoksin A, aflatoksin B₁ ve zearalenon) adsorbe etme yeteneklerinin, hücre duvarlarında yer alan ekzopolisakkaritlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Heperkan 2006, Taheur ve diğ. 2017). Cecchini ve diğ. (2018)'e göre diğer bir bağlanma mekanizması, iyonik bağ veya esterifikasyon reaksiyonu oluşturmalarıdır (karboksil grubu (+) ile antosiyoninlerin fenol (-) grubu).

Aflatoksin molekülleri kısmi pozitif davranır. Kimyasal bir ajan olan montmorilonitin yüzeyinde ise negatif yükler bulunur. Bu sebeple montmorilonit aflatoksini tutar veya aflatoksin montmorilonitin ara katmanlarında hidrojen bağı ile tutulur (Magnoli ve diğ. 2008, Soufani ve diğ. 2016). Wilson ve diğ. (2006)'ya göre aktif karbonların titre edilebilir fonksiyonel gruplarının (yüzeyi negatif yüklü) sayısı artıkça metal iyonlarını adsorbe etme yeteneğinin arttığı belirlenmiştir.

Mikotoksin probleminin çözümünde en etkili yol, küf bulaşmasını ve toksin oluşmasını önlemektir. Mikotoksin oluşumunun önlenemediği durumlarda ise toksik etkinin azaltılması ya da toksinin giderilmesi önemlidir. Adsorpsiyon işlemi ile mikotoksinlerin giderilmesi amaçlanmaktadır.

Tablo 1. 6: Atık suların arıtılmasında adsorbent maddelerin kullanımı

Adsorbent	Kirletici madde	Uygulama	Sonuç	Referans
Pirina	Pb(II) Zn(II) Ni(II) Cu(II)	Pirina kullanılarak adsorpsiyon kolonu oluşturulmuş ve adsorpsiyon verimi değerlendirilmiştir.	-Atık sularda bulunan ağır metallerin gideriminde AP kolonu %98 verim göstermiştir. - Pirina ucuz bir adsorbent olarak kullanılabilir.	Gök ve Mesutoğlu 2018
Perlit	Pb	Pb (II) gideriminde pH (2-8), temas süresi (20-175 dakika) ve adsorbent dozunun (10-100 g/L) etkisi değerlendirilmiştir.	- %100 toksin giderimi pH 5'te gözlenmiştir. - Adsorbent dozu arttıkça toksin giderme verimi önce artmış daha sonra sabitlenmiştir (max:50 g/L) -Temas süresi arttıkça toksin giderme verimi önce artmış daha sonra sabitlenmiştir (max:65 dakika)	Temel Aydın 2018

Tablo 1. 7: Mikotoksinlerin gideriminde adsorbentlerin kullanılması

Adsorbent	Toksin çeşidi	Uygulama	Sonuç	Referans																		
HSCAS Montmorillonit (M)	Aflatoksin B ₁ Fumonisin B ₁	1-Model sistemde kontamine edilen su örneklerine %0.5-4 (w/v) oranında adsorbent eklenmiştir. 2- Malt ekstraktları aflatoksin B ₁ ve fumonisin B ₁ ile kontamine edilmiştir.	<p>1-Model sistemde</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>AFB₁</th> <th>FB₁</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>HSCAS</td> <td>%95-99</td> <td>%85-92</td> </tr> <tr> <td>M</td> <td>%95-99</td> <td>%78-92</td> </tr> </tbody> </table> <p>2-Malt ekstraktlarına %0.5 (w/v)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>AFB₁</th> <th>FB₁</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>HSCAS</td> <td>%98</td> <td>%88-91</td> </tr> <tr> <td>M</td> <td>%98</td> <td>%88-92</td> </tr> </tbody> </table> <p>-HSCAS ve M içecek ve bira endüstrisinde kullanılabilir. -M ucuz ve etkili kullanım alanına sahiptir.</p>		AFB ₁	FB ₁	HSCAS	%95-99	%85-92	M	%95-99	%78-92		AFB ₁	FB ₁	HSCAS	%98	%88-91	M	%98	%88-92	Aly ve diğ. 2004
	AFB ₁	FB ₁																				
HSCAS	%95-99	%85-92																				
M	%95-99	%78-92																				
	AFB ₁	FB ₁																				
HSCAS	%98	%88-91																				
M	%98	%88-92																				

Tablo 1.7: Mikotoksinlerin gideriminde adsorbentlerin kullanılması (devam)

Adsorbent	Toksin çeşidi	Uygulama	Sonuç	Referans
Kaolin Bentonit	Aflatoksin M ₁	Çiğ süt örneklerine adsorbentler farklı oranlarda eklenmiş (1-4 g) ve 24 saat süreyle çalkalanmıştır.	<p>-Bentonitin aflatoksin M₁ adsorpsiyonu kaolinden daha yüksektir.</p> <p>-Kil/süt oranı artıkça daha güçlü etki göstermiştir.</p> <p>-Başlangıçta %3.1 olan süt yağı bentonit ve kaolin uygulaması sonrası sırasıyla %2.4 ve %2.7'ye düşmüştür.</p> <p>- Süt proteini başlangıçta %3 iken bentonit ve kaolin uygulaması sonrasında sırasıyla %1.8 ve %2.4'e kadar azalmıştır.</p> <p>-Bu bileşenleri miktarındaki azalmalar, laktozun kuru maddedeki % oranının göreceli olarak artmasına neden olmuştur.</p>	Carraro ve diğ. 2014

Tablo 1.7: Mikotoksinlerin gideriminde adsorbentlerin kullanılması (devam)

Adsorbent	Toksin çeşidi	Uygulama	Sonuç	Referans
Aktif karbon Bentonit Talk Kum taşı Kalsiyum sülfat	Zearalenon	2 farklı pH (3 ve 7.3) değerinde farklı miktardaki adsorbentin (%0.1-1) zearalenonu adsorbe etme kapasitesi değerlendirilmiştir	-Kum taşı uygulanan deney şartlarında zearalenone adsorbe etmemiştir. -Talk ve kalsiyum sülfat adsorbent miktarına göre farklı sonuçlar göstermiştir. Talk düşük konsantrasyonda daha verimlidir. -Aktif karbon ve bentonit iki pH değerinde de etki göstermiştir. -Bentonit nötral pH değerinde daha etkili iken aktif karbon iki pH değerinde de zearalenonu tamamen ortadan kaldırmıştır.	Bueno ve diğ. 2005
Manyetik kitosan (Fe ₃ O ₄)	Patulin	Farklı oranlarda manyetik kitosan içeren 3 adsorbent kullanılmıştır. Manyetik kitosan (1:2), manyetik kitosan (1:1) ve manyetik kitosan (2:1) ilave edilen kivi suları 3 saat adsorpsiyon işlemine tabi tutulmuştur.	-Manyetik kitosan (1:2), manyetik kitosan (1:1) ve manyetik kitosan (2:1) adsorbentleri sırasıyla %96, %89 ve %79 patulin adsorpsiyonu sağlamıştır. -Toksinin adsorbentlerden geri alımında ise %99.6 ila %95.4 aralığında geri alınabildiği tespit edilmiştir.	Luo ve diğ. 2016

Tablo 1. 8: Mikroorganizmaların mikotoksin adsorpsiyonu

Adsorbent	Toksin çeşidi	Uygulama	Sonuç	Referanslar
Kefir taneleri	Aflatoksin B ₁ Okrotoksin A Zearalenon	Kefirden izole edilen bakterilerin mide-bağırsak sisteminde aflatoksin B ₁ , okrotoksin A ve zearalenon giderimine etkisi değerlendirilmiştir.	-Aflatoksin B ₁ 'in %82, okrotoksin A'nın %94, zearalenon ise %100 adsorbe edildiği gözlenmiştir. -Bazı bakteri suşlarının sınırlı adsorpsiyona sahip olduğu belirlenmiştir. -İzole edilen suşların mikotoksin adsorbenti olarak süt ve yem endüstrisinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.	Taheur ve diğ. 2017
Sekiz farklı maya	Aflatoksin B ₁ Okrotoksin A Zearalenon	Mikotoksin içeren deney çözeltilerine 8 farklı maya örneği eklenerek adsorpsiyon kapasitesi değerlendirilmiştir.	-En iyi adsorbent fırından temin edilen maya hücre duvarı olmuştur. -Zearalenonun %68, aflatoksin B ₁ 'in %29, okrotoksin A'nın ise %62 oranında adsorbe edilmiştir. -Adsorpsiyon kapasitesi maya tipi ve mikotoksin çeşidinden etkilenmektedir.	Joannis-cassan ve diğ. 2011

Tablo 1.8: Mikroorganizmaların mikotoksin adsorpsiyonu (devam)

Adsorbent	Toksin çeşidi	Uygulama	Sonuç	Referanslar																							
<i>E. faecium</i> (M74-EF031)	Aflatoksin B ₁ Patulin	Çalışmada <i>E. faecium</i> (M74-EF031) türlerinin canlı (C) ve ölü (Ö) hücreleri kullanılmıştır. 1, 5, 24 ve 48 saatlik uygulama yapılmıştır.	Çalışma sonucunda <i>E. faecium</i> türleri tarafından sağlanan adsorpsiyon değerleri tabloda verilmiştir. <table border="1"><thead><tr><th></th><th colspan="2">AFB₁</th><th colspan="2">Patulin</th></tr></thead><tbody><tr><td rowspan="2">M74</td><td>C</td><td>%22.0-30.5</td><td>C</td><td>%15.8-41.6</td></tr><tr><td>Ö</td><td>%19.3-29.3</td><td>Ö</td><td>%16.1-38.6</td></tr><tr><td rowspan="2">EF031</td><td>C</td><td>%23.4-33.7</td><td>C</td><td>%21.1-45.3</td></tr><tr><td>Ö</td><td>%27.2-37.5</td><td>Ö</td><td>%19.5-36.4</td></tr></tbody></table>		AFB ₁		Patulin		M74	C	%22.0-30.5	C	%15.8-41.6	Ö	%19.3-29.3	Ö	%16.1-38.6	EF031	C	%23.4-33.7	C	%21.1-45.3	Ö	%27.2-37.5	Ö	%19.5-36.4	Topçu ve diğ. 2010
	AFB ₁		Patulin																								
M74	C	%22.0-30.5	C	%15.8-41.6																							
	Ö	%19.3-29.3	Ö	%16.1-38.6																							
EF031	C	%23.4-33.7	C	%21.1-45.3																							
	Ö	%27.2-37.5	Ö	%19.5-36.4																							

2. YÖNTEM

2.1 Aflatoksinli Kuru İncirlerin Temini ve Temel Özelliklerinin Belirlenmesi

Tez çalışmasında kullanılan materyal incir işletmelerinde UV ışık altında yapılan inceleme sonunda floresans ışımaya verdiği gerekçesiyle ayrılan muhtemel aflatoksinli kuru incirlerdir. Bu incirler çeşitli incir işletmelerinden Ege İhracatçılar Birliği (EİB) tarafından toplanmıştır. Tez çalışmasında, 2018 yılına ait 21 kg ürün tarafımıza sağlanmıştır. Bu kuru incirler 7'şer kg'lık 3 gruba ayrılmış ve deneylerde kullanılana kadar +4°C'de saklanmıştır.

Deneylerde kullanılacak kuru incir örneklerinin başlangıçtaki mikrobiyolojik durumunun belirlemek için toplam aerofilik mezofilik bakteri (TAMB), maya-küf ve *Enterobacteriaceae* sayımları yapılmıştır. TAMB sayısını belirlemek için plate count agar (PCA) bulunan petriler, maya-küf sayısını belirlemek için dichloran-rose bengal chloramphenicol (DRBC) ve *Enterobacteriaceae* sayımını belirlemek için violet red bile dextrose (VRBD) besiyeri bulunan petrilere ekim yapılmıştır (Halkman 2005). Ekim yapılan PCA petrileri 35-37°C'de 24-48 saat, DRBC petrileri 25°C 'de 3-5 gün, VRBD besiyeri bulunan petriler ise 35-37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Mikrobiyolojik analizler 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

Toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite değerlerinin sonuçları kuru ağırlık üzerinden verilmiştir. Bunun için örneklerde nem tayini gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 5 g kuru incir tartılarak küçük parçalara ayrılmıştır. Bu incirler sabit tartıma ulaşana kadar (yaklaşık 24 saat) 105±5°C'ye ayarlanan etüvde (Memmert UN55 etüv, Schwabach, Almanya) bekletilmiştir (Gornicki ve Kaleta 2007).

Kuru incirlerin briks değerinin belirlenmesi amacıyla 10 kuru incir Waring blender yardımı ile düşük hızda 1 dakika parçalanmıştır. Parçalanmış kuru incirler bir balon jöjeye alınarak, 100 mL çizgisine kadar saf su ilave edilmiştir. Elde edilen bu örneğin briks değeri refraktometre (2WAJ ABBE, Optika, İtalya) yardımı ile

ölçülmüştür. Elde edilen briks değeri 10 ile çarpılarak kuru incirlerin briks değeri belirlenmiştir. Nem ve briks analizleri 3 paralelli yapılmıştır.

2.2 Adsorbentlerin ve Diğer Kimyasalların Temini

Çalışmada kullanılacak adsorbentler pekmez toprağı (Ödemiş Pazarı, İzmir, Türkiye), aktif karbon (Akticol FA, Erbslöh, Geisenheim, Almanya), polivinilpirolidon (PVP, Erbslöh, Geisenheim, Almanya), bentonit (Aktivit, Erbslöh, Geisenheim, Almanya) ve jelatin (gel strength 300, Type A, Sigma-Aldrich, ABD) olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan adsorbentlere ait görsel Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2. 1: Kullanılan adsorbentler (soldan sağa; pekmez toprağı, jelatin, aktif karbon, PVP ve bentonit)

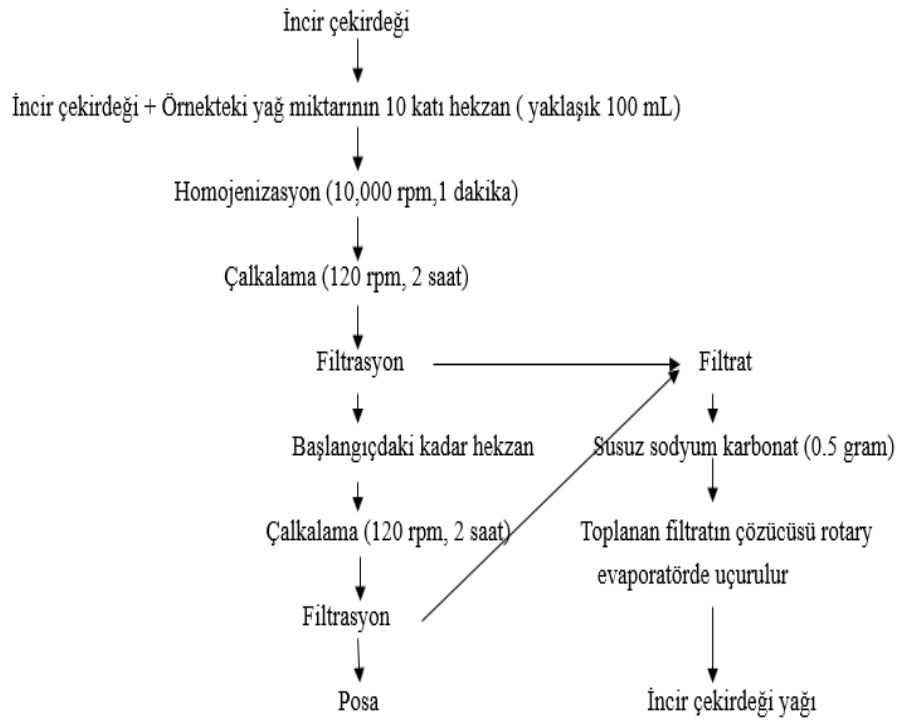
2.3 Kuru İncirlerde Aflatoksin Dağılımının Belirlenmesi

EİB'den temin edilen aflatoksinli kuru incirler yaklaşık 7 kg'lık 3 farklı gruba ayrılmıştır. Her bir gruptaki kuru incir örnekleri bir bıçak yardımıyla küçük parçalara ayrılmıştır. Farklı gruplara ait parçalanmış kuru incir örnekleri (250 g) Waring blender haznesine ayrı ayrı aktarılmış ve 150'şer mL saf su ilave edilmiştir. Blender 1 dakika düşük devirde çalıştırılmıştır. Parçalanmış incirler bir kaba filtre kağıdı üzerine aktarılmış ve bir spatül yardımı ile dağıtılmıştır. İncir çekirdekleri filtre kağıdı üzerindeki kitleden bir pens yardımı ile tek tek ayrılmıştır. Çekirdeğinden arındırılan incir kitlesi aflatoksin analizleri yapılana kadar +4°C'de saklanmıştır. Ayrılan incir

çekirdekleri saf su ile 5 kez yıkanmış ve üzerinde kalan meyve partiküllerinden arındırılmıştır. Temizlenen incir çekirdekleri temiz bir kaba, filtre kağıdı üzerine serilerek oda koşullarında 24 saat kurumaya bırakılmıştır. Analizler 3 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

2.4 İncir Çekirdeklerinden Yağ Eldesi

Temizlenip kurutulmuş incir çekirdekleri incir çekirdeği yağı eldesinde kullanılmıştır. Yağ eldesinde Bakkalbaşı (2009) tarafından tavsiye edilen soğuk ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Yağ eldesi 3 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Yöntem Şekil 2.2’de gösterilen basamakları içermektedir (Bakkalbaşı 2009).



Şekil 2. 2: Yağ eldesinde kullanılan soğuk ekstraksiyon yöntemi

2.5 İncir Ekstraktının Eldesi

Kuru incir örnekleri 1'e 1.75 oranında saf suyla yüksek devirli bir karıştırıcıda (Waring blender) homojen hale getirilmiştir. Bu örnekler 4 katlı tülbent yardımı ile süzülmüştür. Süzüntü daha sonra kaba filtre kağıdından süzülmüştür. Gerekli örnek miktarları santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Bu işlemlerin ardından elde edilen süzüntünün briks değerinin incir meyvesinin taze halinin briks değerine yakın (yaklaşık olarak 22±2 briks) olduğu tarafımızdan yapılan ölçümler ile belirlenmiştir.

2.6 Aflatoksin Analizleri

2.6.1 İncir Kitlesi ve İncir Ekstraktlarında Aflatoksin Analizleri

AOAC 999.07 metodu çekirdeksiz incir kitlelerinde ve incir ekstraktlarında aflatoksin analizi amacıyla tarafımızdan modifiye edilerek kullanılmıştır (Stroka ve diğ. 2000). Yaklaşık 20 g örnek Waring blenderın haznesine alınmış ve üzerine 2.5 g sodyum klorür, 7.5 mL saf su ve 70 mL metanol ilave edilmiştir. Blender 1 dakika düşük devirde çalıştırılmıştır. Daha sonra blender içeriği kaba filtre kağıdından süzülmüştür. Elde edilen bu süzüntüden 5 mL alınıp 10 mL fosfat tampon çözeltisi (phosphate buffer solution=PBS, pH 7.4) ile seyreltilmiştir. PBS; 8 g NaCl, 0.2 g KCl, 0.2 g monopotasyum fosfat ve 1.45 g disodyum hidrojen dihidratın 1000 mL saf su içerisinde çözündürülmesiyle hazırlanmıştır.

PBS ile seyreltilmiş örnek (incir kitlesi veya incir ekstraktı) (15 mL) doğal akış hızında (yaklaşık 3 mL/dakika) immuno affinite kolondan (IAK; Aflatest, Vicam Watertown, MA, ABD) geçirilmiştir. Örneğin, geçirilmesinin ardından kolondan birkaç defa hava geçirilmiştir. Kolon iki kez 10 mL saf su geçirilerek yıkanmış ve ardından tekrar birkaç defa hava geçirilmiştir. Kolonda tutulmuş olan aflatoksinler 1 mL Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) HPLC saflığında metanol (CH₃OH, 106007, Merck, ABD) ile elüe edilerek vialer alınmış ve üzerine 1 mL saf su eklenerek seyreltilmiştir. Her bir örnek için analiz 2 paralelli olarak yapılmıştır. Hazırlanan her örnekten HPLC cihazına 2 enjeksiyon yapılmıştır.

2.6.2 İncir Çekirdeği Yağında Aflatoksin Analizleri

Yağlarda aflatoksin miktarının belirlenmesinde Bao ve diğ. (2012) tarafından uygulanan yöntem, tarafımızdan modifiye edilerek incir çekirdeği yağlarında aflatoksin analizi amacıyla kullanılmıştır.

Yöntem özetle şu basamakları içermektedir: Polipropilen bir santrifüj tüpüne 5 g yağ örneğinden, 1 g sodyum klorür (NaCl; 31434, Sigma-Aldrich, ABD) ve 25 mL çözücü (metanol:su 55:45) konmuştur. Hazırlanan bu karışım orbital bir çalkalayıcıda 200 rpm'de 20 dakika çalkalanmıştır. Çalkalanan karışım daha sonra 7000 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Santrifüj işlemi sonrasında toplanan yağlı kısım pipet ile atılmıştır. Santrifüj tüpünün alt kısmında kalan metanollü kısım bir Whatman filtre kağıdından süzülmüştür. Boş bir santrifüj tüpüne bu süzüntüden 15 mL alınıp, üzerine 30 mL saf su ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu karışımın 30 mL'si IAK'tan geçirilmiştir.

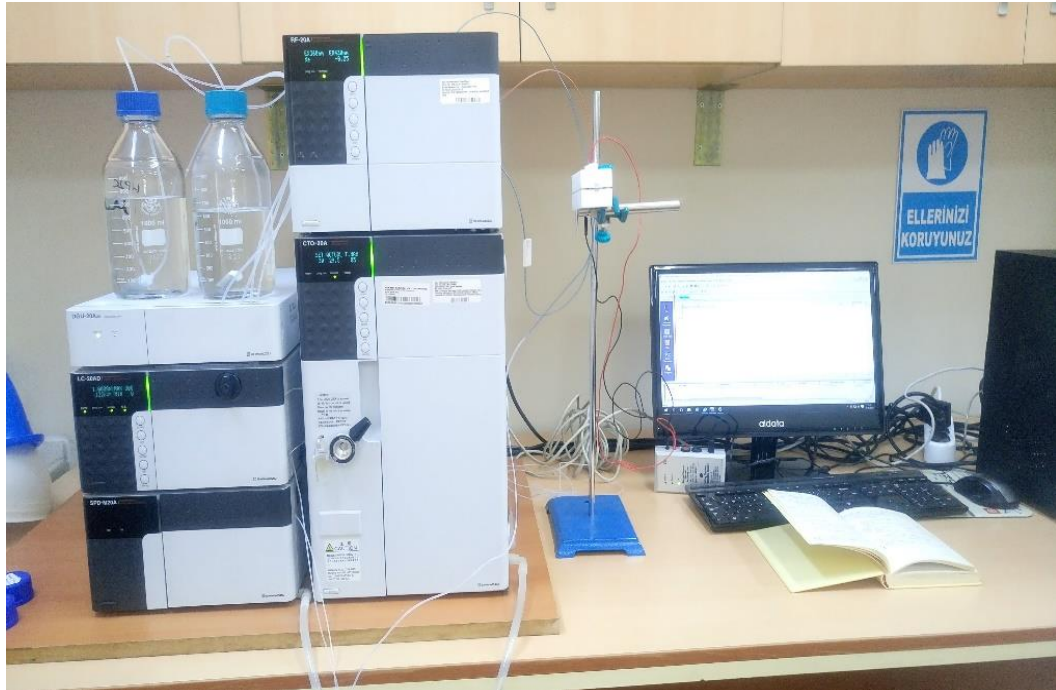
Örneğin geçirilmesinin ardından kolondan birkaç defa hava geçirilmiştir. Kolon içerisinden 10 mL metanol:su (1:10) geçirilerek yıkanmış ve ardından tekrar birkaç defa hava geçirilmiştir. Kolonda tutulmuş olan aflatoksinler 2 defa 0.6 mL HPLC metanol geçirilerek 2 mL' lik balon jöjeye elüe edilmiştir. Balon jöje çizgisine kadar saf su ile tamamlanmıştır.

Her bir örnek için analiz 2 paralelli olarak yapılmıştır. Hazırlanan her örnekten HPLC cihazına 2 enjeksiyon yapılmıştır.

2.6.3 Aflatoksinlerin Kromatografik Ayrımı ve Belirlenmesi

Aflatoksinlerin belirlenmesinde: HPLC cihazı (Shimadzu LC-20AD, Kyoto, Japonya) ve buna bağlı çalışan floresans dedektörden (Shimadzu RF-20A, Kyoto, Japonya) yararlanılmıştır. Her bir aflatoksinin (aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂) örnekteki miktarı, kolon sonrası gerçekleştirilen türevlendirme ve floresans dedektörü yardımıyla ayrı ayrı belirlenmiştir. Floresans dedektörde kullanılan tahrik ve yayım dalga boyları sırasıyla 360 ve 430 nm'dir (Karaca ve Nas 2008).

Aflatoksin analizlerinde kullanılan HPLC cihazı Şekil 2.3'te verilmiştir. Analizde aflatoksinlerin dedektör tarafından kolayca belirlenebilmesi için türevlendirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Türevlendirme işlemi HPLC kolonu ile floresans dedektör arasına yerleştirilen ek bir hücre (Coring Cell, CC3200130) ile gerçekleştirilmiştir. Bu hücrede elektrokimyasal olarak üretilen brom ile aflatoksin B₁ ve G₁'den daha yüksek floresans ışımaya gösteren B_{2a} ve G_{2a}'ya dönüştürülmektedir. Türevlendirme işleminin gerçekleştirilebilmesi için kullanılan mobil faza potasyum bromür (KBr; 02110, Sigma-Aldrich, ABD) ve nitrik asit (HNO₃; 100443, 65 %, Merck, ABD) ilave edilmiştir.



Şekil 2. 3: Aflatoksin analizlerinde kullanılan HPLC cihazı

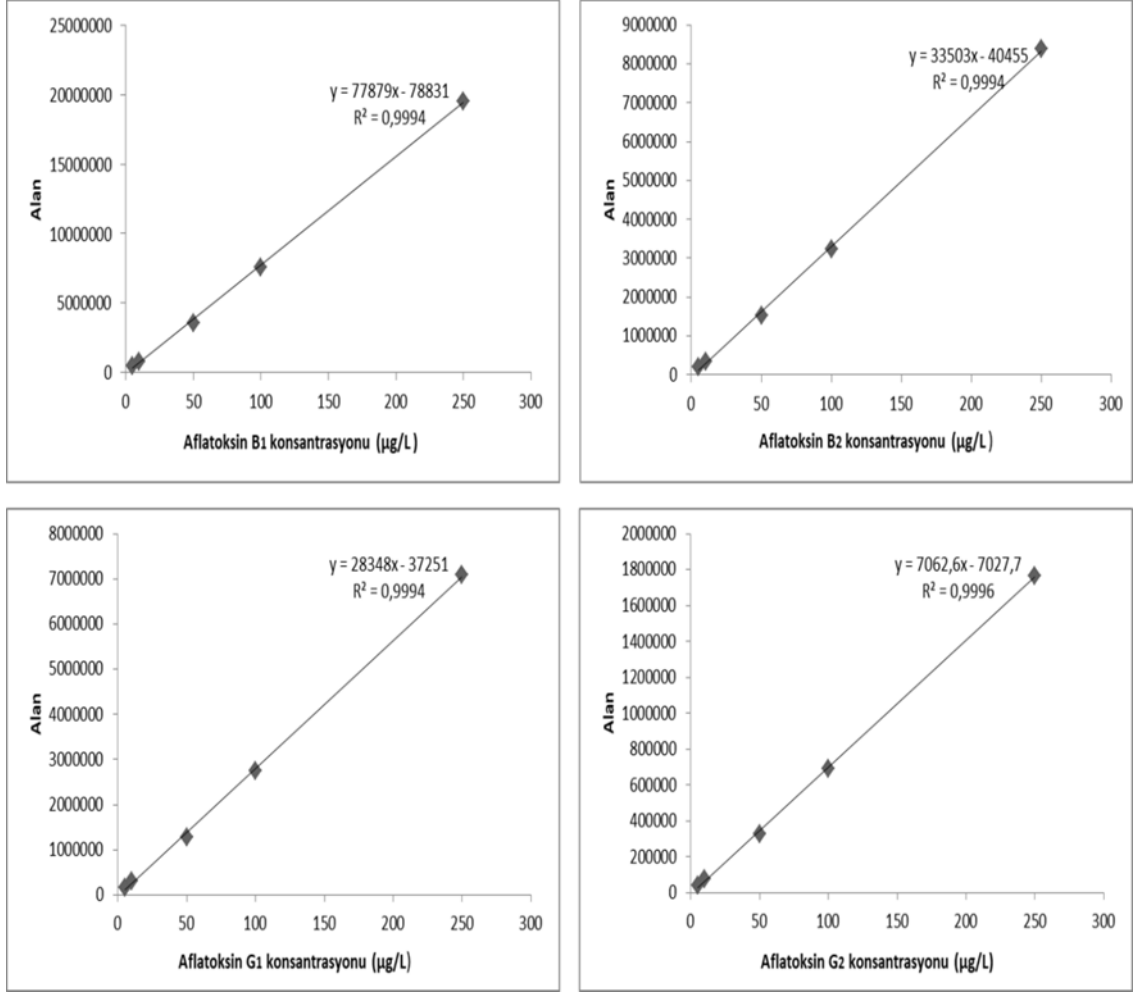
Aflatoksin analizlerinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizlerde kullanılan kromatografi şartları Tablo 2.1'de verilmiştir. Aflatoksin analizlerinde 2 farklı örnek kullanılarak cihaza 2'şer kere enjekte edilmiştir. Dolayısıyla bu tez kapsamındaki her bir aflatoksin konsantrasyonu verisi, dört enjeksiyondan elde edilen sonuçların ortalamasıdır.

Tablo 2. 1: Aflatoksin analizlerinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizlerde kullanılan kromatografi koşulları

HPLC	Shimadzu LC-20AD
Pompa	Shimadzu LC-20A
Degasser	Shimadzu DGU-20A
Kolon	Inertsil ODS 3 analitik kolon (GL Sciences, ODS 3 Inertsil, partikül çapı: 5µm, 250*4.6 mm iç çap, Tokyo, Japonya)
Kolon fırını	25°C (Shimadzu CTO-20A)
Dedektör	Floresans Dedektör (Shimadzu RF-20A)
Mobil faz	Metanol: Su (216 mg KBr+ 636 µL 4 M'lık HNO ₃) (40:60)
Akış hızı	1 mL/dakika
Dalga boyu	Tahrik=excitation dalga boyu 360 nm, Yayım=emission dalga boyu 430 nm
Enjeksiyon hacmi	20 µL

2.6.4 Aflatoksinlerin Kalibrasyon Eğrilerinin Çizilmesi

Aflatoksin analizlerinde örneklerde bulunan aflatoksin miktarının tespit edilebilmesi için 5 noktalı kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bu amaçla, içerisinde 1 µg aflatoksin B₁, 0.29 µg aflatoksin B₂, 0.99 µg aflatoksin G₁ ve 0.27 µg aflatoksin G₂ bulunan stok çözeltisinden (1 mL metanolde çözündürülmüş, Supelco, Bellefonte, PA, ABD) 5, 10, 50, 100 ve 250 ppb'lik aflatoksin çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan standart çözeltiler sırasıyla HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Her bir konsantrasyon için HPLC'ye 3 enjeksiyon yapılmıştır.



Şekil 2. 4: Aflatoxin kalibrasyon eğrileri a) Aflatoxin B₁ için çizilen kalibrasyon eğrisi, b) Aflatoxin B₂ için çizilen kalibrasyon eğrisi, c) Aflatoxin G₁ için çizilen kalibrasyon eğrisi, d) Aflatoxin G₂ için çizilen kalibrasyon eğrisi

2.6.5 Aflatoxin Analizlerinde Gözlenebilme Sınırı (LOD) ve Tayin Sınırının (LOQ) Belirlenmesi

Aflatoxin analizlerinde gözlenebilme sınırı (Limit of Detection, LOD) ve tayin sınırı (Limit of Quantification, LOQ) değerini belirlemek için 3 noktalı kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Bunun için aflatoxin stok çözeltisi kullanılarak 0.05-0.5 µg/L aflatoxin B₁, 0.0333-0.3332 µg/L aflatoxin B₂, 0.0299-0.2986 µg/L aflatoxin G₁ ve 0.0167-0.1672 µg/L aflatoxin G₂ konsantrasyonda aflatoxin standart çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiler sırasıyla HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Her bir konsantrasyon için 3 enjeksiyon yapılmıştır. Kalibrasyon

eğrileri, (2.1) ve (2.2)'de verilen eşitlikler kullanılarak her bir aflatoksin çeşidi için LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler sırasıyla aflatoksin B₁ için 0.033 ve 0.101 µg/L, aflatoksin B₂ için 0.016 ve 0.049 µg/L, aflatoksin G₁ için 1.168 ve 4.752 µg/L ve aflatoksin G₂ için 0.052 ve 0.157 µg/L olarak tespit edilmiştir.

$$\text{LOD} = (3.3 \times \text{standart sapma}) / \text{eğim} \quad (2.1)$$

$$\text{LOQ} = (10 \times \text{standart sapma}) / \text{eğim} \quad (2.2)$$

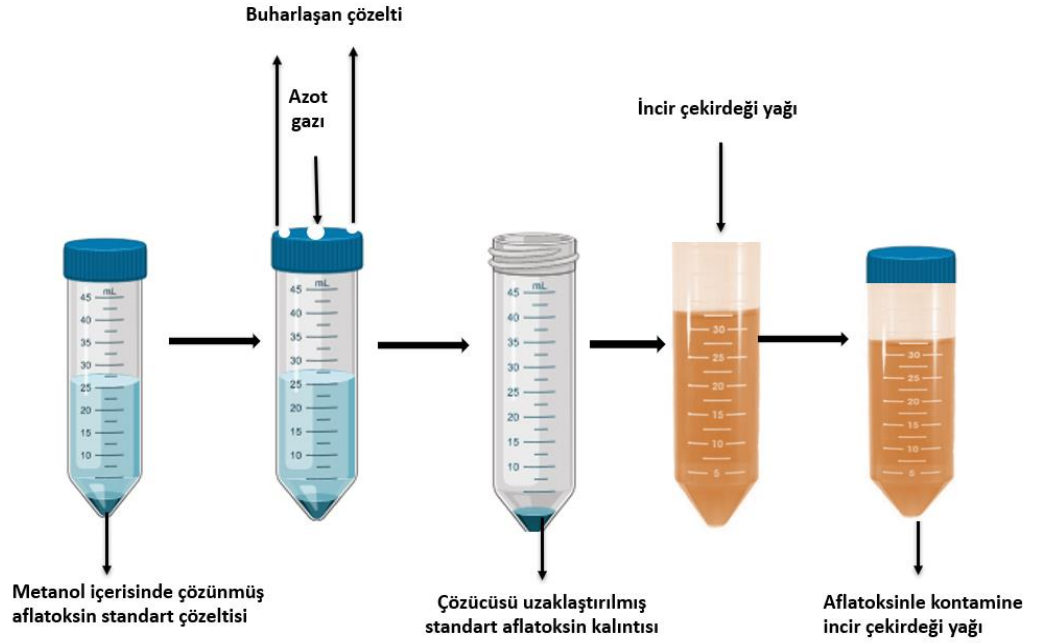
2.7 Kuru İncir Ekstraktlarında ve İncir Çekirdeği Yağlarında Adsorpsiyon Denemeleri

Adsorbent uygulamalarının aflatoksinlerin giderimindeki etkinliği doğal kontamine kuru incirlerden elde edilen incir ekstraktlarında ve ticari bir firmadan (Egesia, Nazilli, Aydın) temin edilen incir çekirdeği yağlarında test edilmiştir. İncir çekirdeği yağı kullanılarak gerçekleştirilen denemelerde, önceden yapılan yapılan analizlerle aflatoksin içermediği belirlenen incir çekirdeği yağı örnekleri, tarafımızdan aflatoksinle yapay olarak kontamine edilmiştir.

Bu amaçla 1000 ppb'lik aflatoksin stok çözeltisinden 50 mL'lik bir propilen santrifüj tüpünün içerisine 2.4 mL konmuştur. Sonra tüpün ağzı, tarafımızdan üzerinde delikler açılan kapak kapatılmıştır (Şekil 2.6).



Şekil 2. 5: Çekirdeksiz incir kitlesi ve incir çekirdeği



Şekil 2. 6: İncir çekirdeği yağlarının aflatoxin standart çözeltisi ile kontaminasyonu

Kapaktaki deliklerin birinden düşük hızda tüpe gönderilen azot gazı yardımı ile stok çözeltisinde bulunan çözücü (metanol) uçurulmuştur. Tüpte kalan kalıntı üzerine 200 g incir çekirdeği yağı ilave edilmiştir. Bu işlemin ardından aflatoxinle kontamine edilmiş incir çekirdeği yağı örneğinin aflatoxin B₁ ve toplam aflatoxin içeriğinin sırasıyla 11.15 ± 0.56 ppb ve 43.55 ± 1.84 ppb'lik olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen yağ, analizlerde kullanılabilecek kadar $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

Adsorbent uygulamalarının aflatoxin giderimindeki etkinliği kuru incir ekstraktlarında da test edilmiştir. Bu amaçla doğal kontamine kuru incirlerden elde edilen ve hazırlanışı "2.5. İncir Ekstraktını Eldesi" başlığı altında anlatılan incir ekstraktları kullanılmıştır. Gerçekleştirilen aflatoxin analizleri sonucunda bu kitledeki aflatoxin B₁ ve toplam aflatoxin miktarları sırasıyla 71.46 ± 6.09 ppb ve 143.66 ± 10.40 ppb olduğu tespit edilmiştir. Adsorpsiyon denemelerinin gerçekleştirileceği örnek [doğal kontamine incir ekstraktı (40 g) veya yapay kontamine incir çekirdeği yağı (7.5 g)] polipropilen bir santrifüj tüpü içerisine konulmuş ve üzerine %0.1-5.0'lik konsantrasyona denk gelecek şekilde adsorbent madde (pekmez toprağı, aktif karbon, PVP, bentonit veya jelatin) ilave edilmiştir. Jelatin uygulamalarında gözlenen jelleşme problemi nedeniyle, bu adsorbentin $45-50^{\circ}\text{C}$ 'de %12.5'lik çözeltisi hazırlanmıştır ve adsorpsiyon denemelerinde son

hacimde jelatin konsantrasyonu %0.1-1.0 olacak şekilde bu çözeltiden ilave edilmiştir.

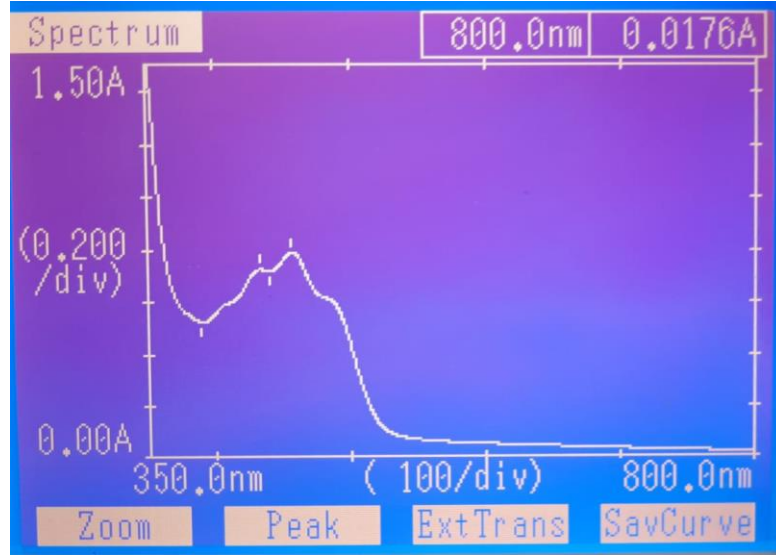
İçerisine adsorbent madde ilave edilmiş örnek (incir ekstraktı ve incir çekirdeği yağı) orbital bir çalkalayıcıda 200 rpm'de 2 saat boyunca çalkalanmaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda, örnekler +4°C 'de 7000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant alınıp kaba filtre kağıdından geçirilmiştir. Elde edilen filtratlarda aflatoksin analizleri gerçekleştirilmiştir.

2.8 Adsorpsiyon Uygulamalarının İncir Ekstraktı ve İncir Çekirdeği Yağı Örneklerinin Bazı Kalite Parametreleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

Kuru incirlerin 1'e 1.75 oranında sulandırılması ile hazırlanan incir ekstraktlarına adsorbent uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Adsorpsiyon uygulamasının bu incir ekstraktı örneklerine etkisinin belirlenmesi amacıyla briks, pH ve toplam asitlik değeri belirlenmiştir. Adsorpsiyon uygulanan incir ekstraktlarının briks ve pH değeri sırasıyla refraktometre ve pH-metre cihazıyla (HI 2211 pH/ORP Meter, HANNA Instruments, ABD) ölçülmüştür.

İncir ekstraktı örneklerinde toplam asitlik değerinin belirlenmesi amacıyla 10 mL incir ekstraktı 50 mL'lik bir erlene alınmıştır. Erlene alınan örneklerin pH değeri 8.1 olana kadar 0.1 N'lik NaOH ile titrasyona tabi tutulmuştur. Briks, pH ve toplam asitlik analizleri 3 paralelli olarak yapılmıştır.

İncir çekirdeği yağlarına uygulanan adsorbentlerin renk üzerine etkilerini belirlemek için, spektrofotometre (UV1201V, Shimadzu, Kyoto, Japonya) cihazıyla adsorbent uygulaması yapılmayan incir çekirdeği yağı örneğinde 360-800 nm aralığında spektrumu alınmıştır. Söz konusu yağ örneğinin yüksek oranda absorbans verdiği değerler 459.5 nm ve 435.5 nm olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2.7). Adsorbent uygulaması sonrası yağ örneklerinin bu dalga boyunda verdiği absorbans değerleri tarafımızdan belirlenmiş ve böylece uygulamanın yağ örneklerinin üzerine etkisi tespit edilmiştir. Analiz 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Her örnek için 2 ölçüm yapılmıştır.



Şekil 2. 7: İncir çekirdeği yağının 350-800 nm aralığındaki spektrumu

Adsorpsiyon uygulamalarının incir ekstraktlarındaki ve incir çekirdeği yağındaki toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan aktivite değeri üzerine etkisi de tarafımızdan incelenmiştir. Bu amaçla bir polipropilen santrifüj tüpüne 2.625 mL incir ekstraktı (1.5 g kuru incire tekabül eder) ve 25 mL metanol:su karışımı (80:20) eklenmiş ve 200 rpm'de 1 saat orbital çalkalayıcıda ekstraksiyona bırakılmıştır. Süre sonunda 4°C'de 7000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapılmıştır. Süpernatant kısmı bir Whatman filtre kağıdından filtre edilen filtrat amber renkli şişelere alınmıştır. İncir çekirdeği yağının ekstraksiyonunda Thaipong ve diğ. (2006) tarafından kullanılan ekstraksiyon yöntemi revize edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla 0.25 g yağ örneği polipropilen bir santrifüj tüpüne alınmış ve üzerine 2.5 mL saf metanol eklenerek 1 dakika vortekslenmiştir.

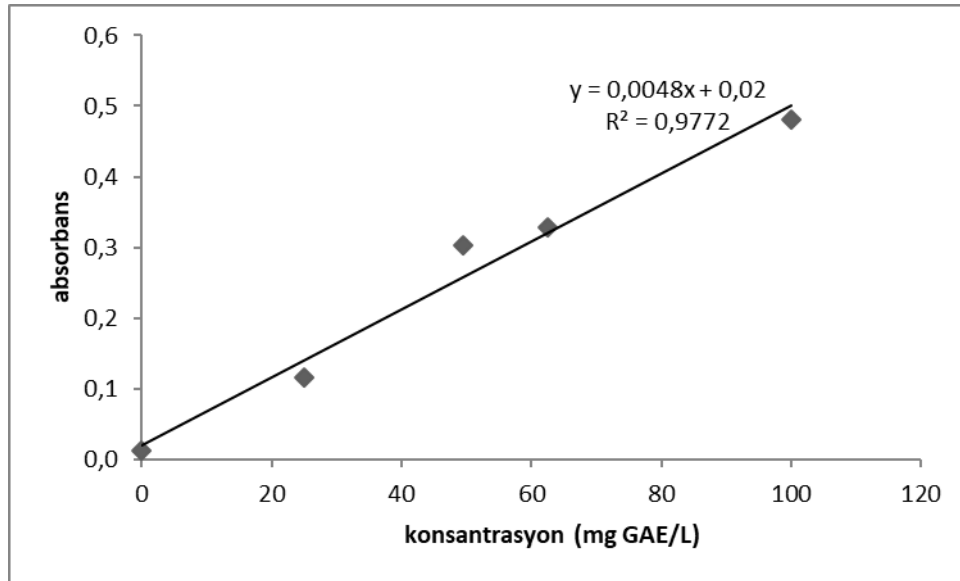
Antioksidan aktivite tayini için Brand-Williams (1995)'in önerdiği yöntem kullanılmıştır. Bu yöntem gereği; gerekli miktarda örnek (incir ekstraktı için 300 µL ve incir çekirdeği yağı için 150 µL) son hacim 3 mL olacak şekilde 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) kimyasalı ile karıştırılmıştır. Vorteks ile 1 dakika şiddetli çalkalama uygulanan örnekler 20°C'de 1 saat karanlıkta bekletmenin ardından 515 nm'de spektrofotometrik ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Toplam fenolik madde tayini için Singleton ve Rossi (1999) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Buna göre; gerekli miktarda örnek (incir ekstraktı için 100 µL veya incir çekirdeği yağı için 200 µL), 100 µL Folin-Ciocalteu ayırıcı ve gerekli miktarda saf su (sırasıyla 1500 µL ve 1350 µL) ilave edilerek vorteks ile 1

dakika şiddetli çalkalanmıştır. Çalkalanan örnekler 3 dakika karanlıkta bekletildikten sonra üzerine gerekli miktarda %7.5'lik Na₂CO₃ (sırasıyla 1400 µL ve 1200 µL) eklenerek 1 dakika şiddetli çalkalanmıştır. Çalkalanan örnekler 20°C'de 2 saat karanlıkta bekletilmiştir. 2 saatin sonunda incir ekstraktları 765 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. İncir çekirdeği yağı bulunan örnekler ise; 7000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve 765 nm'de spektrofotometrik ölçümleri yapılmıştır. Analizler 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Her örnek için 2 ölçüm yapılmıştır.

2.8.1 İncir Ekstraktlarında Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Hesaplanması

Spektrofotometrede okunan örnek absorbansı, gallik asit standart eğrisi yardımıyla değerlendirilmiştir. Bu amaçla, gallik asit standardında (G-7384, Sigma-Aldrich, ABD) 0.05 g tartılarak, 100 mL saf su içerisinde çözündürülmüştür. Hazırlanan bu stok çözeltilerden 0, 25, 49.95, 62.5 ve 100 mg/L konsantrasyonunda standart çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan standartlara incir ekstraktlarına uygulanan işlemler tekrarlanmış ve 765 nm dalga boyunda absorbansları saptanmıştır. Bu absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe aktarılınca gallik asit standart eğrisi elde edilmiş ve bu standart eğri Şekil 2.8'de gösterilmiştir.



Şekil 2. 8: İncir ekstraktlarında toplam fenolik madde içeriğinin analizinde kullanılan gallik asit kalibrasyon eğrisi

Örneklerdeki toplam fenolik madde miktarı bu eğriden elde edilmiş ve g gallik asit eşdeğeri (GAE)/kg KM olarak verilmiştir.

Hazırlanan incir ekstraktı örneğinin absorbansı 765 nm'de spektrofotometrede ölçülmüştür.

İncir ekstraktı absorbans değeri=0.370

$Y=0.048x+0.02$ (Şekil 2.8'de verilen kalibrasyon eğrisinin eğimi)

$= (0.370-0.02) / 0.0048 = 72.91$ (mg GAE/L)

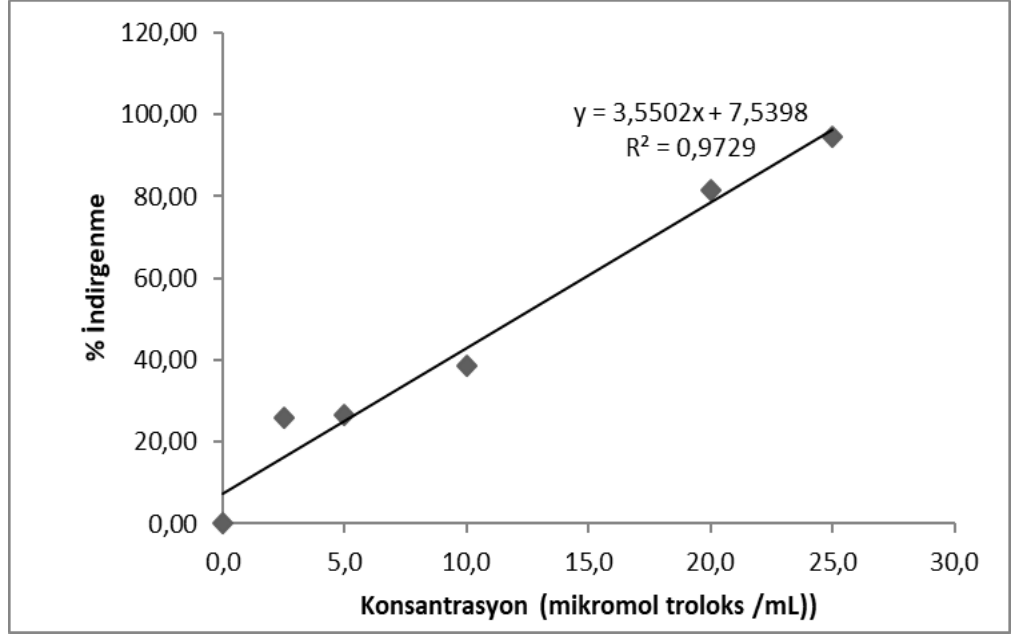
$= ((81.25 \times 27.625) / 1000) / 1.5 = 1.34$ (mg GAE/g yaş incir)

$= (1.34 \times 100) / 79.28 = 1.69$ (mg GAE/g KM)

2.8.2 İncir Ekstraktlarında Antioksidan Aktivite Değerinin Hesaplanması

Örneklerde elde edilen spektrofotometrik absorbans değerleri, standart eğri yardımıyla değerlendirilmiştir. Bu amaçla, 0.0050 g troloks (6-Hydroxy-2,5,7, 8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid, 23,881-3, Sigma-Aldrich, ABD) 1 mL etanol içerisinde çözündürülerek, balon jofede 10 mL'ye tamamlanarak troloks stok çözeltisi hazırlanmıştır.

Bu stok çözeltiden metanolla hazırlanan 0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 ve 25.0 mM'lik çalışma standartlarına incir ekstraktlarına uygulanan aynı işlemler uygulanarak 515 nm dalga boyunda verdiği absorbanslar ölçülmüştür. Bu absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe aktarılıp troloks standart eğrisi elde edilmiştir (Şekil 2.9).



Şekil 2. 9: İncir ekstraktlarında antioksidan aktivite analizinde kullanılan troloks kalibrasyon eğrisi

Örneklerin antioksidan aktivite değerleri bu eğriden elde edilmiş ve g troloks/kg KM olarak verilmiştir

Hazırlanan incir ekstraktı örneği 515 nm'de spektrofotometrede ölçülmüştür.

İncir ekstraktının absorbans değeri=0.600

$$= ((0.81-0.600)) / 0.81 \times 100 = 25.92 \text{ (yüzde inhibisyon)}$$

$Y = 3.5502x + 7.5398$ (Şekil 2.9'da verilen kalibrasyon eğrinin eğimi)

$$= ((25.92 - 7.5398)) / 3.5502 = 5.18 \text{ (mikromol troloks)}$$

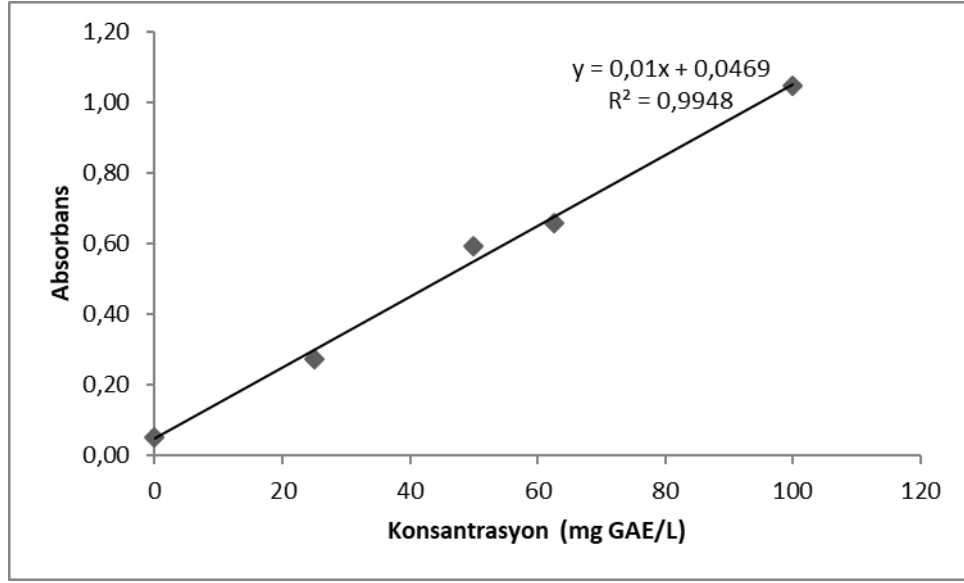
$$= ((12.6 \times 5.18)) / 0.5 = 130.51 \text{ (mg troloks/100 mL)}$$

$$= ((130.51 \times 27.625 / 1000)) / 1.5 = 2.40 \text{ (g troloks/kg yaş incir)}$$

$$= 2.40 \times 100 / 79.28 = 3.03 \text{ (g troloks/kg KM)}$$

2.8.3 İncir Çekirdeği Yağında Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Hesaplanması

Spektrofotometrede okunan örnek absorbansı, gallik asit standart eğrisi yardımıyla değerlendirilmiştir. Bu amaçla, gallik asit standardı (G-7384, Sigma-Aldrich, ABD) 0.05 g tartılarak, 100 mL saf su içerisinde çözündürülmüştür. Hazırlanan bu stok çözeltilerden de 0, 25.0, 49.95, 62.5 ve 100 mg/L konsantrasyonunda standart çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan standartlara incir çekirdeği yağına uygulanan işlemler uygulanmış ve 765 nm dalga boyunda absorbansları saptanmıştır. Bu absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe aktarılnca gallik asit standart eğrisi elde edilmiş ve bu standart eğri Şekil 2.10'da gösterilmiştir. Örneklerdeki toplam fenolik madde miktarı bu eğriden elde edilmiş ve g GAE/kg yağ olarak verilmiştir.

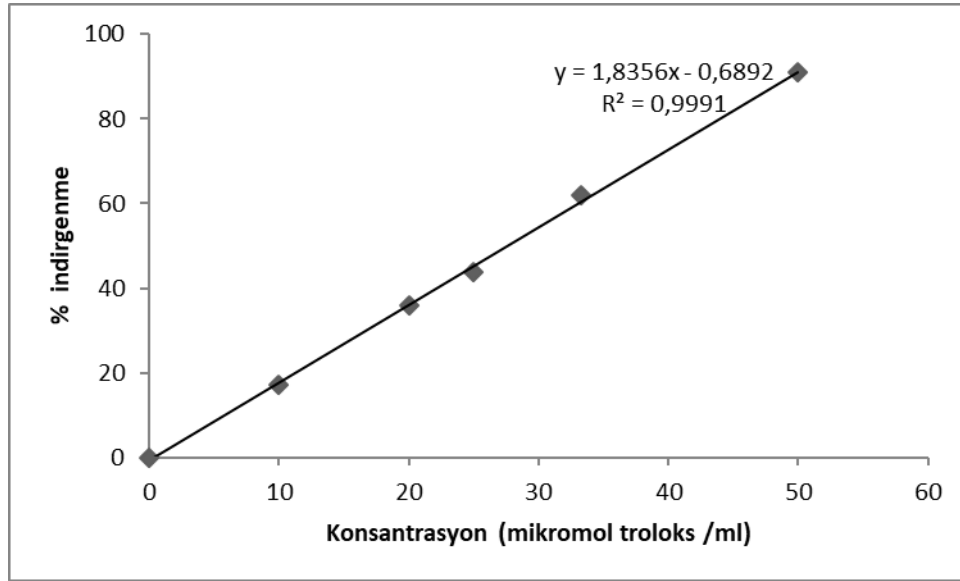


Şekil 2. 10: İncir çekirdeği yağlarında toplam fenolik madde içeriği analizinde kullanılan gallik asit standart eğrisi

2.8.4 İncir Çekirdeği Yağındaki Antioksidan Aktivite Değerinin Hesaplanması

Örneklerde yapılan spektrofotometreye ait absorbans değerleri, standart eğri yardımıyla değerlendirilmiştir. Bu amaçla, 0.0050 g troloks (6-Hidroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid, 23,881-3, Sigma-Aldrich, ABD) 1 mL

etanol içerisinde çözüldürülmüş ve balon joje 10 mL'ye tamamlanarak troloks stok çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu stok çözeltiden 0, 10.0, 20.0, 33.3 ve 50.0 mM'lik çalışma standartları incir çekirdeği yağları ile aynı işlemler uygulanarak 515 nm dalga boyunda verdiği absorbanslar ölçülmüştür. Bu absorbans değerleri konsantrasyona karşı grafiğe aktarılıp troloks standart eğrisi elde edilmiştir (Şekil 2.11). Örneklerin antioksidan aktivite değerleri bu eğriden elde edilmiş ve g troloks/kg yağ olarak verilmiştir.



Şekil 2. 11: İncir çekirdeği yağlarında antioksidan aktivite değerinin analizinde kullanılan troloks standart eğrisi

2.9 İncir Çekirdeği Yağında Tokoferol Analizleri

Gliszczynska-Swiglo ve Sikorska (2004) tarafından önerilen tokoferol analiz yöntemi tarafımızdan modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu yöntem özetle şu basamaklardan oluşmaktadır: 0.25 g incir çekirdeği yağı örneği bir deney tüpüne tartılmış ve üzerine 1mL HPLC 2-proponal ($(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$, 650447, Sigma-Aldrich, ABD) ilave edilerek 1 dakika yüksek şiddette vortekslenmiştir. Vortekslenen örnek 5 mL'lik bir şırıngaya çekilmiş ve 0.45 mm por çapına sahip mikrofiltreden geçirilmiştir. Mikrofiltreden geçirilen örnek, faz ayrımı olması için 30 dakika bekletilmiş ve ayrılan üst fazdan 20 μL HPLC'ye enjekte edilmiştir.

Analizler 2 paralelli olarak yapılmıştır. Her bir örnek için HPLC'ye 2 enjeksiyon yapılmıştır. Analizde kullanılan HPLC cihazının özellikleri Tablo 2:2'de verilmiştir.

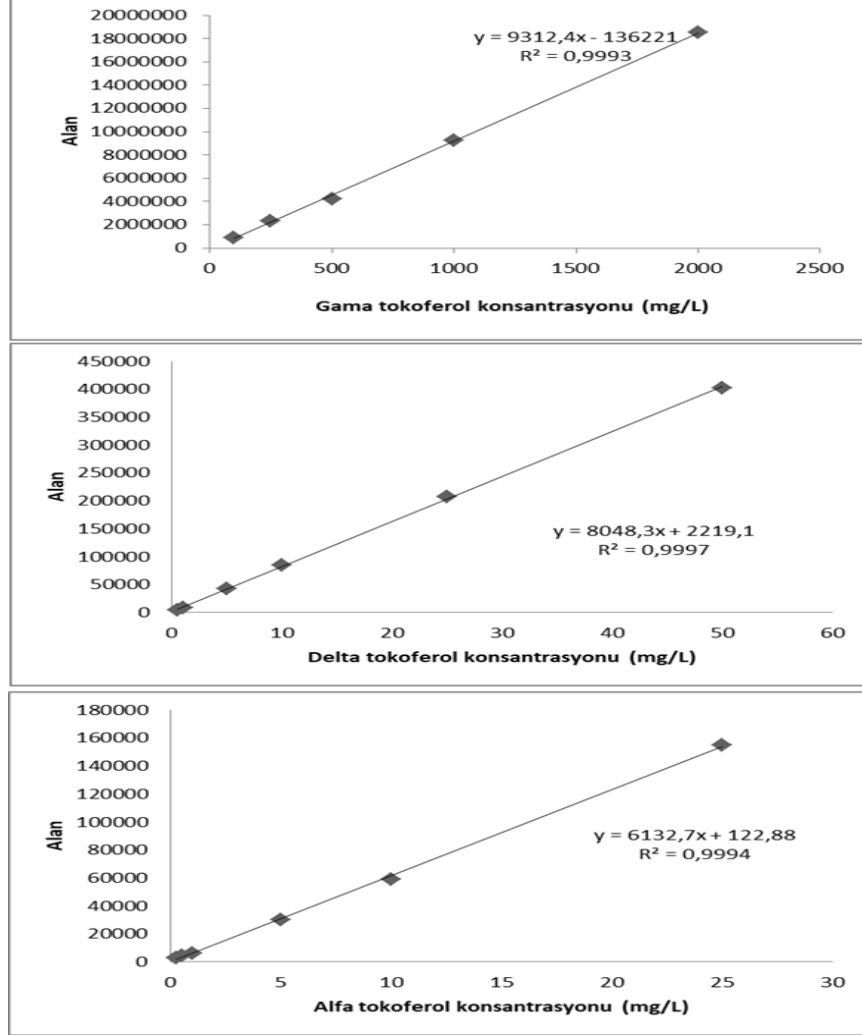
Tablo 2. 2:Tokoferol analizlerinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizlerde kullanılan kromatografi şartları

HPLC	Shimadzu LC-20AD
Pompa	Shimadzu LC-20A
Degasser	Shimadzu DGU-20A
Kolon	ZorboxEclipseXDB (Aligent technologies partikül çapı: 5µm, 250*4.6mm iç çap, Santa Clara, ABD)
Kolon fırını	25°C (Shimadzu CTO-20A)
Dedektör	Photodiode array dedector (Shimadzu SPD-M20A)
Mobil faz	Metanol
Akış hızı	1 mL/dakika
Dalga boyu	297 nm, 289 nm
Enjeksiyon hacmi	20 µL

2.10 Tokoferol Kalibrasyon Eğrilerinin Oluşturulması

İncir çekirdeği yağı örneklerinde bulunan tokoferol miktarlarının tespit edilebilmesi için 5 noktalı kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bunun için gama tokoferol (Supelco Cat No:47785, Sigma-Aldrich, ABD) standardı kullanılarak 100, 250, 500, 1000 ve 2000 ppm'lik gama tokoferol çözeltileri hazırlanmıştır. Delta tokoferol için çizilen kalibrasyon eğrisinde ise, delta tokoferol (Supelco Cat No:47784, Sigma-Aldrich, ABD) standardı kullanılarak 0.5, 5.0, 10.0, 25.0 ve 50.0 ppm'lik delta tokoferol çözeltileri hazırlanmıştır. Alfa tokoferol için ise; alfa tokoferol (Supelco Cat No:47783, Sigma-Aldrich, ABD) standardı kullanılarak 0.25, 1.0, 5.0, 10.0 ve 25.0 ppm'lik gama tokoferol çözeltileri hazırlanmıştır.

Hazırlanan çözeltiler sırasıyla HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Her bir konsantrasyon için HPLC'ye 3 enjeksiyon yapılmıştır. Elde edilen veriler kullanılarak Şekil 2.12'de verilen kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur.



Şekil 2. 12: Gama-, delta- ve alfa tokoferol kalibrasyon eğrileri

2.11 İncir Çekirdeği Yağındaki Yağ Asitleri Kompozisyonunun Belirlenmesi

Yağ asitleri kompozisyonunu belirlemek için AOCS Resmi Metodu Ce 2-66 yöntemi kullanılmıştır.

Yağlar yüksek hidrojen bağı oluşturma eğilimi, yüksek polarite ve düşük uçuculuk gibi özelliklere sahip olması nedeniyle doğrudan gaz kromatografisi kullanılarak, yağ asidi kompozisyonu analizinin yapılması zordur. Bu sebeple gaz

kromatografisinde kullanılacak yağlara türevlendirme işleminin gerçekleştirilmesi gerekmektedir (Carvalho ve Malcata, 2005). Türevlendirme işlemi ile lipit bileşenlerinde uçuculuk artırılarak daha iyi ayırım sağlanır ve analizin gerçekleşme süresi kısaltılır. En kolay ve en uygun yöntem lipitlerin yağ asidi bileşenlerine karşılık gelen metil esterlerine dönüştürülerek kullanılmasıdır.

Buna göre; incir çekirdeği yağı örneklerinden 0.2 g tartılmış ve bu yağ bir test tüpü içinde 2 mL hekzan içerisinde çözdürülmüştür. Daha sonra bu örnek 0.2 mL 2N'lik metanollü potasyum hidroksit ile muamele edilmiştir. Sonrasında örnekler 30 saniye boyunca vortekslenmiştir. Vortekslenen örnek 1 saat oda sıcaklığına bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerde faz ayrımı gerçekleşmiş ve 1 mL'lik mikro şırınga yardımıyla üst fazdan 0.1 mL alınarak gaz kromatografisine verilmiştir. Gaz kromatografisi cihazında yağ asitleri bileşimi % olarak elde edilmiştir. Kromatogramdaki piklerin geliş zamanları, standart metil esterlerin geliş zamanları ile kıyaslanarak örnekteki yağ asidi kompozisyonu belirlenmiştir. Analizler 2 paralelli yapılmıştır. Her bir örnek için gaz kromatografisi (Gas chromatograph, GC)'ne 2 enjeksiyon yapılmıştır. Gaz kromatografisi cihazında gerçekleştirilen yağ asidi kompozisyonu analizin koşulları aşağıdaki Tablo 2.3'de verilmiştir.

Tablo 2. 3:Yağ asidi kompozisyonu analizlerinin gerçekleştirildiği GC cihazının özellikleri ve analizlerdeki kromatografi şartları

Gaz Kromatografisi (GC)	Agilent 7820A
Dedektör	Alev İyonizasyon Dedektörü
Kolon:	Agilent J&W DB-FATWAX (30m x 0.25 mm id x 0.250 µm film kalınlığı)
Taşıyıcı Gaz ve Akış Oranı	H ₂ , 40 cm/s
Split Oranı	1:100
Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	250 °C
Kolon Sıcaklığı	50 °C (2 dakika), 50 °C/dakika artarak 174 °C (14 dakika), 2 °C/dakika artarak 215 °C (25 dakika)
Dedektör Sıcaklığı	280°C
Enjeksiyon Hacmi	1 µL

2.12 Kuru İncirlerin Etil Alkol Üretiminde Kullanılabilirliğinin Belirlenmesi

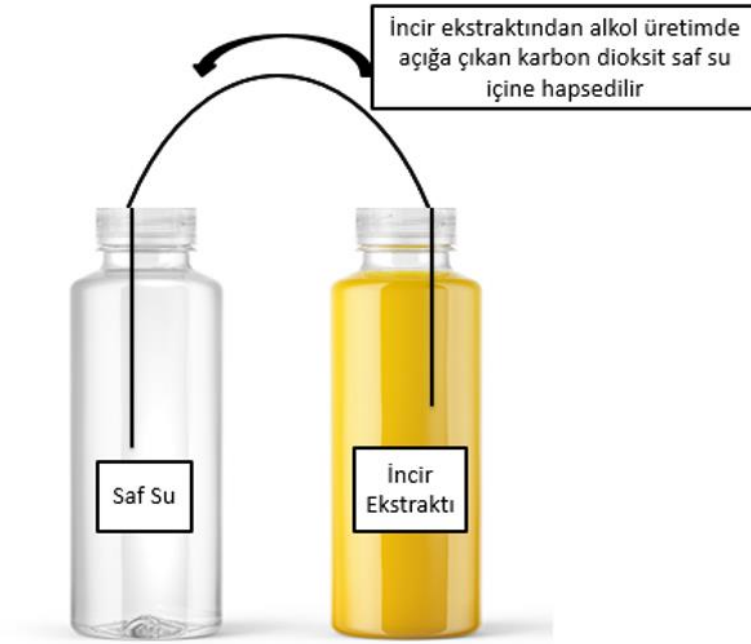
UV ışık altında floresans verdiği gerekçesiyle ayrılan aflatoksinli kuru incirler ve aflatoksinsiz olduğu tarafımızca yapılan analizler sonucunda belirlenen kuru incirler 2 ayrı grup halinde etil alkol üretiminde kullanılmıştır. Aflatoksinli ve aflatoksinsiz kuru incir örnekleri, yaklaşık 1'e 1.75 oranında saf suyla Waring blender da homojen hale getirilmiştir. Bu örnekler önce 4 katlı tülbentten, daha sonra kaba filtre kağıdından süzülen ekstraktın 20 briks olduğu belirlenmiştir. Hazırlanan bu ekstraktlar kullanılacak miktarlara bölünerek 20 g/hL şarap mayası (Laffort, RMS2 -*Saccharomyces cerevisiae*, Bordeaux, Fransa) ve 30 g/hL besin (Laffort, DYNASTART, Bordeaux, Fransa) ilavesi yapılmıştır (500 mL'lik plastik şişe). Etil alkol fermentasyonu Şekil 2.13'te gösterilen düzenek hazırlanarak oda şartlarında karanlıkta gerçekleştirilmiş ve fermentasyonun 0., 5., 10., 15. ve 20. gününde belirlenen analizler gerçekleştirilmiştir.

2.13 Fermentasyon Sürecinde Örneklerdeki Briks, İndirgen Şeker ve Etil Alkol Miktarlarının Belirlenmesi

Etil alkol fermentasyonun 0., 5., 10., 15. ve 20. günlerinde, aflatoksinli ve aflatoksinsiz incir ekstraktlarında briks, indirgen şeker ve etil alkol miktarları belirlenmiştir. Fermentasyonun 20. gününde ise; tüm örneklerde uçur asit analizi gerçekleştirilmiştir. Fermentasyon işleminin örneklere etkisinin belirlenmesi amacıyla refraktometre cihazıyla briks değeri ölçülmüştür.

İndirgen şeker analizi Luff-Schoorl (Anonim 2007) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem kısaca şu basamaklardan oluşmaktadır. 2 mL örnek alınarak üzerine 10 mL çözelti A (27.95 g bakır (II) sülfat, 6.7 mL süfirik asit, çözeltisi (1 mL H₂SO₄ ile 34 mL saf su) ilave edilerek 1000 mL'ye tamamlanır) ve 5 mL çözelti B (165 g potasyum sodyum tartarat tartılır ve üzerine 53 g NaOH ilave edilerek 1000 mL'ye tamamlanır) eklenerek bek alevinde 1.5 dakika kaynatılır. Kaynatılan örnek akan su altında soğutulur ve 10 mL çözelti C (200 g potasyum iyodür (KI, 1.05043, Supelco, ABD) tartılır ve üzerine 67 mL 1 N'lik NaOH ilave edilerek 1000 mL'ye tamamlanır), 5 mL çözelti D (10 g nişasta tartılır ve 200 mL saf

su) eklenir. Hazırlanan bu karışım 800 mL kaynatılmış saf su üzerine ilave edilir) ve 5 mL çözelti E (666 mL saf su üzerine 333 mL saf H₂SO₄ ilave edilir ve saf su ile 1000 mL'ye tamamlanır) ilave edilir. Örnek rengi kahve renginden açık krem olana kadar sodyum tiyosülfat (1/18 N) ile titre edilir.



Şekil 2. 13: Alkol üretim düzeneği

Örneklerdeki etil alkol miktarının belirlenmesinde Akman (1962) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Yöntem özetle şu basamaklardan oluşmaktadır: Şekil 2.14'te gösterilen, ebülyometre'nin (Aybaş Makina, İzmir) haznelerinden birine 50 mL kadar saf su ilave edilmiştir. Kaynama noktası belirlenmiştir. Diğer hazneye ise; 25 mL alkol örneği ve 25 mL saf su karışımı eklenerek kaynama noktası belirlenmiştir. Ebülyometre'nin ölçüm tablosu kullanılarak iki örneğinin kaynama noktalarının arasında tespit edilen fark sayesinde örnekteki alkol miktarı belirlenmiştir.



Şekil 2. 14: Etil alkol miktarının belirlenmesinde kullanılan ebülyometre

Fermentasyonun 20. gününde örneklerdeki uçar asit miktarı belirlenmiştir. Uçar asit miktarının belirlenmesinde kullanılan yöntem Şekil 2.15'de verilmiştir. Uçar asit analizi özetle şu basamaklardan oluşmaktadır: 10 mL örnek hazneye alınarak üzerine 0.2 g tartarik asit ilave edilmiştir. Örnek buhar distilasyonuna bırakılır ve örnekteki uçar asitler distilata geçirilmiştir. Bu yöntem ile 150 mL distilat elde edilmiştir. Elde edilen bu distilata 4 damla fenolftalein ayracı eklenerek 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. Analiz sonunda örneklerde bulunan uçar asit miktarı g/L olarak verilmiştir (Anonim 2007).



Şekil 2. 15: Uçar asit analizinde uygulanan prosedür

Briks, indirgen şeker ve etil alkol analizleri 3 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Uçar asit analizi ise, 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.

2.14 İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda istatistik değerlendirmeler "Minitab 16 Statistical Software", "MSTAT" programları kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) tekniği ile değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile karşılaştırılmış ve karşılaştırma gruplarına ait veriler $\alpha = 0.05$ güven aralığına göre test edilmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1 Aflatoksinli Kuru İncirlerin Temel Özellikleri

Çalışmamızda kullanılan aflatoksinli kuru incirlerde kuru madde miktarı ve briks değeri sırasıyla 79.28 ± 0.54 ve 55.48 ± 3.97 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca gerçekleştirilen mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre, kuru incir örneklerinde *Enterobacteriaceae* grubu bakterilerin bulunmadığı ve TAMB sayısının 2.5×10^6 log kob/g ve maya-küf sayısının ise 1.4×10^6 log kob/g olduğu tespit edilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliğine göre; kurutulmuş meyveler için alınan 5 numunedan 2'sinin 10^4 ve 10^5 kob/g arasında maya-küf içermesine izin verilmektedir. Buna göre; ışımaya yaptığı için ayrılan kuru incir örneklerinin maya-küf sayısı bakımından da uygun olmadığı belirlenmiştir (Anonim 2011).

3.2 İncir Kitlesi ve Çekirdek Yağında Aflatoksin Dağılımının Belirlenmesi

Aflatoksinle kontamine kuru incirlerin çekirdeksiz kısmında ve çekirdek yağlarında tespit edilen aflatoksin konsantrasyonları Tablo 3.1'de verilmiştir. İncelenen incir kitlelerinin hepsinin, hem çekirdeksiz kısmında hem de çekirdeğinin yağında aflatoksin bulunduğu tespit edilmiştir. Hem aflatoksin B₁ hem de toplam aflatoksinin çoğunun incirin çekirdeksiz kısmında bulunduğu tablodan açıkça görülmektedir. I., II. ve III. incir kitesinde tespit edilen aflatoksin B₁'in sırasıyla %2.5, %6.3 ve %1.0'lik kısmının çekirdek yağında bulunduğu tarafımızdan belirlenmiştir.

Bu değerler, toplam aflatoksin için sırasıyla %3.7, %10.0 ve %2.5 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3. 1: İncir kitlesi ve çekirdek yağlarında tespit edilen aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin miktarlarının belirlenmesi

	I. İncir Kitlesi		II. İncir Kitlesi		III. İncir Kitlesi	
	Çekirdeksiz Kısım	Çekirdek Yağı	Çekirdeksiz Kısım	Çekirdek Yağı	Çekirdeksiz Kısım	Çekirdek Yağı
Aflatoksin B ₁ (ppb)	198.13	5.01	47.23	3.17	135.00	1.31
Toplam Aflatoksin (ppb)	308.18	11.88	94.84	10.52	272.68	6.91

Bu sonuçlar, incir meyvesinin gerek çekirdeksiz kısmında gerekse çekirdeğinin yağında aflatoksin kontaminasyonunun gerçekleşebildiğini göstermektedir. Aflatoksin üreticisi küflerle kontamine olabilen diğer bazı gıdalardan (mısır, yer fıstığı, hindistan cevizi, ayçiçek, zeytin, susam ve palm yağı) elde edilen yağlarda da aflatoksin bulunduğu daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Banu ve Muthuray 2010, Elzupir ve diğ. 2010, Ghitakou ve diğ. 2006, Samarajeewa ve Arseculeratne 1983, Shephard 2018). Aflatoksin üreticisi küflerin sporlarının çeşitli etmenlerle (rüzgar, ilek sineği vb.) incirin ostiolünden meyveye girebildiği bilinmektedir (Doster ve diğ. 1996). Bu durum, aflatoksin kontaminasyonunun esasen meyvenin içerisinde (çekirdeklerin bulunduğu bölgede) gerçekleşebileceğini göstermektedir. Kurutma öncesinde veya kurutma aşamalarında meyvenin herhangi bir fiziksel zarar görmesi (yere düşme, böcek-kuş gibi zararlılar vb.) halinde, çekirdek içindeki yağın aflatoksinle kontamine olması mümkündür. Benzer durumun, incir çekirdeği yağı üretimi amacıyla incirlerin parçalanması aşamasında da gerçekleşebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca aflatoksinin incir çekirdeği yağında bulunmasında (ya da yağına geçmesinde) aflatoksinin polaritesi ve yağda çözünürlüğü gibi faktörlerin de etkili olabileceği düşünülmektedir.

3.3 Farklı Adsorbent Uygulamalarının İncir Ekstraktlarından Aflatoksinlerin Uzaklaştırılması Üzerine Etkisi

İncir ekstraktlarındaki aflatoksin seviyelerinde farklı adsorbent uygulamaları sonucunda meydana gelen azalmalar Şekil 3.1'de verilmiştir. Gerçekleştirilen

uygulamalar sonucunda aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin seviyelerinde sırasıyla %61.53-97.31 ve %55.11-95.77 aralığında azalmalar meydana geldiği tespit edilmiştir. İncir ekstraktlarındaki aflatoksin seviyelerinin azaltılmasında en etkili adsorbentin aktif karbon olduğu tarafımızdan belirlenmiştir.

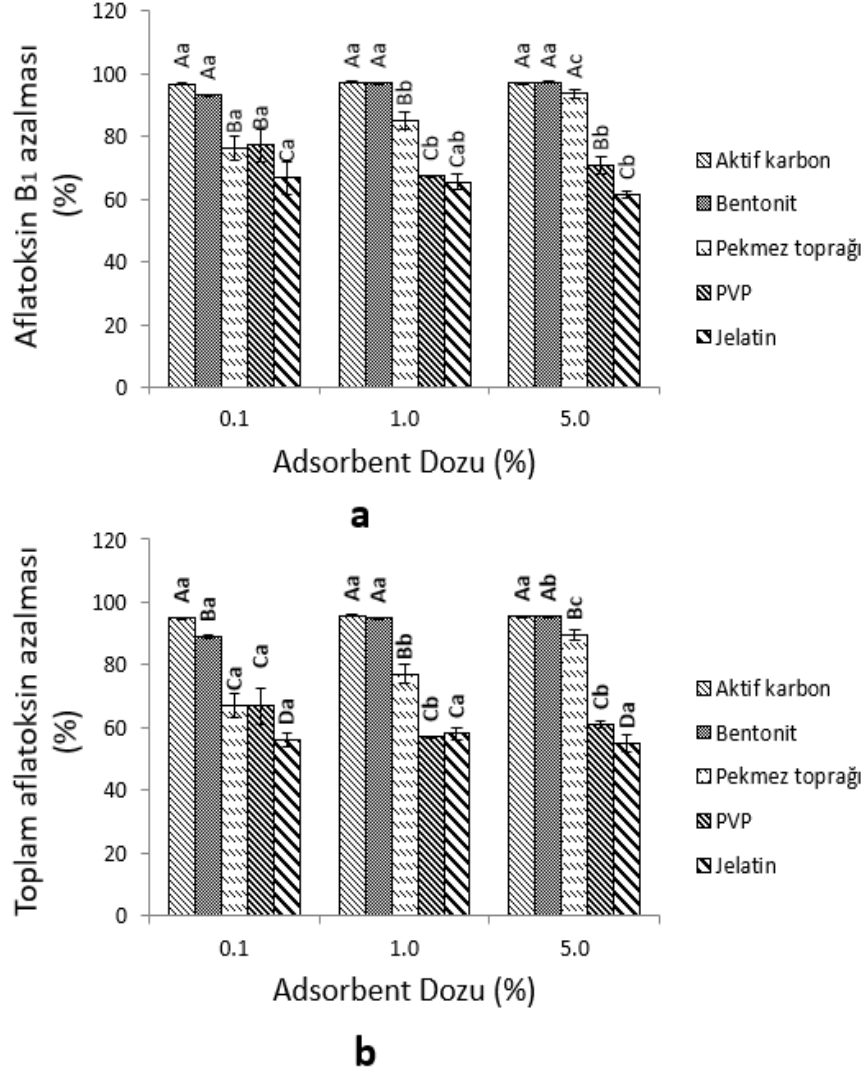
Bu adsorbent, test edilen tüm dozlarda gerek aflatoksin B₁ gerekse toplam aflatoksin seviyelerinde en az %95'lik azalmalar sağlamıştır. Aktif karbonun test edilen dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (p<0.05).

Literatürdeki diğer çalışmalar da aktif karbonun gerek aflatoksinin gerekse diğer mikotoksinlerin seviyelerinin azaltılmasında son derece etkili bir adsorbent olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin; Diaz ve diğ. (2003) aflatoksin, Bueno ve diğ. (2005) zearalenon ve Fernandes ve diğ. (2019) okratoksin A mikotoksininin, aktif karbon uygulamaları sonucunda minimum %99 oranında azaltılabildiğini bildirmişlerdir. Şüphesiz aktif karbonun mikotoksinleri bağlamadaki etkinliği, söz konusu ajanın sahip olduğu geniş yüzey alanı ve yüksek gözenek yapısı nedeniyledir (Galvano ve diğ. 2001).

Aktif karbonun mikotoksinleri hidrojen bağlarıyla sıkıca adsorpladığı bilinmektedir (Lemke ve diğ. 2001) ve muhtemelen bu nedenle özellikle elma sularında probleme neden olan patulin mikotoksinin uzaklaştırılması amacıyla meyve suyu endüstrisi tarafından yıllardan beri kullanılmaktadır.

Şekil 3.1 incelendiğinde, incir ekstraktlarındaki aflatoksin seviyelerinin azaltılmasında etkili olan bir diğer adsorbentin bentonit olduğu görülmektedir. Bu adsorbent, test edilen her dozda, gerek aflatoksin B₁, gerekse toplam aflatoksin seviyelerinde minimum %89'luk bir azalma sağlamıştır.

Bir durum (%0.1 düzeyinde uygulanması halinde toplam aflatoksin seviyesinde meydana gelen azalma) hariç, bentonit ve aktif karbon uygulamaları sonrası aflatoksin seviyelerinde meydana gelen azalma oranları arasında istatistiksel fark tespit edilmemiştir (p<0.05).



Şekil 3. 1: Farklı adsorbent uygulamalarının incir ekstraktlarındaki aflatoksin düzeyine etkisi, (a) Aflatoksin B₁ seviyesindeki yüzde azalmalar, (b) Toplam aflatoksin seviyesindeki yüzde azalmalar

*Herhangi bir adsorbent dozu için; farklı büyük harfler, adsorbentler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05)

**Herhangi bir adsorbent dozu için; farklı küçük harfler, dozlar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05)

***Jelatin adsorbenti %0.1, %0.5 ve %1.0 dozlarda uygulanmıştır.

Benzer şekilde Diaz ve diğ. (2003) ve Fernandes ve diğ. (2019) model sistemlerden aflatoksinlerin çeşitli adsorbentlerle uzaklaştırılması üzerine

gerçekleştirdikleri çalışmalarında, aktif karbon ve bentonit adsorbentlerinin ikisinin de oldukça etkili olduğunu ve birbirine yakın sonuçlar verdiğini belirlemişlerdir. Bentonit çok katmanlı ve mineral yapıları bir kil çeşitidir. Yapısında, “montmorillonit” denen ve temelde kalsiyum, sodyum veya bu iki mineralin karışımından oluşan gruplar içermektedir. Bentonitin model sistemlerden aflatoksin B₁’in (Tabari ve diğ. 2018) ve gıda ortamından (sütten) aflatoksin M₁’in (Carraro ve diğ. 2014) gideriminde etkili sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Wang ve diğ. (2020) bentonitin iç katmanlarında, aflatoksin molekülünü bağlayabilen aktif bölgelerinin bulunduğunu bildirmişlerdir. Yazarlara göre, aflatoksinin yapısındaki karbonil grubu bu bağlanmada önem taşımaktadır. Phillips ve diğ. (2019) ise bağlanmada; elektron transferi, iyon-dipol interaksiyonları, katyonlar-karbonil oksijenleri arasındaki koordinasyon ve su köprüleri gibi mekanizmaların da etkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bentonitin adsorpsiyon gücünün yapısındaki mineral madde miktarına (Galvano ve diğ. 2001) ve ortam pH’sına (Bueno ve diğ. 2005) sıkı sıkıya bağlı olduğu bildirilmiştir.

İncir ekstraktlarına uygulanan pekmez toprağının da aflatoksin seviyelerinin azaltılmasında etkili olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.1). Bu maddenin %0.1, %1.0 ve %5.0 dozlarında uygulanması sonucunda incir ekstraktlarındaki aflatoksin B₁ düzeylerinde sırasıyla %76.23, %85.16 ve %93.79 oranında, toplam aflatoksin düzeylerinde ise %66.94, %77.16 ve %89.60 oranında azalmalar tespit edilmiştir. Uygulama dozu artıkça aflatoksine görülen azalma miktarları istatistiksel açıdan önemli olarak artmıştır (p<0.05). %5.0’lık uygulama dozları dikkate alındığında, aflatoksin seviyesini azaltmada pekmez toprağının, aktif karbon ve bentonit kadar etkili olduğu görülmektedir (p<0.05). Pekmez toprağı, pekmezlerde asitliğin giderilmesinde geleneksel olarak kullanılan kireçli bir maddedir. Yapısında yüksek oranda kalsiyum karbonat bulunmaktadır (Karababa ve Işıklı, 2005). Pekmez toprağında bulunan Ca⁺² iyonları pekmeze işlenecek sırada bulunan tartarik asit ile birleşerek kalsiyum tartarat olarak nötürleşmektedir. Böylece, şıranın pH’sı başlangıçta 3.5 civarındayken işlem sonrasında 5.0-6.0 civarına yükselmektedir (Becerikli ve Başoğlu 2018). Pekmez üretimindeki basamaklarda, özellikle de pekmez toprağı uygulaması sonrası, aflatoksin seviyesinin azaldığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Bahar ve Altuğ 2009, Heshmati ve diğ. 2019). Ancak söz konusu azalmanın; pekmez toprağının adsorpsiyon fonksiyonundan mı, yoksa bu

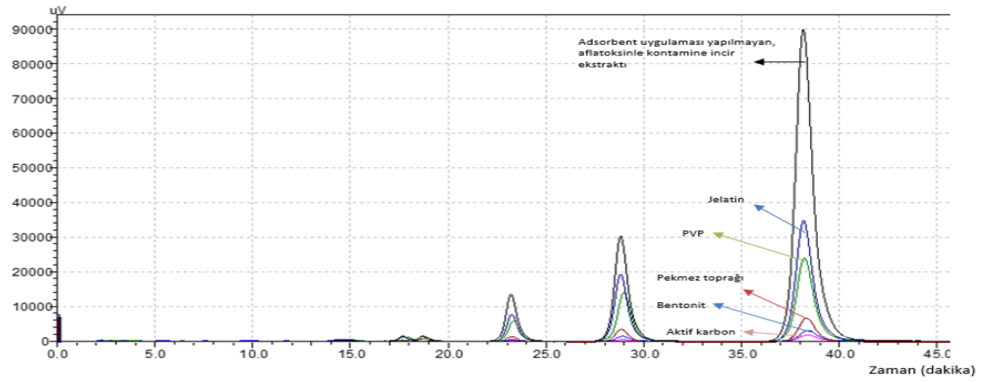
toprağın yapısındaki kalsiyum karbonat nedeniyle ortamın alkalileşmesi sonucu toksinin yapısında meydana gelen bir değişimden mi kaynaklandığı tam olarak ortaya konamamıştır.

PVP, tez çalışması kapsamında denenen tek sentetik bileşiktir. PVP ve ondan türetilmiş olan PVPP (polivinilpolipirolidon) meyve suyu sanayisi tarafından etkili bir durultma ajanı olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Şekil 3.1’de görüldüğü üzere, tarafımızdan gerçekleştirilen çalışmada, PVP uygulamaları sonucunda incir ekstraktlarındaki aflatoxin B₁ ve toplam aflatoxin seviyelerinde sırasıyla %67.36-77.23 ve %56.92-66.89 oranında azalmalar meydana gelmiştir. Literatürdeki çalışmalarda, PVP kullanımıyla model sistemlerden zearalenonun Alegakis ve diğ. (1999) ve PVPP kullanımıyla kırmızı şaraplardan fumonisin B₁ ve B₂’nin (Carrasco-Sanchez ve diğ. 2017) giderilebildiği belirlenmiştir. Ayrıca, söz konusu bileşenler, yemlere ilave edilerek hayvan beslenmesinde meydana gelebilecek aflatoxin zehirlenmelerinin önlenmesinde umut verici sonuçlar vermişlerdir (Çelik ve diğ. 2000, Stroud 2007).

İncir ekstraktlarından aflatoxin gideriminde en sınırlı etkiye sahip olan ajanın jelatin olduğu tarafımızdan tespit edilmiştir (Şekil 3.1). Bu ajanın uygulanması sonucunda aflatoxin B₁ ve toplam aflatoxin seviyelerinde sırasıyla %61.53-66.78 ve %55.11-58.07 oranında azalmalar tespit edilmiştir. Heshmati ve diğ. (2019) pekmezlerin jelatin ile muamele edilmesi sonrasında bizim bulgularımıza yakın azalma değerleri (aflatoxin B₁, B₂, G₁ ve G₂ için sırasıyla %57.6, 72.5, 72.6 ve 78.0) tespit etmişlerdir.

Lasram ve diğ. (2008) jelatin kullanarak şaraplarda gerçekleştirdikleri durultma işlemi sonucunda okratoksin A mikotoksininin %58 oranında azaldığını bildirmişlerdir. Jelatin suda çözünen ve jel oluşturan bir hidrokolloiddir. Jelatinin aflatoxin adsorpsiyon mekanizması tam olarak bilinmese de, oluşturduğu jel içerisindeki ağı yapılar sayesinde aflatoxin molekülünü adsorbe edebildiği ileri sürülmektedir (Heshmati ve diğ. 2019).

İncir ekstraktlarının, farklı adsorbentlerle %5.0 oranında muamelesi sonrasında tespit edilen aflatoxin azalması Şekil 3.2’de verilen kromatogramdan açıkça görülmektedir.



Şekil 3. 2: İncir ekstraktlarının, farklı adsorbentlerle %5.0 oranında muamesi sonrasında tespit edilen aflatoksin azalmasına ait kromatogram

3.4 Farklı Adsorbent Uygulamalarının İncir Ekstraktlarının Bazı Kalite Parametreleri Üzerine Etkisi

Adsorbent madde uygulaması sonrası, incir ekstraktlarının bazı kalite parametrelerinde meydana gelen değişimler Tablo 3.2’de görülmektedir. Adsorbent uygulaması öncesinde, incir ekstraktlarının ortalama briks değerinin 21.7 ± 0.5 olduğu belirlenmiştir. Adsorbent uygulamaları sonrasında ekstraktların briks değerlerinin 21.1 ± 0.0 - 22.3 ± 0.3 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Farklı adsorbent tiplerinin ve dozlarının incir ekstraktlarının briks değerleri üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$). Bu durumun, kullanılan adsorbentlerin incir ekstraktlarındaki suda çözünür kuru maddenin tamamına yakın bir kısmını oluşturan şekerleri adsorbe etmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Literatürde, adsorbent uygulamalarının benzer gıdalarda (meyve sularında) briks değeri üzerine farklı sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Örneğin; briks değerinin elma sularına aktif karbon uygulaması sonucu azaldığı (Çoklar ve Akbulut 2010, Gökmen ve diğ. 2001) ve vişne sularına kalsiyum ve potasyum karbonat uygulamaları sonucunda arttığı (Yeşilören ve Ekşi, 2015) bildirilmiştir. Üzüm sularının briks değerinin bentonit uygulaması sonucu azaldığı, jelatin uygulaması sonucu değişmediği bildirilmiştir (Gülcü 2008).

Tablo 3. 2: Farklı adsorbent uygulamalarının incir ekstraktlarının bazı kalite parametreleri üzerine etkisi

Adsorbent çeşidi ve dozu	Briks	pH	Titrasyon asitliği	Toplam fenolik madde	Antioksidan aktivite	
Uygulama yapılmamış	21.7±0.5 A	4.39±0.03 D	1.39±0.14 A	1.89±0.36 A	3.06±0.07 A	
Aktif Karbon	%0.1	22.3±0.3 A	4.18±0.01 H	1.03±0.02 BCD	1.50±0.07 ABC	2.77±0.14 AB
	%1.0	22.1±0.5 A	4.20±0.03 GH	0.98±0.02 BCD	1.26±0.10 CD	1.87±0.29 CD
	%5.0	21.6±0.8 A	4.27±0.04 EFG	0.88±0.05 D	1.04±0.01 D	0.59±0.12 F
Bentonit	%0.1	22.3±0.3 A	4.22±0.01 GH	1.07±0.03 BC	1.50±0.07 ABC	2.76±0.23 AB
	%1.0	22.2±0.3 A	4.32±0.04 EF	1.07±0.08 BC	1.26±0.10 CD	2.24±0.25 BC
	%5.0	22.2±0.7 A	4.27±0.06 EFG	0.94±0.10 CD	1.41±0.11 BCD	2.02±0.42 C
Pekmez Toprağı	%0.1	21.9±0.0 A	4.50±0.07 C	0.45±0.09 E	1.41±0.05 BCD	3.02±0.29 A
	%1.0	21.9±0.6 A	5.59±0.05 A	0.38±0.04 E	1.67±0.12 ABC	2.77±0.18 AB
	%5.0	22.2±0.9 A	5.97±0.01 B	0.45±0.16 E	1.70±0.10 AB	3.05±0.26 A
PVP	%0.1	21.1±0.0 A	4.20±0.00 GH	1.11±0.07 B	1.75±0.04 AB	2.97±0.02 A
	%1.0	21.5±1.6 A	4.23±0.02 GH	1.12±0.09 B	1.83±0.33 AB	2.89±0.20 A
	%5.0	21.9±0.5 A	4.20±0.01 GH	1.07±0.05 BC	1.56±0.10 ABC	2.89±0.34 A
Jelatin	%0.1	21.2±0.0 A	4.25±0.00 FGH	1.07±0.05 BC	1.70±0.03 AB	1.30±0.23 E
	%0.5	21.2±0.5 A	4.26±0.01 EFG	1.10±0.02 BC	1.71±0.05 AB	1.40±0.44 DE
	%1.0	21.1±0.0 A	4.33±0.01 DE	1.30±0.04 A	1.72±0.13 AB	2.95±0.26 A

* Titrasyon asitliği “ % susuz sitrik asit “, antioksidan aktivite miktarı “g troloks/kg KM” ve toplam fenolik madde miktarı “g GAE/kg KM” olarak verilmiştir.

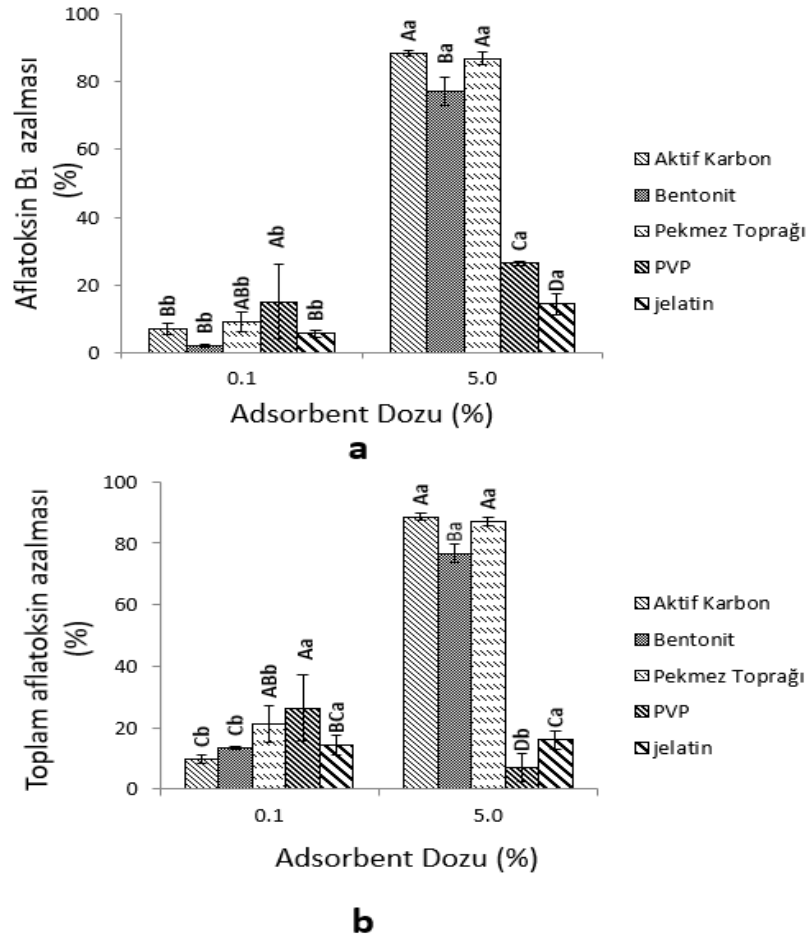
** Herhangi bir adsorbent için; farklı büyük harfler, adsorbentler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05)

Adsorbent madde uygulamalarıyla, incir ekstraktlarının antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarı değerlerinde meydana gelen değişimler Tablo 3.3'de görülmektedir. Adsorbent uygulamaları öncesinde, incir ekstraktlarında antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarı sırasıyla 3.06 ± 0.07 (g troloks/kg KM) ve 1.89 ± 0.36 (g GAE/kg KM) olarak tespit edilmiştir. Tablodan da görülebileceği gibi, aktif karbon ve bentonit adsorbentlerinin %1.0 ve %5.0 dozlarında uygulanmaları halinde, incir ekstraktlarının toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı azalmalar gerçekleşmiştir ($p < 0.05$). Geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda elma sularında aktif karbon (Gökmen ve diğ. 2011) ve üzüm sularında bentonit adsorbentlerinin toplam fenolik madde miktarında azalmalara neden olduğu bildirilmiştir. Çoklar ve Akbulut (2010) elma sularında gerçekleştirdiği 0.5, 1.0 ve 3.0 g/L'lık aktif karbon uygulamaları sonrasında, toplam fenolik madde miktarında %20-75'lik azalmalar gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Tez çalışmamızda, aktif karbon uygulamaları sonucunda incir ekstraktlarında gerçekleştiği tespit edilen %16-45'lik azalmalar söz konusu çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur. Tez çalışmamızda gerçekleştirilen jelatin uygulamalarının incir ekstraktlarının toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerinde azalmalara yol açtığı görülmüş ve bu adsorbentin %0.1 ve %0.5'lik dozlarının antioksidan aktivite değerlerinde meydana getirdiği azalmaların istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar, bu adsorbentin uygulandığı üzüm suyu (Gülcü 2008) ve nar suyu (Erkan Koç ve diğ. 2015) örnekleri için de bildirilmiştir.

3.5 Farklı Adsorbent Uygulamalarının İncir Çekirdeği Yağlarında Aflatoksin Adsorpsiyonu

Aktif karbon, bentonit, pekmez toprağı, PVP ve jelatin uygulamaları sonucunda, incir çekirdeği yağındaki aflatoksin seviyelerinde meydana gelen azalmalar Şekil 3.3'de verilmiştir.



Şekil 3. 3: Farklı adsorbent uygulamalarının incir çekirdeği yağlarındaki aflatoksin düzeyine etkisi (a) Aflatoksin B₁ seviyesindeki yüzde azalmalar, (b) Toplam aflatoksin seviyesindeki yüzde azalmalar

*Herhangi bir adsorbent dozu için; farklı büyük harfler, adsorbentler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$)

**Herhangi bir adsorbent dozu için; farklı küçük harfler, dozlar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$)

***Jelatin adsorbenti %0.1, %0.5 ve %1.0 dozlarında uygulanmıştır.

Şekil 3.3 incelendiğinde, %0.1'lik uygulama dozunda, PVP'nin aflatoksin seviyesinin azaltılmasında en etkili adsorbent olduğu görülmektedir. Bu adsorbentin uygulanması sonucunda, aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin seviyelerinde sırasıyla %15.0 ve %26.5'lik azalmalar gerçekleştiği tespit edilmiştir. %5'lik uygulama dozunda ise, aflatoksin seviyesinin azaltılmasında en etkili adsorbentlerin aktif karbon ve pekmez toprağı olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu adsorbentler; aflatoksin B₁ seviyesinde sırasıyla %88.3 ve %86.3, toplam aflatoksin seviyesinde ise sırasıyla %88.7 ve %87.0'lık azalmalar sağlamışlardır. Bu adsorbentleri,

aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin seviyelerinde sırasıyla %77.1 ve %76.7'lik azalmalar sağlayan bentonit takip etmiştir. PVP ve jelatinin etkisi ise nispeten sınırlı kalmış ve bu adsorbentler aflatoksin B₁ seviyesinde sırasıyla %26.5 ve %14.4'lük, toplam aflatoksin seviyesinde ise sırasıyla %6.9 ve %16.1'lik azalmalar sağlayabilmişlerdir. Jelatin hariç, uygulanan tüm adsorbentlerin dozları arasında tespit edilen fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).

Aflatoksinle kontamine olduğu bilenen gıdalar arasında mısır, yer fıstığı, hindistan cevizi, ayçiçek, zeytin, susam, kolza, fındık, palm vb. bulunmaktadır (Battilani ve diğ. 2016, Bhat ve Reddy 2017, Ghitakou ve diğ. 2006, Lim ve diğ. 2001, Samarajeewa ve Arseculeratne 1983). Tüm bu gıdaların ortak özelliği yağ oranının yüksek olması veya yemeklik yağ üretimi için hammadde olmalarıdır. Bu durum, söz konusu ürünlerin yağlarının da aflatoksinle kontamine olabileceği ihtimalini doğurmaktadır. Nitekim; zeytinyağı (Ghitakou ve diğ. 2006), ayçiçek yağı (Elzupir ve diğ. 2010), susam yağı (Elzupir ve diğ. 2010), yer fıstığı yağı (Elzupir ve diğ. 2010), kanola yağı (Nabizadeh ve diğ. 2018), hindistan cevizi yağında (Samarajeewa ve Arseculeratne 1983) yüksek düzeyde (yasal limitlerin üzerinde) aflatoksin bulunabildiği bildirilmiştir. Bu yağlardaki aflatoksinlerin seviyesinin azaltılması üzerine ışınlama (Mahjoub ve Bullerman 1988, Magzoup ve diğ. 2019, Shantha ve Murthy 1977), fermantasyon (Bai ve diğ. 2018) gibi çeşitli yöntemler denenmiş ve başarılı sonuçlar alınmıştır.

Tohum ve meyvelerin yağa işlenmesi sürecinde önemli basamaklardan biri olan rafinasyon işlemiyle de aflatoksinlerin seviyelerinin azaltıldığı bildirilmiştir (Kamimura ve diğ. 1986). Rafinasyonun ağartma aşamasında, istenmeyen bazı maddelerin (iz metaller, gosipol, pestisit, gam, mum, vb.) uzaklaştırılması amacıyla kullanılan adsorbentlerin, aflatoksinler ve diğer mikotoksinlerin seviyelerinin azaltılmasında da etkili olması muhtemeldir.

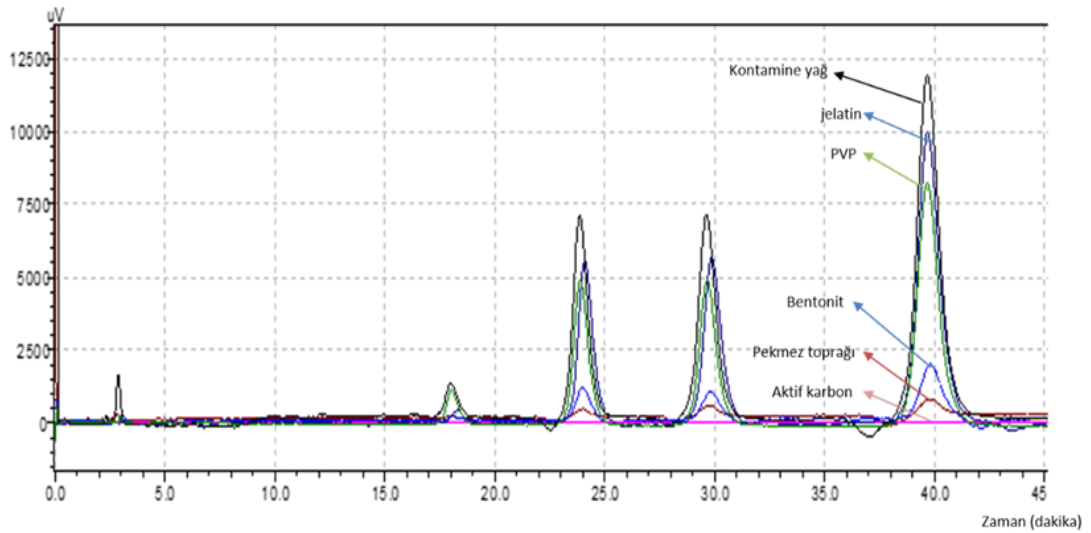
Nitekim, son yıllarda yapılan çalışmalar; pirinç kepeği yağından aflatoksinlerin (Ji ve Xie 2020) ve mısır yağından zearalenon mikotoksininin (Bai ve diğ. 2018) gideriminde yeni geliştirilen adsorbentlerin kullanımını denenmiş ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ye ve diğ. (2013) tarafından yapılan çalışmada kanola yağlarında bulunan aflatoksin B₁'in giderilmesinde montmorilonitin etkili bir adsorbent olduğu tespit edilmiştir. Tarafımızdan gerçekleştirilen çalışmada da, incir

çekirdeği yağında bulunan aflatoksinlerin gideriminde etkili olduğu bulunan bentonitin yapısında yüksek oranda montmorilonit bulunduğu bilinmektedir (İpeklioğlu ve diğ. 1997).

Adsorbentlerin su ve yağ ortamlarındaki davranışlarının farklılık gösterebileceği bir gerçektir. Nitekim, incir ekstraktlarının %0.1'lik dozda aktif karbon ile muamele edilmesi sonucunda, aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin seviyelerinde sırasıyla %96.82 ve %94.93 oranında azalmalar gerçekleşirken, incir çekirdeği yağında sırasıyla %7.11 ve %9.67 oranında azalmalar tespit edilmiştir.

Aktif karbonun, incir çekirdeği yağına %5.0 oranında uygulanması halinde bile, incir ekstraktında ulaşılan azalma değerleri elde edilememiştir. Yağlı tohumlarda aflatoksin varlığı bilinen ve yağlarda bulunduğu ispat edilmiş olmasına rağmen adsorbent kullanılarak toksinlerin giderilmesi üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır.

İncir ekstraktlarının, farklı adsorbentlerle %5.0 oranında muamele sonrasında örneklerde tespit edilen aflatoksin azalması Şekil 3.4'de verilen kromatogramdan açıkça görülmektedir.



Şekil 3. 4: İncir çekirdeği yağlarının, farklı adsorbentlerle %5.0 oranında muamelesi sonrasında örneklerde tespit edilen aflatoksin azalmasına ait kromatogram

3.6 Farklı Adsorbent Uygulamalarının İncir Çekirdeği Yağından Aflatoksinlerin Uzaklaştırılması Üzerine Etkisi

Farklı adsorbent uygulamalarının incir çekirdeği yağında aflatoksinlerin uzaklaştırılması üzerine etkisi Tablo 3.3'te özetlenmiştir. Adsorbent uygulaması yapılmadan önce, incir çekirdeği yağlarının 435.5 ve 459.5 nm'de verdiği absorbans değerleri sırasıyla 0.81 ± 0.0 ve 0.72 ± 0.0 olarak belirlenmiştir. Test edilen adsorbentlerin, incir çekirdeği yağının absorbans değerleri üzerine büyük bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Bu durumun istisnası tek sonuç, aktif karbon uygulamaları sonucunda tespit edilmiştir. Aktif karbon adsorbentinin %0.1 ve %5.0 dozlarında uygulanması sonrasında 459.5 nm'de ölçülen absorbans değerlerinde sırasıyla %20.9 ve %32.1'lik azalmalar görülürken, 435.5 nm'de ise her iki uygulama dozunda %22.2'lik azalmalar tespit edilmiştir. Bu durum; aktif karbonun, incir çekirdeği yağının rengine katkıda bulunan pigmentlerin (klorofiller, karotenoidler vb.) adsorpsiyonunda da etkili olduğunu göstermektedir.

Nitekim, söz konusu adsorbenti içeren bazı karışımların, balık yağında (Monte ve diğ. 2015) ve soya fasulyesi yağında (Undokum ve diğ. 2018) renk açılmalarına neden olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur.

Adsorbent uygulaması yapılmadan önce, incir çekirdeği yağının antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriğinin sırasıyla 103.31 ± 2.97 (g troloks/ kg yağ) ve 0.51 ± 0.09 (g GAE/kg yağ) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.3).

Adsorbent uygulamaları sonucu, incir çekirdeği yağının antioksidan aktivite değerlerinin azaldığı ve bu azalmanın uygulanan adsorbent dozunun artmasıyla arttığı tespit edilmiştir. İncir çekirdeği yağının antioksidan aktivite değerlerinde bentonit uygulaması sonucu meydana gelen azalmalar istatistiksel olarak önemli bulunmazken ($p > 0.05$), jelatin uygulaması sonucu meydana gelen azalmalar %10 civarında sınırlı kalmıştır. Pekmez toprağı ve PVP adsorbentleri, incir çekirdeği yağının antioksidan aktivite değerlerinde sırasıyla %19.3-26.8 ve %36.0-39.3'lük azalmalara neden olmuştur. Pekmez toprağı ve PVP adsorbentleri, incir çekirdeği yağının toplam fenolik madde içeriğinde de önemli düzeyde azalmalara neden olmuş ve sırasıyla %23.1-24.5 ve %42.1-47.5'lik azalmalara yol açmıştır.

İncir çekirdeği yağının antioksidan aktivite değerinde ve toplam fenolik madde içeriğinde en fazla azalmaya neden olan uygulamanın %5'lik aktif karbon adsorbenti uygulaması olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu uygulamayla antioksidan aktivite değerinde %49.0'luk bir azalma meydana gelmiştir. Aktif karbon adsorbentinin %0.1 ve %5.0 dozlarında uygulanması sonrasında, incir çekirdeği yağının toplam fenolik madde içeriğinde sırasıyla %16.3 ve %66.6'lık azalmalar tespit edilmiştir.

Shi ve diğ. (2017), polisiklik aromatik hidrokarbonların giderilmesi amacıyla gerçekleştirdikleri üç farklı aktif karbon uygulaması sonucunda susam yağında bulunan polifenollerin %17.4-29.2 oranında azaldığını bildirmişlerdir.

Tablo 3. 3: Farklı adsorbent uygulamalarının incir çekirdeği yağının bazı kalite parametreleri üzerine etkisi

Adsorbent çeşidi	Uygulama yapılmamış	Aktif karbon		Bentonit		Pekmez toprağı		PVP		Jelatin	
		%0.1	%5.0	%0.1	%5.0	%0.1	%5.0	%0.1	%5.0	%0.1	%1.0
Renk	0.72 ±0.00 B	0.56 ±0.00 E	0.56 ±0.00 E	0.71 ±0.01 C	0.71 ±0.01 C	0.73 ±0.00 A	0.68 ±0.00 D	0.72 ±0.00 B	0.71 ±0.00 C	0.72 ±0.00 B	0.71 ±0.00 C
435.5nm											
Renk	0.81 ±0.00 A	0.64 ±0.01 E	0.55 ±0.01 F	0.79 ±0.01 C	0.80 ±0.01 B	0.81 ±0.00 A	0.77 ±0.00 D	0.81 ±0.00 A	0.80 ±0.00 B	0.80 ±0.00 B	0.80 ±0.00 B
459.5nm											
Antioksidan aktivite	103.31 ±2.97 A	97.54 ±4.07 AB	52.69 ±2.78 F	97.58 ±1.18 AB	96.41 ±0.91 AB	83.34 ±1.05 C	75.64 ±1.93 D	66.12 ±7.62 E	62.69 ±8.05 E	92.86 ±1.53 B	92.50 ±2.92 B
Toplam fenolik madde	0.51 ±0.09A	0.42 ±0.02 BC	0.17 ±0.03 E	0.38 ±0.01 C	0.43 ±0.01 BC	0.39 ±0.01 C	0.38 ±0.01 C	0.29 ±0.05 D	0.27 ±0.03 D	0.41 ±0.01 BC	0.47 ±0.01 AB

Renk değerlerinin belirlenmesinde 435.5 ve 459.5 nm'deki "absorbans", Antioksidan aktivite değeri "g troluks/kg yağ", Toplam fenolik madde miktarı "g GAE/kg yağ" olarak verilmiştir.

*: Herhangi bir adsorbent dozu için, farklı büyük harfler, adsorbentler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Farklı adsorbent uygulamalarının, incir çekirdeği yağının tokoferol içeriği üzerine etkisi Tablo 3.4’de görülmektedir. Adsorbent uygulaması yapılmadan önce, incir çekirdeği yağının gama-, delta- ve alfa-tokoferol içeriklerinin sırasıyla 4060.6±156.6, 155.1±4.8 ve 40.4±1.5 ppm olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, incir çekirdeği yağındaki gama-, delta- ve alfa-tokoferol içeriklerinin sırasıyla 4267, 147 ve 157 ppm olduğunu bildiren Güven ve diğ. (2019)’in verileriyle uyumludur. Aktif karbon ve bentonit adsorbentlerinin %0.1 düzeyinde ve pekmez toprağı, PVP ve jelatin adsorbentlerinin her iki uygulanma düzeyinde uygulanması durumunda, incir çekirdeği yağının tokoferol içeriklerinde istatistiksel açıdan anlamlı değişimler gözlenmemiştir ($p>0.05$). Ancak, %5.0 düzeyinde uygulanan aktif karbon ve bentonit adsorbentlerinin, incir çekirdeği yağının tokoferol içeriklerinde önemli düzeyde azalmalara yol açtığı tespit edilmiştir ($p<0.05$). Söz konusu uygulamalarla, incir çekirdeği yağının gama-, delta- ve alfa-tokoferol içeriklerinde sırasıyla %61.8, %27.7 ve %44.1, ve %20.8, %21.3 ve %18.5’lik azalmalar olduğu tespit edilmiştir. Shi ve diğ. (2017) aktif karbon uygulaması sonucunda susam yağındaki gama-tokoferol düzeyinde bir azalma olduğunu ancak bu azalmanın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Ji ve Xie (2020) kendi geliştirdikleri manyetik grafen oksit adsorbentinin pirinç kepeği yağında uygulanması sonrasında tokoferollerin düzeyinde azalmalar gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Tablo 3. 4: Farklı adsorbent uygulamalarının incir çekirdeği yağında bulunan tokoferoller üzerine etkisi

Adsorbent çeşidi	Uygulama yapılmamış	Aktif karbon		Bentonit		Pekmez toprağı		PVP		Jelatin	
		%0.1	%5.0	%0.1	%5.0	%0.1	%5.0	%0.1	%5.0	%0.1	%1.0
Tokoferoller											
Gama tokoferol	4060.6 ±156,6 A	3853.3 ±358.8 A	1550.6 ±117.1 C	3809.8 ±41.1 A	3214.8 ±594.4 B	4059.9 ±23.4 A	3831.7 ±79.1 A	4046.3 ±37.8 A	4059.6 ±28.0 A	3971.7 ±30.2 A	4054.5 ±45.8A
Delta tokoferol	155.1 ±4.8 A	144.5 ±2.9 AB	109.0 ±2.0 C	143.1 ±6.9 AB	122.8 ±17.8 BC	154.9 ±3.9 A	150.5 ±9.6 A	151.9 ±7.9 A	147.9 ±11.7A	143.1 ±1.1 AB	157 ±8.2A
Alfa tokoferol	40.4 ±1.5 AB	37.8 ±3.5 AB	22.6 ±1.2 C	38.71 ±0.5 AB	32.9 ±7.9 B	40.9 ±0.6 A	39.9 ±2.4 AB	41.3 ±0.4A	40.39 ±0.5 AB	40.2 ±0.7 AB	40.2 ±0.9 AB

Tokoferoller (gama-, delta- ve alfa tokoferol) “ppm” olarak verilmiştir.

*: Herhangi bir adsorbent dozu için, farklı büyük harfler, adsorbentler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Adsorbent uygulamalarıyla, incir çekirdeği yağlarının yağ asidi kompozisyonu değerlerinde meydana gelen değişimler Tablo 3.5'te görülmektedir. Adsorbent uygulamaları öncesinde, incir çekirdeği yağının yağ asidi kompozisyonu; %36.73±2.58 linolenik asit (18:3), %26.78±0.98 linoleik asit (18:2), %22.61±1.67 oleik asit (18:1), %7.89±1.14 palmitik asit (16:0), %4.90±0.67 stearik asit (18:0) ve %1.01±0.16 diğer yağ asitleri olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde, incir çekirdeği yağının yağ asidi kompozisyonunun %32.0-50.0 alfa linolenik asit, %20.0-35.0 linoleik asit, %14.0-24.0 oleik asit, %5.0-9.0 palmitik asit, %2.0-4.0 stearik asit ve diğer yağ asitlerinden oluştuğu bildirilmiştir (Güven ve diğ. 2019). Gerçekleştirilen adsorbent uygulamaları sonucunda; 18 karbonlu yağ asitlerinden çoklu doymamış (18:3 ve 18:2) yağ asitleri genellikle artarken, tekli doymamış (18:1) ve doymuş (18:0) yağ asitleri genellikle azalmıştır. Elde edilen sonuçlar, denenen adsorbentlerin 18 karbonlu yağ asitlerinden doymuş ya da tekli doymamış yağ asitlerini çoklu doymamış yağ asitlerine göre, daha yüksek düzeyde adsorbe ettiğini göstermektedir. Bu durumun; çoklu doymamış yağ asitlerinin akışkanlığının ve dolayısıyla mobilitesinin, doymuş ve tekli doymamış yağ asitlerinin mobilitesinden daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Adsorbent uygulamaları sonrasında, farklı yağ örneklerinin yağ asidi kompozisyonunda artış ve azalışlara neden olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Shi ve diğ.2017, Ji ve Xie 2020).

Tablo 3. 5: Farklı adsorbent uygulamalarının incir çekirdeği yağının yağ asidi kompozisyonu üzerine etkisi

Adsorbent çeşidi	Uygulama yapılmamış	Aktif karbon		Bentonit		Pekmez toprağı		PVP		Jelatin	
		%0.1	%5.0	%0.1	%5.0	%0.1	%5.0	%0.1	%5.0	%0.1	%1.0
Yağ asidi											
Palmitik asit	7.89 ±1.14 BC	6.88 ±0.05 C	6.77 ±0.12 C	6.89 ±0.03 C	9.71 ±1.49 A	6.87 ±0.09 C	8.84 ±1.49 AB	6.91 ±0.03 C	6.82 ±0.08 C	6.86 ±0.03 C	6.86 ±0.02 C
Stearik asit	4.90 ±0.67 A	2.98 ±0.14 C	3.27 ±0.45 C	2.96 ±0.04 C	4.06 ±0.45 B	2.89 ±0.03 C	4.21 ±0.40 B	2.90 ±0.01 C	3.13 ±0.17 C	2.87 ±0.01 C	2.88 ±0.01 C
Oleik asit	22.61 ±1.67 A	18.01 ±0.43 C	18.63 ±0.72 C	18.02 ±0.06 C	20.24 ±1.04 B	17.70 ±0.12 C	20.41 ±0.73 B	17.86 ±0.15 C	18.41 ±0.45 C	17.86 ±0.15 C	17.91 ±0.05 C
Linoleik asit	26.78 ±0.98 C	28.42 ±0.39 A	28.61 ±0.28 A	28.76 ±0.03 A	27.70 ±0.47 B	28.91 ±0.06 A	27.61 ±0.61 B	28.84 ±0.06 A	28.75 ±0.06 A	28.85 ±0.03 A	28.81 ±0.03 A
Alfa linolenik asit	36.73 ±2.58 B	42.80 ±0.26 A	41.96 ±0.88 A	42.66 ±0.08 A	37.48 ±1.19 B	42.99 ±0.13 A	37.95 ±2.02 B	42.87 ±0.11 A	42.17 ±0.57 A	42.94 ±0.08 A	42.92 ±0.04 A
Diğer	1.01 ±0.16 A	0.70 ±0.11 BC	0.77 ±0.10 ABC	0.70 ±0.06 BC	0.80 ±0.13 ABC	0.64 ±0.05 C	0.95 ±0.31 AB	0.62 ±0.05 C	0.72 ±0.12 ABC	0.61 ±0.05 C	0.62 ±0.04 C

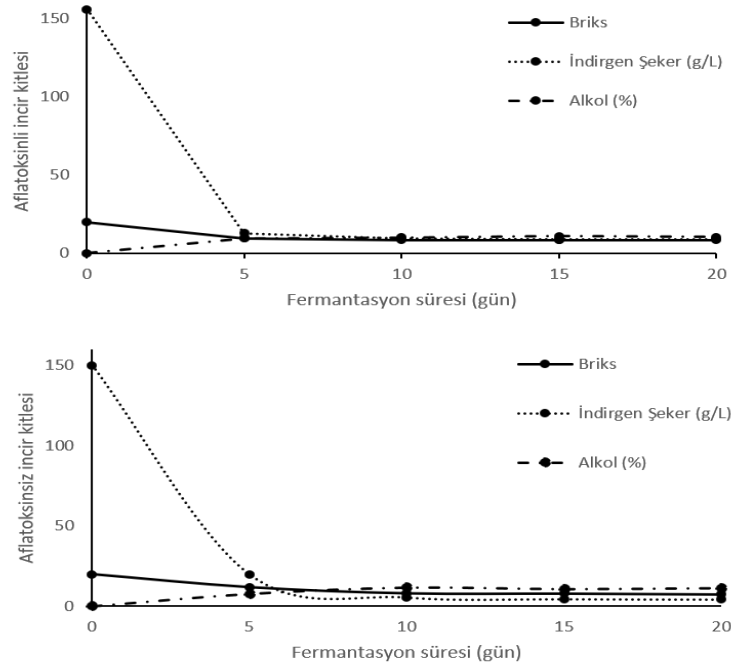
Yağ asidi kompozisyonlar “%” olarak verilmiştir.

*: Herhangi bir adsorbent dozu için, farklı büyük harfler, adsorbentler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

3.7 Aflatoksinli İncir Ekstraktlarının Etil Alkol Üretiminde Kullanılması

Etil alkol fermantasyonu boyunca, aflatoksinli ve aflatoksinsiz incir ekstraktlarının bazı özelliklerinde meydana gelen değişimler Tablo 3.6'da görülmektedir. Bu verilerin değişimi görsel olarak Şekil 3.5'de verilmiştir.

Aflatoksinsiz incir ekstraktlarında, briks ve indirgen şeker değerlerinin fermantasyonun ilk 5 gününde hızla azaldığı, bu azalmanın yavaşlayarak 10. güne kadar sürdüğü, 10. günden sonra ise istatistiksel olarak değişmediği belirlenmiştir. Bu ekstraktlardaki alkol miktarı, fermantasyonun 5. gününde %7.7'ye, 10. gününde ise %11.7'ye kadar istatistiksel açıdan önemli artışlar göstermiş, daha sonra önemli düzeyde değişmemiştir. Aflatoksinli incir ekstraktlarında ise, briks ve indirgen şeker değerlerinin fermantasyonun ilk 5 gününde hızla azaldığı, fermantasyonun kalan sürecinde ise istatistiksel açıdan değişmediği belirlenmiştir.



Şekil 3. 5: Aflatoksinli ve aflatoksinsiz incir ekstraktlarının fermantasyon boyunca briks, indirgen şeker ve alkol miktarında meydana gelen değişimler

Tablo 3. 6: Etil alkol fermantasyonu süresince aflatoksinli ve aflatoksinsiz kuru incirlerdeki briks, indirgen şeker, alkol, aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin seviyelerinin değişimi

Örnek		0. gün	5. gün	10. gün	15.gün	20. gün
Aflatoksinsiz incir	Briks	20 Aa	12.0 ± 0.3 Ab	8.2 ± 0.0 Ac	8.0 ± 0.0 Ac	7.4 ± 0.2 Ac
	İndirgen Şeker	150 Ba	20.0 ± 0.0 Ab	5.6 ± 0.1 Ac	4.6 ± 0.3 Ac	4.3 ± 0.2 Ac
	Alkol	0 Ac	7.7 ± 0.9 Bb	11.7 ± 0.1 Aa	10.8 ± 0.5 Aa	11.4 ± 0.6 Aa
	Aflatoksin B ₁	TSA	-	-	-	-
	Toplam Aflatoksin	TSA	-	-	-	-
Aflatoksinli İncir	Briks	20 Aa	9.6 ± 0.0 Bb	8.6 ± 0.0 Ab	8.5 ± 0.0 Ab	8.50 ± 0.0 Ab
	İndirgen Şeker	156 Aa	12.9 ± 0.7 Bb	9.5 ± 0.5 Ab	8.8 ± 0.1 Ab	8.9 ± 1.0 Ab
	Alkol	0 Ac	9.4 ± 0.1 Ab	10.1 ± 0.1 Bab	10.9 ± 0.2 Aa	10.3 ± 0.3 Aab
	Aflatoksin B ₁	69.33 ± 2.1A	16.16 ± 3.1B	17.38 ± 2.1 B	16.52 ± 1.3 B	17.72 ± 2.3 B
	Toplam Aflatoksin	161.76 ± 0.6 A	56.59 ± 3.8 B	63.11 ± 6.6 B	60.80 ± 2.4 B	66.65 ± 6.3 B

Alkol miktarı “%”, İndirgen şeker “g/L” Aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin miktarı “ppb” olarak verilmiştir.

TSA: Tespit edilebilir seviyenin altında

-: Aflatoksin tespit edilmemiştir.

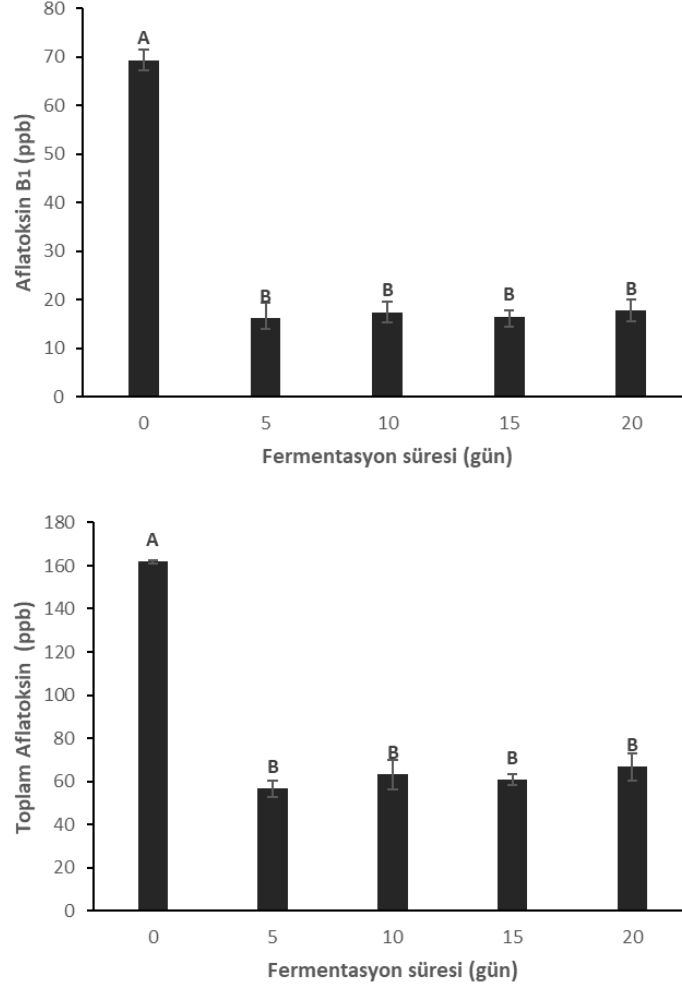
*: Aynı örnekleme gününde; farklı büyük harfle, aflatoksinli ve aflatoksinsiz incir kitleleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

** : İncelenen herhangi bir parametre için; farklı küçük harfle, örnekleme günleri arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Aflatoksinli ekstraktlardaki alkol miktarı, fermantasyonun 5. gününde %9.4'e ulaşmış, kalan süreçte ise önemli düzeyde bir artış gözlenmemiştir. Ancak bu durum zamanla değişmiş ve fermantasyonun 15. ve 20. günlerinde aflatoksinli ve aflatoksinsiz incir kitlelerindeki briks, indirgen şeker ve alkol düzeyleri arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Elde edilen sonuçlar; alkol fermantasyonunun, aflatoksinli incir kitlesinde, aflatoksinsiz incir kitlesine göre, ilk 5 günlük periyotta daha hızlı, sonraki 5 günlük periyotta ise daha yavaş gerçekleştiğini göstermektedir. Bu durum, ortamdaki aflatoksin varlığının; fermantasyonun başında (ilk 5 günlük periyotta) mayanın alkol üretimini teşvik ettiğini ortaya koymaktadır. Bu durumun nedeni olarak tarafımızdan 2 gerekçe önerilmektedir. Birincisi, daha önce içerisinde fungal bir gelişimin gerçekleşmesi nedeniyle incir meyvesinin kompleks yapıdaki şekerlerinin, daha basit yapılı ve kolay fermente edilebilen forma dönüşmüş olması, ikincisi ise ortamdaki aflatoksinin maya üzerinde stres oluşturarak daha fazla alkol üretmesine neden olmasıdır. Ayrıca fermantasyonun 20. gününde aflatoksinli ve aflatoksinsiz incir ekstraktlarında sırasıyla 0.4 (g/L) ve 0.5 (g/L) uçur asit tespit edilmiştir. Tespit edilen uçur asit miktarı 0.35'den büyük olduğu için örneklerin sirkeleşmeye başladığı belirlenmiştir.

Bothast ve diğ. (1992) fumonisinli mısır ekstraktlarının etil alkol fermantasyonunu incelemiş ve 72 saatlik fermantasyon sonunda fumonisinsiz ekstraktlarda, fumonisinli ekstraktlara göre daha fazla alkol üretildiğini tespit etmişlerdir.

Mikotoksinle kontamine ürünlerin etil alkol üretiminde kullanılması fikri, daha önce birkaç araştırmacı tarafından ortaya atılmıştır (Alam ve Deng 2017, Çelikaş 2015, Duman ve Yazıcı 2018). Çünkü, aflatoksin (Csutoras ve diğ. 2014), patulin (Zhang ve diğ. 2019) ve okratoksin A (Piotrowska ve diğ. 2013) gibi mikotoksinlerle kontamine olan ürünlerin fermantasyona uğratılması halinde, bu ürünlerdeki mikotoksinlerin azaldığını bildiren çalışmalar mevcuttur. Tarafımızdan gerçekleştirilen çalışmada da incir ekstraktlarının alkol fermantasyonuna tabi tutulması halinde ekstrakttaki aflatoksin düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir (Tablo 3.6).



Şekil 3. 6: Alkol üretim basamaklarında aflatoksinin adsorpsiyonu

*Fermentasyon sürecinde, farklı büyük harfler, örnek alma periyotları arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$)

Tablo 3.6'da görüldüğü üzere, aflatoxin içeren incir ekstraktarının 5 günlük fermentasyonu sonunda aflatoxin B₁ ve toplam aflatoxin düzeylerinde sırasıyla %76.8 ve %65.1'lik azalma tespit edilmiştir. Bu azalmalar ile başlangıçta 69.33 ± 2.1 ppb ve 161.76 ± 0.6 ppb olan aflatoxin B₁ ve toplam aflatoxin seviyeleri, fermentasyonun 5. gününde sırasıyla 16.16 ± 3.1 ppb ve 59.59 ± 3.8 ppb olarak tespit edilmiştir. Fermentasyonun devamında ise aflatoxinlerde meydana gelen bu azalma devam etmemiş ve daha sonra (fermentasyonun 10., 15., ve 20. günlerinde) alınan örneklerde tespit edilen aflatoxin düzeyleri, 5. günde alınan örneklerdeki aflatoxin düzeylerinde istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Bu durum, aflatoxin azalmasının fermentasyon boyunca değil, fermentasyonun ilk 5 gününde (belki de daha kısa bir sürede) tamamlandığının bir göstergesidir. Nitekim, literatürde

fermantasyon sürecinde okratoksin A mikotoksininin azalmasının 7 günde (Meca ve diğ. 2010) ve aflatoksinlerdeki azalmanın ise 4 günde (Ogunsanwa ve diğ. 1989) tamamlandığını bildiren yayınlar mevcuttur. Tablo 3.6'dan da görüldüğü üzere, incir ekstraktlarının 20 günlük fermentasyonu sonunda dahi 17.7 ± 2.3 ppb aflatoksin B₁ ve 66.7 ± 6.3 ppb toplam aflatoksin içerdiği tespit edilmiştir. Bu durum fermentasyon sürecinde alkol miktarı artsa da, aflatoksin miktarının belli bir değerde kaldığını ve sıfırlanmadığını göstermektedir. Bu sonuç alkol fermentasyonu boyunca gerçekleşen aflatoksin azalmasının kimyasal bir parçalanma değil, esasen bir adsorpsiyon olduğunu göstermektedir. Nitekim, mikotoksin içeren sıvı ortamlara maya ilavesini takiben saatler (Bejaoui ve diğ. 2004, Chlebicz1 ve Slizewska 2020) hatta dakikalar (Gonçalves ve diğ. 2015, Guo ve diğ. 2012) içinde mikotoksin seviyelerinin azaldığını bildiren yayınlar söz konusudur. Ayrıca, mikotoksin adsorpsiyonunda ölü maya hücrelerinin, canlı hücreler kadar hatta daha da etkili olduğu ileri sürülmüştür (Pfliegler ve diğ. 2015). Adsorpsiyondaki temel mekanizmanın, mikotoksinlerin mayanın hücre duvarı bileşenlerine tutunması şeklinde olduğu bildirilmektedir (Shetty ve Jespersen 2006). Bağlanmada etkili olan kuvvetlerin, zayıf Van der Waals bağları, hidrojen bağları veya hidrofobik etkileşimler olabileceği ileri sürülmektedir (Bueno ve diğ. 2007).

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Aflatoksinler ülkemiz ve dünya için ciddi sağlık problemlerine ve ekonomik kayıplara yol açan mikotoksinlerdir. Bu yüksek lisans tezinde, aflatoksinle kontamine olduğu gerekçesiyle imha edilmek üzere ayrılan kuru incirler belirli oranında sulandırılarak incir ekstraktları elde edilmiştir. Elde edilen bu ekstraktlara %0.1, %1.0 ve %5.0 doz aralığında, aktif karbon, bentonit, pekmez toprağı, PVP ve jelatin adsorbentleri uygulanmıştır. Söz konusu uygulamanın incir ekstraktlarındaki aflatoksin düzeylerine ve çeşitli kalite parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir. İncir ekstraktlarındaki aflatoksinlerin azaltılmasında en etkili adsorbentlerin aktif karbon ve bentonit olduğu belirlenmiştir. Bu adsorbentlerin uygulandığı hemen her dozda incir ekstraktlarındaki aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin düzeylerinde %90'dan fazla azalmalar meydana geldiği tespit edilmiştir. Pekmez toprağı adsorbentinin %5.0 oranında uygulanması durumunda, aktif karbon ve bentonit ile elde edilen aflatoksin azalması oranlarına ulaşılmıştır. PVP ve jelatin adsorbenti ise, diğer adsorbentlere göre aflatoksinlerin azaltılmasında sınırlı etki göstermiştir. Adsorbent uygulamaları sonucunda incir ekstraktlarının briks değeri değişmezken, pH ve titrasyon asitliği değerlerinin genellikle azaldığı tespit edilmiştir. Ekstraktların pH ve titrasyon asitliği değerleri üzerine en etkili adsorbentin pekmez toprağı olduğu görülmüştür. Bu adsorbentin uygulanması ile incir ekstraktlarının pH değerlerinin 4.18'den 5.97'ye kadar çıktığı, titrasyon asitliği değerlerinin ise 1.39'dan 0.38'e kadar düştüğü tespit edilmiştir. Aktif karbon ve bentonit adsorbentlerinin %1.0 ve %5.0'lik doz uygulaması sonucunda antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarında ciddi (sırasıyla %81 ve %45'e varan) azalmalar gerçekleşmiş, diğer adsorbent uygulamaları sonucunda ise sınırlı azalmalar gözlenmiştir.

İncir çekirdeği yağı kompozisyonu ve sağlık üzerine etkileri nedeniyle son yıllarda popüler olan yağ çeşitlerinden biridir. Bu durum akıllara, toksinli meyvelerden elde edilecek yağların toksin içerip içermeyeceğini getirmektedir. Aflatoksin kontaminasyonun incir meyvesindeki dağılımını belirlemek amacıyla incirin çekirdeksiz kısmında ve incir çekirdeği yağında ayrı ayrı aflatoksin analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar kontaminasyonun çoğunun meyvenin çekirdeksiz kısmında gerçekleştiğini, bununla beraber incir çekirdeği yağının da

1.31-5.01 ppb düzeyinde aflatoksin B₁ ve 6.91-11.88 ppb düzeyinde toplam aflatoksin ile kontamine olabildiğini göstermiştir. İncir çekirdeği yağındaki aflatoksinlerin azaltılması amacıyla yukarıda belirtilen adsorbentler denenmiştir. İncir çekirdeği yağında, adsorbentlerin düşük dozda (%0.1) uygulanması sonucunda sınırlı düzeyde aflatoksin azalması gözlenirken, yüksek dozda (%5.0) uygulanan aktif karbon, bentonit ve pekmez toprağı adsorbentlerinin incir çekirdeği yağındaki aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksini sırasıyla %88.3, %77.1, %86.3 ve %88.7, %76.7, %87.0 oranında azalttığı belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar göstermiştir ki, ortamın polar ya da apolar olmasının, adsorbentlerin aflatoksinleri tutma yetenekleri üstüne büyük etkisi vardır. Örneğin, incir ekstraktlarına adsorbent uygulanması sonucunda %0.1'lik dozda aktif karbon uygulaması ile %93 oranında toksin azalması sağlanırken incir çekirdeği yağlarında %5'lik dozda dahi bu sonuca ulaşamamıştır. Adsorbent uygulanan incir çekirdeği yağlarının önemli kalite parametreleri üstüne etkileri de tarafımızdan incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, aktif karbon adsorbentinin özellikle %5.0 oranda uygulanması halinde yağların renk, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde ve tokoferol içeriğinde önemli düzeyde azalmalar meydana getirdiğini ortaya koymuştur. İncir çekirdeği yağının toplam fenolik madde içeriğinin denen tüm adsorbent uygulamalarından etkilendiği belirlenmiştir. Gerek %0.1, gerekse %5.0 PVP ve pekmez toprağı uygulamalarıyla incir çekirdeği yağının antioksidan aktivite değerinde, %5.0'lik bentonit uygulaması ile yağların tokoferol içeriğinde önemli düzeyde azalmaya sebep olduğu görülmüştür. Adsorbent uygulamalarının yağ asidi kompozisyonu üzerine etkisi incelendiğinde, 18 C'lu yağ asitlerinden çoklu doymamış (18:3 ve 18:2) yağ asitleri genellikle artarken, tekli doymamış (18:1) ve doymuş (18:0) yağ asitleri genellikle azalmıştır.

Şeker içeriği yüksek, aflatoksinle kontamine olduğu bilinen hammaddelerden alkol üretme fikri mantıklı bir yaklaşımdır. Bu nedenle gerçekleştirilen tez çalışmasında aflatoksinli ve aflatoksinsiz incir ekstraktlarına *S. cerevisiae* ilave edilerek alkol fermantasyonuna tabi tutulmuştur. Söz konusu uygulama ile aflatoksinli incir ekstraktlarının fermantasyonun ilk 5 gününde briks ve indirgen şeker miktarı hızlıca azalırken, alkol miktarında hızlı bir artış meydana gelmiştir. Aflatoksinsiz incirlerde ise, daha düşük seviyede alkol üretimi gerçekleşmiştir. Bu sonuç, ekstrakta bulunan aflatoksinin fermantasyonun ilk 5 gününde alkol üretimini teşvik ettiği ortaya koymuştur. 20 günlük fermantasyon uygulaması sonunda, aflatoksinli ve aflatoksinsiz ekstraktların briks, indirgen şeker ve alkol miktarları

arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Aflatoksinli incir ekstraktlarında fermantasyonun, ilk 5 gününde %78.80 aflatoksin B₁ ve %65.02 toplam aflatoksin azalması tespit edilmiştir. Fermantasyon işleminin devamında ise, (10., 15. ve 20. gün) örneklerdeki aflatoksin miktarında meydana gelen azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Bu durum etil alkol fermantasyonu ile aflatoksin seviyesinde meydana gelen azalmanın nedeninin toksinlerin kimyasal ya da biyolojik olarak parçalanması değil, *S. cerevisiae* tarafından adsorbe edilmesi olduğunu göstermektedir.

Aflatoksinlerin gideriminde ışınlama, ozonlama, ısı uygulamalar, amonyaklama gibi çeşitli yöntemler üzerine çalışılmaktadır. Sözü konusu yöntemlerde, aflatoksin molekülünün yapısının zarar görmesi ve dekontamine edilmiş üründe toksik ara ürünler oluşma riski bulunmaktadır. Aflatoksinle kontamine ürünlere adsorbentlerin ve mayaların ilavesi ile yapısında herhangi bir değişim olmadan toksinin ortamdan uzaklaştırıldığı gerçekleştirilen çalışmalarla ortaya konmuştur.

Bu tez çalışmasında, incir ekstraktlarında ve incir çekirdeği yağlarında bulunan aflatoksinlerin adsorbentlerin kullanımıyla ya da maya ilavesi ile giderilmesi üzerine ümit vadeden sonuçlar elde edilmiştir.

- Kuru incirlerin aflatoksinler dışında başka mikotoksinlerle de (okratoksin A, patulin, fumonisin, sitrinin vb.) kontamine olabileceği bilindiğinden bu toksinlerin de adsorbentlerle ilişkilerinin ve bağlanma mekanizmalarının incelenmesi gerektiği düşünülmektedir.
- Meydana gelen adsorpsiyon olayının sıcaklık, pH gibi faktörlerden nasıl etkilendiği ileride gerçekleştirilecek çalışmalarla ortaya konmalıdır.

KAYNAKLAR

Akman, A., “Şarap Analiz Metotları”, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 33, Ankara, 111 s, (1962).

Aksoy U., "Aflatoksin", Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi, (1990).

Alegakis, A. K., Tsatsakis, A. M., Shtilman, M. I., Lysovenko, D. L., and Vlachonikolis, I. G., “Deactivation of Mycotoxins. I. An in vitro Study of Zearalenone Adsorption on New Polymeric Adsorbents”, *Journal of Environmental Science & Health Part B*, 34(4), 633-644, (1999).

Aly, S. E., Abdel-Galil, M. M., and Abdel-Wahhab, M. A., “Application of Adsorbent Agents Technology in the Removal of Aflatoxin B₁ and Fumonisin B₁ From Malt Extract”, *Food and Chemical Toxicology*, 42(11), 1825-1831, (2004).

Anonim, Background Information on Aflatoxin [online] (02.06.2020), <https://vegetarianz.weebly.com/alfatoxin-content.html>, (2016).

Anonim^b, “Ege Kuru Meyve ve Mamulleri İhracatçıları Birliği 2017/18 Sezonu Çalışma Raporu ve Faaliyet Planı”, (02.06.2020), <https://ticaret.gov.tr/data/5d41e59913b87639ac9e02e8/7a8186fa080b2bc6511e33bd0fa448a.pdf>, (2018).

Anonim, "Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği", 25157 Sayılı Resmi Gazete, (2011).

Anonim, "Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği", 28157 Sayılı Resmi Gazete, (2011).

Anonim, “Türk Standartlar Enstitüsü, Kuru İncir Standartı”, ICS 67.080.10, TS 541, Türk Standartı, (2016).

Anonim, Kavaklıdere Şarapları A.Ş. Araştırma, Geliştirme Laboratuvarı. 2007.

Anonim, Kuru İncir (02.06.2020), https://ticaret.gov.tr/data/5b8700-a513b8761450e18d81/Kuru_Incir.pdf,xxxx, (2018).

Anonim, “Uludağ İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği-Mayıs 2020-İncir Raporu”, (25.08.2020), http://uib.org.tr/tr/kbfile/incir_raporu_mayis_2020, (2020).

AOCS, “Official Methods and Recommended Practices of the AOCS” American Oil Chemists' Society Champaign, IL: Author. (1989).

Bahar, B. and Altuğ, T., “Carry-over of Aflatoxins to Fig Molasses from Contaminated Dried Figs”, *International Journal of Food Properties*, 12(2), 341-346, (2009).

Bai, X., Sun, C., Xu, J., Liu, D., Han, Y., Wu, S. and Luo, X. “Detoxification of Zearalenone From Corn Oil by Adsorption of Functionalized GO Systems”, *Applied Surface Science*, 430, 198-207, (2018).

Bakkalbaşı, E., “Farklı Ambalaj Materyalleri ve Depo Koşullarının Ceviz İçi Bileşimine Etkisi”, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Ankara, (2009).

Banu, N. and Muthumary, J., “Aflatoxin B₁ Contamination in Sunflower Oil Collected from Sunflower Oil Refinery Situated in Karnataka”, *Health*, 2(08), 973, (2010).

Bao, L., Liang, C., Trucksess, M. W., Xu, Y., Lv, N., Wu, Z., Jing, P. and Fry, F.S., “Determination of Aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ in Olive Oil, Peanut Oil, and Sesame Oil Using Immunoaffinity Column Cleanup, Postcolumn Derivatization, and Liquid Chromatography /Fluorescence Detection: Collaborative Study”, *Journal of AOAC International*, 95(6), 1689-1700, (2012).

Battilani, P., Toscano, P., Van der Fels-Klerx, H. J., Moretti, A., Leggieri, M. C., Brera, C., Rortais, A., Goumperis, T. and Robinson, T., “Aflatoxin B₁ Contamination in Maize in Europe Increases Due to Climate Change”, *Scientific Reports*, 6, 24328, (2016).

Becerikli, F. ve Başoğlu, F., “Geleneksel Ürünlerimizden Olan Köftürün Bazı Biyoaktif, Fizikokimyasal ve Kimyasal Özellikleri”, *Gıda/The Journal of Food*, 43(2), (2018).

Bhat, R., and Reddy, K. R. N., “Challenges and Issues Concerning Mycotoxins Contamination in Oil Seeds and Their Edible Oils: Updates From Last Decade”, *Food Chemistry*, 215, 425-437, (2017).

Bilgin, Ö., and Ercüment, K. O. Ç., “Doğal Zeolitlerin Çevre Kirliliği Kontrolünde Kullanımı”, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (1), 169-174, (2013).

Bordin, K., Sawada, M.M., Rodrigues, C.E.C., Da Fonseca, C.R., Oliveira, C.A.F., “Incidence of Aflatoxins in Oil Seeds and Possible Transfer to Oil: A Review”, *Food Eng Rev* 6:20–28, (2014).

Bothast, R. J., Bennett, G. A., Vancauwenberge, J. E. and Richard, J. L., “Fate of Fumonisin B₁ in Naturally Contaminated Corn During Ethanol Fermentation”, *Applied and Environmental Microbiology*, 58(1), 233-236, (1992).

Brand-Williams, W. Cuvelier, M.E. and Berset, C., “Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity”, *Food Science and Technology*, 28, 25-30, (1995).

Bueno, D. J., Casale, C. H., Pizzolitto, R. P., Salvano, M. A. and Oliver, G., “Physical Adsorption of Aflatoxin B₁ by Lactic Acid Bacteria and *Saccharomyces cerevisiae*: a Theoretical Model”, *Journal of Food Protection*, 70(9), 2148-2154, (2007).

Bueno, D. J., Di Marco, L., Oliver, G. and Bardon, A., “In Vitro Binding of Zearalenone to Different Adsorbents”, *Journal of Food Protection*, 68(3), 613-615, (2005).

Büyükşirin, S., “Kuru İncirlerde Küf Florası ve Aflatoksijenik Küflerin Saptanması”, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, İzmir, (1993).

Carraro, A., De Giacomo, A., Giannossi, M. L., Medici, L., Muscarella, M., Palazzo, L., Quaranta, V., Summa, V. and Tateo, F., “Clay Minerals as Adsorbents of Aflatoxin M₁ from Contaminated Milk and Effects on Milk Quality”, *Applied Clay Science*, 88, 92-99, (2014).

Carrasco-Sánchez, V., Kreitman, G. Y., Folch-Cano, C., Elias, R. J. and Laurie, V. F., “Removal of Fumonisin B₁ and B₂ from Model Solutions and Red Wine Using Polymeric Substances.”, *Food Chemistry*, 224, 207-211, (2017).

Carvalho, A.P. and Malcata, F.X., “Preparation of Fatty Acid Methyl Esters for Gas-Chromatographic Analysis of Marine Lipids: insight Studies”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(13), 5049-5059, (2005).

Cecchini, F., Morassut, M., Saiz, J. C. and Garcia-Moruno, E., “Anthocyanins Enhance Yeast’s Adsorption of Ochratoxin A During the Alcoholic Fermentation”, *European Food Research and Technology*, 1-6. (2018).

Celik, I., Oguz, H., Demet, O., Donmez, H. H., Boydak, M. and Sur, E., “Efficacy of Polyvinylpolypyrrolidone in Reducing the Immunotoxicity of Aflatoxin in Growing Broilers”, *British Poultry Science*, 41(4), 430-439, (2000).

Celiktas, M. S., “Sequential Techniques for Aflatoxin Contaminated *Ficus carica* L. to Produce Bioethanol”, *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 9(4), 410-416, (2015).

Coklar, H. and Akbulut, M., “Effect on Phenolics, HMF and Some Physico-Chemical Properties of Apple Juice Concentrate of Activated Carbon Applied at the Different Temperatures” *Journal of Food Process Engineering*, 33(2), 370-383, (2010).

Colangelo, D., Torchio, F., De Faveri, D. M. and Lambri, M., “The Use of Chitosan as Alternative to Bentonite for Wine Fining: Effects on Heat-Stability, Proteins, Organic Acids, Colour, and Volatile Compounds in an Aromatic White Wine”, *Food Chemistry*, 264, 301-309. (2018).

Csutorás, C., Center, E. R. K., Center, E. R. K., Center, E. R. K. and Center, E. R. K., “Large Scale Experiments on the Investigation of the Effect of High Concentrations of Aflatoxin B₁ on the Fermentation of Different Wines”, *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 3(02), 41, (2014).

Çınar, S., Yılmaz, S. N., Aydın, E., and Yorulmaz, A., “Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) 2009-2016 Turkey Report”, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 5(8), 873-882, (2017).

Demir, E. ve Yalçın, H., “Adsorbentler: Sınıflandırma, Özellikler, Kullanım ve Öngörüler”, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 7(2), 70-79, (2014).

Diao, E., Hou, H., Hu, W., Dong, H. and Li, X., “Removing and Detoxifying Methods of Patulin: A review”, *Trends in Food Science & Technology*, 81, 139-145, (2018).

Diaz, D. E., Hagler, W. M., Hopkins, B. A. and Whitlow, L. W. “Aflatoxin Binders I: In vitro Binding Assay for Aflatoxin B₁ by Several Potential Sequestering Agents”, *Mycopathologia*, 156(3), 223-226, (2003).

Djordjević, M., Šereš, Z., Došenović, T., Šoronja-Simović, D., Maravić, N., Kukić, D., Nikolić, I. and Djordjević, M., “Sugar Beet Molasses Purification by Bentonite Addition: Analysis of Quality Enhancement and Treatment Conditions”, *LWT*, 93, 142-149, (2018).

Doster, M. A., Michailides, T. J. and Morgan, D. P., “*Aspergillus* Species and Mycotoxins in Figs from California Orchards”, *Plant Disease*, 80(5), 484-489, (1996).

Duman, A. D., "Kahramanmaraş'ta Kırmızı Biberin Önemi ve Sorunları", *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 5, 111-117, (2002).

Duman, E. and Yazıcı, A. S., "Yaş İncir (Mor Güz-Sarı Lop) Çekirdek ve Çekirdek Yağlarının Fiziko-Kimyasal Özellikleri", *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 28(1), 69-76, (2018).

Elzupir, A. O., Suliman, M. A., Ibrahim, I. A., Fadul, M. H. and Elhussein, A. M., "Aflatoxins levels in vegetable oils in Khartoum State, Sudan", *Mycotoxin Research*, 26(2), 69-73, (2010).

Emenli, İ. ve Gündüz, G. T., "Gıdalarda Bulunan Küflerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler", *Gıda/The Journal of Food*, 44(4), (2019).

Erkan-Koç, B., Türkyılmaz, M., Yemiş, O. and Özkan, M., "Effects of Various Protein-and Polysaccharide-based Clarification Agents on Antioxidative Compounds and Colour of Pomegranate Juice", *Food Chemistry*, 184, 37-45, (2015).

Erzurum, K., "Gıdalarda Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler", *Gıda*, 26(4), (2001).

Fernandes, J. M., Calado, T., Guimarães, A., Rodrigues, M. A. M., & Abrunhosa, L., "In Vitro Adsorption of Aflatoxin B1, Ochratoxin A, and Zearalenone by Micronized Grape Stems and Olive Pomace in Buffer Solutions", *Mycotoxin Research*, 35(3), 243-252, (2019).

Filazi, A., and Avcı, B., "Applications for the Prevention and Detoxification of Mycotoxins in the Food and Feed Industry", *International Journal of Scientific and Technological Research*, 4,10., (2018).

Galvano, F., Piva, A., Ritieni, A. and Galvano, G., "Dietary Strategies to Counteract the Effects of Mycotoxins: A Review", *Journal of Food Protection*, 64(1), 120-131, (2001).

Ghitakou, S., Koutras, K., Kanellou, E. and Markaki, P., “Study of Aflatoxin B₁ and Ochratoxin A Production by Natural Microflora and *Aspergillus parasiticus* in Black and Green Olives of Greek Origin”, *Food Microbiology*, 23(7), 612-621, (2006).

Gil, B., Kim, M., Kim, J. H. and Yoon, S. H., “Comparative Study of Soybean Oil Refining Using Rice Hull Silicate and Commercial Adsorbents”, *Food Science and Biotechnology*, 23(4), 1025-1028, (2014).

Gil, M., Avila-Salas, F., Santos, L. S., Iturmendi, N., Moine, V., Cheynier, V. and Saucier, C., “Rosé Wine Fining Using Polyvinylpolypyrrolidone: Colorimetry, Targeted Polyphenomics and Molecular Dynamics Simulations”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(48), 10591-10597, (2017).

Girgin, G., Başaran, N. ve Şahin, G., “Dünyada ve Türkiye’de İnsan Sağlığını Tehdit Eden Mikotoksinler”, *Deneyisel Biyoloji Dergisi*, 97, (2001).

Gliszczynska-Świgło, A. and Sikorska, E., “Simple Reversed-phase Liquid Chromatography Method for Determination of Tocopherols in Edible Plant Oils”, *Journal of Chromatography A*, 1048(2), 195-198, (2004).

Gonçalves, B. L., Rosim, R. E., de Oliveira, C. A. F. and Corassin, C. H., “The in vitro Ability of Different *Saccharomyces cerevisiae*-Based Products to Bind Aflatoxin B₁”, *Food Control*, 47, 298-300, (2015).

Göçmez, A. ve Seferoğlu, H. G., “Sofralık ve Kurutmalık İncir Kalite Kriterleri ve Kaliteyi Etkileyen Faktörler”, *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 1(1), 98-108, (2014).

Gök, O. ve Mesutoğlu, Ö. Ç., “Adsorpsiyon Kolon Sisteminde Pirina Kullanılarak Ağır Metal Giderimi”, *Journal of Science and Engineering*, 20(60), (2018).

Gökmen, V., Artık, N., Acar, J., Kahraman, N. and Poyrazoğlu, E., “Effects of Various Clarification Treatments on Patulin, Phenolic Compound and Organic Acid Compositions of Apple Juice”, *European Food Research and Technology*, 213(3), 194-199, (2001).

Guo, C., Yue, T., Hatab, S. and Yuan, Y., “Ability of inactivated Yeast Powder to Adsorb Patulin From Apple Juice”, *Journal of Food Protection*, 75(3), 585-590, (2012).

Gülcü, M., “Durultma Yardımcı Maddelerinin Üzüm Suyu Kalitesi Üzerine Etkileri”, Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ, (2008).

Gürhayta, O. ve Çağındı, Ö., “Kurutulmuş Meyvelerde Aflatoksin ve Okratoksin A Varlığının ve Sağlık Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi”, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 12(2), (2015).

Güven, N., Gökyer, A., Koç, A., Temiz, N. N., Selvi, S., Koparal, B., Dedeoğlu, B.D., Büyükhelvacıgil Öztürk, S., Büyükhelvacıgil, H.F., Büyükhelvacıgil, R. ve Erman, C., “Physiochemical Composition of Fig Seed Oil from Turkey”, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7, 541-545, (2019).

Heperkan, D., “Mikotoksinlerin Biyolojik Yöntemler ve Kimyasal Bağlayıcılarla Uzaklaştırılmasındaki Güncel Gelişmeler”, *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, (2006).

Heshmati, A., Ghadimi, S., Ranjbar, A. and Khaneghah, A. M., “Changes in Aflatoxins Content During Processing of Pekmez as a Traditional Product of Grape”, *LWT-Food Science and Technology*, 103, 178-185. (2019).

Halkman, A. K., “Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları”, Başak Matbacılık, (2005)

Ismail, A., Gonçalves, B. L., de Neeff, D. V., Ponzilacqua, B., Coppa, C. F., Hintzsche, H., Sajid, M., Cruz, A.G., Corassin, C.H and Oliveira, C. A., “Aflatoxin in Foodstuffs: Occurrence and Recent Advances in Decontamination”, *Food Research International*, (2018).

İpekoğlu, B., Kurşun, İ., Bilge, Y. and Barut, A., “Türkiye Bentonit Potansiyeline Genel Bir Bakış”, *2. Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu*, 16-17. (1997).

Ji, J. and Xie, W., “Detoxification of Aflatoxin B₁ by Magnetic Graphene Composite Adsorbents from Contaminated Oils”, *Journal of Hazardous Materials*, 381, 120915, (2020).

Joannis-Cassan, C., Tozlovanu, M., Hadjeba-Medjdoub, K., Ballet, N. and Pfohl-Leszkowicz, A., “Binding of Zearalenone, Aflatoxin B₁, and Ochratoxin A by Yeast-Based Products: A Method for Quantification of Adsorption Performance”, *Journal of Food Protection*, 74(7), 1175-1185, (2011).

Joseph, B. and Raj, S. J., “Pharmacognostic and Phytochemical Properties of *Ficus carica* Linn—An Overview”, *International Journal of Pharmtech Research*, 3(1), 8-12, (2011).

Kamimura, L.M., Nishijima, M., Tabata, S., Yasuda, K., Ushiyama, H. and Nishima, J.J., “Survey of Mycotoxin Contamination on Edible Oil and Fate on Mycotoxin During Oil-Refining Processes”, *Food Hygiene Soc Japan*, 27:59–63, (1986).

Karababa, E. and Develi Isikli, N., “Pekmez: a Traditional Concentrated Fruit Product”, *Food Reviews International*, 21(4), 357-366, (2005).

Karaca, H. and Nas, S., "Aflatoxins, Patulin and Ergosterol Contents of Dried Figs in Turkey", *Food Additives and Contaminants*, 23(5), 502-508, (2008).

Karaca, H. and Nas, S., “Combined Effect of pH and Heat Treatment on Degradation of Aflatoxins in Dried Figs”, *Journal of Food Processing and Preservation*, 33, 329-339, (2009).

Karaca, H., “Kuru incirlerin Aflatoksin, Patulin, Ergosterol içeriği ve Farklı Koşullarda Aflatoksinlerin Parçalanma Düzeyleri”, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli, (2005).

Kırıcı, N., “İncir İhracatını Etkileyen Faktörler: Aydın Örneği”, *İktisadi İdari ve Siyasal Araştırmalar Dergisi (İktisat)*, 3(6), 123-138, (2018).

Korkmaz, A. ve Gündüz, G. T., “Meyve ve Sebzelerde UV-C Işık Uygulamaları ile Küf İnhibisyonu”, *Akademik Gıda*, 16(4), 458-469, (2018).

Laksameethanasana, P., Somla, N., Janprem, S. and Phochuen, N., “Clarification of Sugarcane Juice for Syrup Production”, *Procedia Engineering*, 32, 141-147. (2012).

Lasram, S., Mani, A., Zaied, C., Chebil, S., Abid, S., Bacha, H., Mliki, A. and Ghorbel, A., “Evolution of Ochratoxin A Content During Red and Rose Vinification”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(10), 1696-1703, (2008).

Lemke, S. L., Ottinger, S. E., Mayura, K., Ake, C. L., Pimpukdee, K., Wang, N. and Phillips, T. D., “Development of a Multi-Tiered Approach to the in Vitro Prescreening of Clay-Based Enterosorbents”, *Animal Feed Science and Technology*, 93(1-2), 17-29, (2001).

Lim, H. A., Ng, W. K., Lim, S. L. and Ibrahim, C. O., “Contamination of Palm Kernel Meal with *Aspergillus flavus* Affects its Nutritive Value in Pelleted Feed for Tilapia, *Oreochromis Mossambicus*”, *Aquaculture Research*, 32(11), 895-905, (2001).

Luo, Y., Li, Z., Yuan, Y. and Yue, T., “Bioadsorption of Patulin from Kiwi Fruit Juice Onto a Superior Magnetic Chitosan”, *Journal of Alloys and Compounds*, 667, 101-108, (2016).

Magnoli, A. P., Tallone, L., Rosa, C. A., Dalcero, A. M., Chiacchiera, S. M. and Sanchez, R. M. T., “Commercial Bentonites as Detoxifier of Broiler Feed Contaminated with Aflatoxin”, *Applied Clay Science*, 40(1-4), 63-71, (2008).

Magzoub, R. A. M., Yassin, A. A. A., Abdel-Rahim, A. M., Gubartallah, E. A., Miskam, M., Saad, B. and Sabar, S., “Photocatalytic Detoxification of Aflatoxins in Sudanese Peanut Oil Using Immobilized Titanium Dioxide”, *Food Control*, 95, 206-214, (2019).

Mahjoub, A.M. and Bullerman, L.B., “Effects of Storage Time, Sunlight, Temperature and Frying on Stability of Aflatoxin B₁ in Olive Oil”, *LWT-Food Science and Technology*, 21 429–435, (1988).

Maskan, M. and Bağcı, H. İ., “Kızartma İşleminde Kullanılan Ayçiçek Yağının Çeşitli Adsorbantlar Yardımıyla Arındırılması”, Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, 24-26, (2006).

Meca, G., Blaiotta, G. and Ritieni, A., “Reduction of Ochratoxin A During the Fermentation of Italian Red Wine Moscato”, *Food Control*, 21(4), 579-583, (2010).

Monte, M. L., Monte, M. L., Pohndorf, R. S., Crexi, V. T. and Pinto, L. A., “Bleaching With Blends of Bleaching Earth and Activated Carbon Reduces Color and Oxidation Products of Carp Oil”, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(6), 829-836, (2015).

Moss, M. O., “Risk Assessment for Aflatoxins in Foodstuffs”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 50(3-4), 137-142. (2002).

Nabizadeh, S., Shariatifar, N., Shokoohi, E., Shoeibi, S., Gavahian, M., Fakhri, Y., Azari, A. and Khaneghah, A. M., “Prevalence and Probabilistic Health Risk Assessment of Aflatoxins B₁, B₂, G₁, and G₂ in Iranian Edible Oils”, *Environmental Science and Pollution Research*, 25(35), 35562-35570, (2018).

Nadhiro, U., S. Subekti, and W. Tjahjaningsih. "Quality Characteristics of Bali sardinella (*Sardinella lemuru*) Oil Purified with Bentonite as an Adsorbent." *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Vol. 137. No. 1. IOP Publishing, (2018).

Nakilcioğlu-Taş, E., "Biochemical Characterization of Fig (*Ficus carica* L.) Seeds", *Journal of Agricultural Sciences*, 25(2), 232-237, (2019).

Nasehi, S. M., Ansari, S. and Sarshar, M., "Removal of Dark Colored Compounds from Date Syrup Using Activated Carbon: A kinetic study", *Journal of Food Engineering*, 111(3), 490-495, (2012).

Ogunsanwo, B. M., Faboya, O. O., Idowu, O. R., Ikotun, T. and Akano, D. A., "The Fate of Aflatoxins During the Production of "Ogiri", a West African Fermented Melon Seed Condiment from Artificially Contaminated Seeds", *Food/Nahrung*, 33(10), 983-988. (1989).

Oğuz, H., "Mikotoksinler ve Önemi. Türkiye Klinikleri", *Journal of Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics*, 3(2), 113-119, (2017).

Oruç, H. H., "Mikotoksinler ve Tanı Yöntemleri", *Uludağ University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*, 24(1-4), 105-110, (2005).

Özçakmak, S. ve Dervişoğlu, M., "Fındıkta Aflatoksin Oluşumuna Etkili Faktörler, Avrupa Birliğinin Limit Değerlerle İlgili Düzenlemeleri ve Türk Fındığı İhracatına Etkileri", *Gıda*, 32(1), 33-40, (2007).

Özer, H., "Fındıklara Uygulanan Fiziksel ve Isıl Süreçlerin Aflatoksinler Üzerine Etkisi", Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul (2009).

Özkaya Ş. and Temiz A., "Aflatoksinler: Kimyasal Yapıları, Toksisiteleri ve Detoksifikasyonları", *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1, 1-21, (2003).

- Öztekin, S., Işıkber, A. A., Zorlugenç, B., Zorlugenç, F. K., Ulusoy, R., Satar, S. ve Fenercioğlu, H., “Ozon Uygulamasının Kuru İncirde Mikrobiyel Flora, Aflatoksin B₁ ve Değirmen Güvesi (*Ephestia kühniella* Zeller) Üzerine Etkileri”, *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi*, 3(3), 169-177, (2007).
- Pankaj, S. K., Shi, H. and Keener, K. M., “A review of Novel Physical and Chemical Decontamination Technologies for Aflatoxin in Food”, *Trends in Food Science & Technology*, 71, 73-83, (2018).
- Park, D.L., Njapau, H. and Boutrif, E., "Minimizing Risks Posed by Mycotoxins Utilizing the HACCP Concept", *International Information System for the Agricultural Science and Technology*, 49-54. (1999).
- Permana, T., Noor, E. and Arkeman, Y., “Evaluation of Kinetic Models of Beta-Carotene Adsorption from Palm Oil onto Bentonite”, *International Journal of Scientific & Technology Research*, 7-(4),23-31, (2018).
- Pfliegler, W. P., Pusztahelyi, T. and Pócsi, I., “Mycotoxins–Prevention and Decontamination by Yeasts”, *Journal of Basic Microbiology*, 55(7), 805-818, (2015).
- Phillips, T. D., Wang, M., Elmore, S. E., Hearon, S. and Wang, J. S. “NovaSil Clay for the Protection of Humans and Animals from Aflatoxins and Other Contaminants”, *Clays and Clay Minerals*, 67(1), 99-110, (2019).
- Piotrowska, M., Nowak, A. and Czyzowska, A., “Removal of Ochratoxin A by Wine *Saccharomyces cerevisiae* Strains”, *European Food Research and Technology*, 236(3), 441-447, (2013).
- Qi, N., Yu, H., Yang, C., Gong, X., Liu, Y. and Zhu, Y., “Aflatoxin B₁ in Peanut Oil from Western Guangdong, China, During 2016–2017”, *Food Additives & Contaminants: Part B*, 12(1), 45-51, (2019).

RASFF, “Rapid Alert System for Food and Feed”, Annual Report on Functioning of the RASFF, EU Report, EU Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General, (2017).

RASFF, “Rapid Alert System for Food and Feed”, Annual Report on Functioning of the RASFF, EU Report, EU Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General, (2018).

Samarajeewa, U. and Arseculeratne, S. N., “A Survey of Aflatoxin Contamination of Coconut Products in Sri Lanka; Incidence, Origins and Recommendations”, *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 11(2),225-235, (1983).

Shantha, T. and Sreenivasa-Murthy V., “Photo-Degradation of Aflatoxin in Groundnut Oil”, *Indian Journal of Science and Technology*, 15 453–454, (1977).

Shephard, G. S., “Aflatoxins in Peanut Oil: Food Safety Concerns”, *World Mycotoxin Journal*, 11(1), 149-158, (2018).

Shetty, P. H., and Jespersen. L., “*Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents”, *Trends Food Science and Technology*, 17:48–55, (2006).

Shi, L. K., Zheng, L., Jin, Q. Z. and Wang, X. G., “Effects of Adsorption on Polycyclic Aromatic Hydrocarbon, Lipid Characteristic, Oxidative Stability, and Free Radical Scavenging Capacity of Sesame Oil”, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(12), 1700150, (2017).

Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R. M., “Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent”, *In Methods in Enzymology (Academic press)*, Vol. 299, pp. 152-178, (1999).

Soufiani, G. N., Razmara, M., Kermanshahi, H., Velázquez, A. B. and Daneshmand, A., “Assessment of Aflatoxin B₁ Adsorption Efficacy of

Natural and Processed Bentonites: in vitro and in vivo Assays”, *Applied Clay Science*, 123, 129-133, (2016).

Stroka, J., Anklam, E., Jörissen, U. and Gilbert J., “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, (2000).

Stroud, J. S., “The effect of feed additives on aflatoxin in milk of dairy cows fed aflatoxin-contaminated diets”, Master Thesis, Animal Science and Nutrition, North Carolina State University, North Carolina, (2007).

Şen, L. ve Nas, S., “Kuru İncir, Üzüm ve Kırmızıbiberlerde Mikotoksin Varlığı”, *Akademik Gıda*, 8(3), 24-32, (2010).

Tabata, S., Kamimura, H., IBE, A., Hashimoto, H. and Tamura, Y., “Degradation of Aflatoxins by Food Additives”, *Journal Food Protect*, 57, 42–47, (1994).

Tabari, G.D., Kermanshahi, H., Golian, A. and Majidzadeh Heravi, R., “In vitro Binding Potentials of Bentonite, Yeast Cell Wall and Lactic Acid Bacteria for Aflatoxin B₁ and Ochratoxin A.”, *Iranian Journal of Toxicology*”, 12(2), 7-13, (2018).

Taheur, F. B., Fedhila, K., Chaieb, K., Kouidhi, B., Bakhrouf, A. and Abrunhosa, L., “Adsorption of Aflatoxin B₁, Zearalenone and Ochratoxin A by Microorganisms Isolated from Kefir Grains”, *International Journal of Food Microbiology*, 251, 1-7, (2017).

Temel, F. A., “The Use of Expanded Perlite for Pb (II) removal from Industrial Leachate: Kinetic Studies”, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 6(3), 360-364, (2018).

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. and Byrne, D. H., “Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC Assays for Estimating Antioxidant Activity From Guava Fruit Extracts”, *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675, (2006).

- Topal, S., Aran, N. ve Pembeci, C., “Türkiye’nin Tarımsal Mikroflorasının Mikotoksin Profilleri”, *Gıda*, 24(2), (1999).
- Topal, Ş., “Gıdalarda Bulunan Önemli Toksik Küfler ve Sağlık Açısından Değerlendirilmesi”, *Gıda*, 11(6), (1986).
- Topcu, A., Bulat, T., Wishah, R. and Boyacı, I. H., “Detoxification of Aflatoxin B₁ and Patulin by *Enterococcus faecium* Strains”, *International Journal of Food Microbiology*, 139(3), 202-205, (2010).
- Udomkun, P., Innawong, B., Siasakul, C. and Okafor, C., “Utilization of Mixed Adsorbents to Extend Frying Oil Life Cycle in Poultry Processing”, *Food Chemistry*, 248, 225-229, (2018).
- Villalobos, M. C., Serradilla, M. J., Martín, A., Pereira, C., López-Corrales, M. and Córdoba, M. G., “Evaluation of Different Drying Systems as an Alternative to Sun Drying for Figs (*Ficus carica* L)”, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 36, 156-165, (2016).
- Wang, M., Hearon, S. E. and Phillips, T. D., “A High Capacity Bentonite Clay for the Sorption of Aflatoxins”, *Food Additives & Contaminants: Part A*, 37(2), 332-341, (2020).
- Wen, J., Mu, P. and Deng, Y., “Mycotoxins: Cytotoxicity and Biotransformation in Animal Cells”, *Toxicology Research*, 5(2), 377-387, (2016).
- Wilson, K., Yang, H., Seo, C. W. and Marshall, W. E., “Select Metal Adsorption by Activated Carbon Made from Peanut Shells”, *Bioresource Technology*, 97(18), 2266-2270, (2006).
- Wright, M. S., Greene-McDowelle, D. M., Zeringue Jr, H. J., Bhatnagar, D. and Cleveland, T. E., “Effects of Volatile Aldehydes from *Aspergillus*-Resistant Varieties of Corn on *Aspergillus parasiticus* Growth and Aflatoxin Biosynthesis”, *Toxicon*, 38(9), 1215-1223, (2000).

Ye, S.Q., Chen, G., Han, X.S., “Influence of Edible Oils Adsorption Decolorant on the Content of Aflatoxin in Vegetable Oils”, *Fine and Specialty Chemicals* 7, 20–22, (2013).

Yentür, G. ve Er, B., “Gıdalarda Aflatoksin Varlığının Değerlendirilmesi”, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69 (1), 41-52, (2012).

Yeşilören, G. ve Ekşi, A., “Vişne Suyu Asitliğinin Azaltılması için Nötralizasyon Alternatifi”, *Gıda/The Journal of Food*, 40(3), (2015).

Yıkılmaz, F., “Tekirdağ İlinde Satışa Sunulan Kuru incirlerde Aflatoksin Varlığı”, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ, (2007).

Zhang, Z., Li, M., Wu, C. and Peng, B., “Physical Adsorption of Patulin by *Saccharomyces cerevisiae* During Fermentation”, *Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 2326-2331, (2019).

5. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : ŞEYDA ŞENTÜRK

Doğum Yeri ve Tarihi : DENİZLİ, 07.08.1994

Lisans Üniversite : EGE ÜNİVERSİTESİ (2017)

Elektronik posta : seydasenturk@gmail.com

İletişim Adresi : Kaplanlar Mah.1071 Sok. No:20/
Pamukkale -Denizli

Yayın Listesi :

- Şentürk, Ş., Öztürk, B., Yücel Şengün, İ., “The Use of Essential Oils in Incubator Disinfection”, *Uluslararası Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Kongresi*, 10-11 Mayıs, Konya, Türkiye, (2017).
- Senturk, S. and Karaca, H., “Illegal Use Of Hydrogen Peroxide in Dried Figs”, *The Food System Approach: New Challenges for Education, Research and Industry, (ISEKI- Food Association)*, 3-5 July, Stuttgart, Germany, (2018).