



T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**İNTERNET ÜZERİNDEN SATIŞA SUNULAN EL YAPIMI KABUKLU
KURUYEMİŞ EZMELERİNİN HPLC-FLD DEDEKTÖRÜ KULLANILARAK
AFLATOKSİN DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NAZİFE GÜL ÇAĞLAR

**HAZİRAN 2020
GÜMÜŞHANE**

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

İNTERNET ÜZERİNDEN SATIŞA SUNULAN EL YAPIMI KABUKLU
KURUYEMİŞ EZMELERİNİN HPLC-FLD DEDEKTÖRÜ KULLANILARAK
AFLATOKSİN DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nazife Gül ÇAĞLAR

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
“Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı”
Yüksek Lisans Programında Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 01.07.2020

Tezin Sözlü Savunma Tarihi: 14.07.2020

HAZİRAN 2020

TEZ BEYANNAMESİ

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda tezin yazımına ait kurallara uygun olarak hazırladığım **“İnternet Üzerinden Satışa Sunulan El Yapımı Kabuklu Kuruyemiş Ezmelerinin HPLC-FLD Dedektörü Kullanılarak Aflatoksin Düzeylerinin Belirlenmesi”** isimli yüksek lisans tezi çalışmasında; söz konusu tüm bilgi ve belgeleri genel akademik kurallara göre elde ettiğimi, görsel ve yazılı bütün bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğumu, başka kaynaklardan yararlandığım bilgileri metin ve kaynaklarda eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma süresince bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksi durumda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 18/06/2020

Nazife Gül ÇAĞLAR

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İNTERNET ÜZERİNDEN SATIŞA SUNULAN EL YAPIMI KABUKLU
KURUYEMİŞ EZMELERİNİN HPLC-FLD DEDEKTÖRÜ KULLANILARAK
AFLATOKSİN DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

Nazife Gül ÇAĞLAR

Gümüşhane Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Bülent AKAR

2020, 68 sayfa

İnsanlarda ve hayvanlarda kanserojenik etki ve daha birçok sağlık sorununa neden olan Aflatoksinlerin; Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde kabuklu yemişler ve bunları içeren ürünlerde bulunabilecek Aflatoksin B₁ ile Aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ toplamaları için maksimum kalıntı limitleri belirtilmiş olup yurt içi piyasa denetimleri ile ithalat denetimlerinde bu değerler referans alınmaktadır. Bu çalışma ile denetim mekanizması dışında kalma ihtimali yüksek olan, hammadde kaynağının ve üretim koşullarının belli olmadığı, küçük ölçekli olarak üretilen, bazı kuruyemiş ezmelerinin e-ticaret kanalları üzerinden temin edip aflatoksin içeriğinin maksimum kalıntı limit düzeylerine uygunluğunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışma için immunoaffinite kolonda tutulan aflatoksinler bromla türevlendirme ünitesi (Kobracell), yüksek performanslı sıvı kromatografisi ve florasan dedektör (IAC+HPLC+KOBRACELL+FLD) kullanımını içeren AOAC 991:31 standart yöntemi kullanılarak miktar tespiti yapılmıştır. Ürün analizlerine geçilmeden önce yöntem cihaz ve laboratuvar için doğrulanmıştır.

Sosyal medya hesapları üzerinden temin edilen ve yukarıda bahsedildiği şekilde hazırlanan fındık, yer fıstığı, antep fıstığı, badem ve kaju ezmeleri incelenmiştir. Çalışılan örneklerden 5 adet yer fıstığı Türk Gıda Kodeksine göre uygun değilken fındık, Antep fıstığı, badem ve kaju ezmesi örnekleri uygun olarak değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak kuruyemiş ezmelerinin bazılarının aflatoksin içeriğinin Türk Gıda Kodeks'indeki maksimum kalıntı limit düzeylerinin üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Aflatoksin, HPLC, Kodeks, Kabuklu Kuru Yemiş Ezmesi

ABSTRACT

MS THESIS

DETERMINATION OF AFLATOXIN LEVELS OF THE HANDMADE SHELLLED NUT PASTES FOR SALE ON THE INTERNET WITH USING THE HPLC-FLD DETECTOR

Nazife Gül ÇAĞLAR

Gümüşhane University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Asst. Prof. Bülent AKAR

2020, 68 pages

Aflatoxins cause carcinogenic effects and many other health problems in humans and animals. According to the Turkish Food Codex Regulation, maximum residue limits of Aflatoxin B1 and total of Aflatoxin B1, B2, G1 and G2 on shelled nut and other some products containing them are specified and these values are taken in controls of export and import as reference.

In the study, it is aimed to determine the compatibility of to the maximum residue limit levels of aflatoxin amount in some shelled nut paste. Through e-commerce channels, the products were from small scale production sites that are likely to be out of the control mechanism and raw material source and production conditions were unknown. For this study, determination of aflatoxin amount was performed with using AOAC 991:31 standard method which includes the use of aflatoxins retained in the immunoaffinity

column bromine derivatization unit (Kobracell), high performance liquid chromatography and fluorescent detector (IAC + HPLC + KOBRACELL + FLD). The method was validated for the device and laboratory before proceeding to product analysis.

Pastes of hazelnuts, peanuts, pistachios, almonds and cashew nuts were provided from internet social media accounts. and it were determined aflatoxin amount of the pastes as mentioned above the method. According to the results obtained from all samples, 5 of peanuts are not suitable for Turkish Food Codex, while aflatoxin content of hazelnut, pistachio, almond and cashew paste samples were measured under maximum residue limit levels.

As a result, it has been determined that the aflatoxin content of some of the nut pastes are above the maximum residue limit levels in the Turkish Food Codex.

Keywords: Aflatoxin, HPLC, Codex, Shelled nut paste

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Yüksek lisans öğrenciliğim ve tez çalışmalarım süresince tüm bilgi ve birikimleri ile beni motive eden ve cesaretlendiren; değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Bülent AKAR ile görüş ve yorumlarıyla yardımcı olan değerli hocam Doç. Dr. Cemalettin BALTAÇI hocalarıma sabır ve katkılarından ötürü çok teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca beni cesaretlendiren, uzakta olduğum zamanlarda dahi yanımda hissettiren, varlıklarına hep şükrettiğim canım annem Türkan ÇAĞLAR, canım babam Nihat ÇAĞLAR, kadeşlerim Mehmet Onur ÇAĞLAR ve Elif Kaynar ÇAĞLAR iyi ki varsınız.

Ayrıca tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Trabzon Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'ne ve tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Nazife Gül ÇAĞLAR

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	VI
TEŞEKKÜR	VIII
İÇİNDEKİLER.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
TABLolar DİZİNİ.....	XII
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIV
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Kuruyemişler	2
1.2.1. Fındık.....	3
1.2.2. Yer Fıstığı.....	4
1.2.3. Antep Fıstığı	5
1.2.4. Badem.....	6
1.2.5. Kaju	7
1.3. Mikotoksinler	8
1.3.1. Aflatoksinler	10
1.4. Kromatografi	13
1.4.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	13
1.4.2. Validasyon/ Verifikasyon ve Ölçüm Belirsizliği	14
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	18
2.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar.....	18
2.1.1. Kullanılan Cihazlar.....	18
2.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Diğer Malzemeler.....	18
2.2. Örneklerin Temin Edilmesi	19

2.3.	Numunelerin Hazırlanması	19
2.4.	Aflatoksin Analizi	19
2.4.1.	Ekstraksiyon	20
2.4.2.	İmmunoaffinite Kolon	20
2.4.3.	Geri Alma ve Dilisyon	20
2.4.4.	Kromatografi	20
2.4.5.	Kalibrasyon ve Lineerlik	21
2.4.6.	Verifikasyon	22
3.	BULGULAR	27
3.1.	Verifikasyon Sonuçları	27
3.1.1.	Kalibrasyon ve Doğrusallık	27
3.1.2.	Tayin Limiti - Ölçüm Limiti	29
3.1.3.	Kesinlik Çalışması	30
3.1.4.	Doğruluk	46
3.2.	Kuruyemiş Numunelerini Aflatoksin İçerikleri	53
4.	TARTIŞMA	58
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	62
6.	KAYNAKLAR	63
7.	EKLER	69
	ÖZGEÇMİŞ	150

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. En önemli aflatoksinlerin kimyasal yapıları	11
Şekil 2.1. Kullanılan standart referans madde bilgileri	19
Şekil 3.1. Lineerlik aralığı çalışması (Aflatoksin B ₁).....	28
Şekil 3.2. Lineerlik aralığı çalışması (Aflatoksin B ₂)	28
Şekil 3.3. Lineerlik aralığı çalışması (Aflatoksin G ₁)	28
Şekil 3.4. Lineerlik aralığı çalışması (Aflatoksin G ₂)	29
Şekil 3.5. AFB ₁ ve TAF sonuçlarının temel bileşen analizi	57

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1.1. Kuruyemiş sektörü iç pazar büyüklüğü	3
Tablo 1.2. Başlıca mikotoksin üreten cinsler ve ürettikleri mikotoksinler	9
Tablo 2.1. Kalibrasyon için cihaza enjekte edilen miktarlar	22
Tablo 2.2. Tekrarlanabilirlik Horwitz eşitliğinden hesaplanan rölatif standart sapma tablosu	24
Tablo 2.3. Tekrar üretilebilirlik Horwitz eşitliğinden hesaplanan rölatif standart sapma tablosu.....	24
Tablo 2.4. Bir analit konsantrasyonuna göre beklenen geri kazanım oranları.....	25
Tablo 3.1. Konsantrasyon ve karşılık gelen alan değerleri	27
Tablo 3.2. Analitlere karşılık gelen korelasyon katsayıları	29
Tablo 3.3. Tayin limiti ve ölçüm limiti çalışmaları	30
Tablo 3.4. Fıstık ezmesi tekrarlanabilirlik çalışması (Aflatoksin B ₁)	32
Tablo 3.5. Fıstık ezmesi tekrarlanabilirlik çalışması (Aflatoksin B ₂)	33
Tablo 3.6. Fıstık ezmesi tekrarlanabilirlik çalışması (Aflatoksin G ₁)	34
Tablo 3.7. Fıstık ezmesi tekrarlanabilirlik çalışması (Aflatoksin G ₂)	35
Tablo 3.8. Fıstık ezmesi tekrarlanabilirlik çalışması (Toplam Aflatoksin)	36
Tablo 3.9. Fıstık tekrarlanabilirlik F testi sonuçları	37
Tablo 3.10. Fıstık ezmesi tekrar üretilebilirlik çalışması (Aflatoksin B ₁).....	38
Tablo 3.11. Fıstık ezmesi tekrar üretilebilirlik çalışması (Aflatoksin B ₂).....	40
Tablo 3.12. Fıstık ezmesi tekrar üretilebilirlik çalışması (Aflatoksin G ₁).....	42
Tablo 3.13. Fıstık ezmesi tekrar üretilebilirlik çalışması (Aflatoksin G ₂).....	43
Tablo 3.14. Fıstık ezmesi tekrar üretilebilirlik çalışması (Toplam Aflatoksin)	45
Tablo 3.15. Fıstık ezmesi tekrar üretilebilirlik F testi sonuçları	46
Tablo 3.16. Fıstık ezmesi geri alma çalışması (Aflatoksin B ₁)	47
Tablo 3.17. Fıstık ezmesi geri alma çalışması (Aflatoksin B ₂)	48
Tablo 3.18. Fıstık ezmesi geri alma çalışması (Aflatoksin G ₁)	49
Tablo 3.19. Fıstık ezmesi geri alma çalışması (Aflatoksin G ₂)	50
Tablo 3.20. Fıstık ezmesi geri alma çalışması (Toplam Aflatoksin)	51
Tablo 3.21. Fıstık ezmesi aflatoksin B ₁ toplam belirsizlik hesabı	52
Tablo 3.22. Fıstık genel belirsizliği (Aflatoksin B ₂)	52

Tablo 3.23.	Fıstık genel belirsizliği (Aflatoksin G ₁)	53
Tablo 3.24.	Fıstık genel belirsizliği (Aflatoksin G ₂)	53
Tablo 3.25.	Numune aflatoksin B ₁ sonuçları	54
Tablo 3.26.	Numune toplam aflatoksin sonuçları	55

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%R	: % Geri Alma
AOAC	: Amerika Resmi Analitik Kimyacılar Birliği (Association of Official Agricultural Chemists)
AFB1	: Aflatoksin B ₁
ATA	: Alimentary Toxic Aleukie hastalığı
c	: Analiz Sonucu
C	: Kütle Fraksiyonu
CRM	: Sertifikalı Referans Materyali (Certificate Reference Material)
df	: Serbestlik Derecesi
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu (European Food Safety Authority)
ELISA	: Enzim Bağlı İmmunesorbent Deneyi (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)
Eurachem	: A Focus For Analytical Chemistry in Europe
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture of United Nation)
GTB	: Gümrük ve Ticaret Bakanlığı
GTHB	: Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (Tarım ve Orman Bakanlığı)
HPLC	: Yüksek basınçlı Sıvı Kromatografisi (Hight Performance Liquid Chromatography)
IIE	: Institute of International Education
JECFA	: Gıda Katkı Maddeleri Uzman Komitesi (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)
LC	: Sıvı Kromatografisi (Liquid Chromatography)
LOD	: Tespit Limiti (Limit of Detection)
LOQ	: Tayin Limiti (Limit of Quantification)
n	: Tekrar Sayısı
ÖB	: Ölçüm Belirsizliği
PCA	: Temel Bileşenler Analizi
PRSD	: Horwitz eşitliğinden hesaplanan rölatif standart sapma (Projected Relative Standard Deviation)
r	: Tekrarlanabilirlik Limiti
R	: Tekrar Üretilebilirlik Limiti
RASFF	: Gıda ve Yem Hızlı Alarm Sistemi (Food and Feed Rapid Alert)
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RSD	: Rölatif Standart Sapma (Relative Standard Deviation)
S	: Standart Sapma
SCF	: Avrupa Gıda Bilim Komitesi (Europe Scientific Committee on Food)
TAF	: Toplam Aflatoksin
TELA	: Tespit Edilebilir Limitin Altında
TGK	: Türk Gıda Kodeksi

TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi (Thin Layer Chromatography)
TOB	: Tarım Orman Bakanlığı
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
U _x	: Belirsizlik
U _G	: Genişletilmiş Belirsizlik
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
\bar{x}	: Analiz Sonuç Ortalaması

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Organizmalar yaşamlarını idame ettirebilmeleri ve nesillerinin devamını sağlayabilmeleri için enerjiye ve yapısal maddelere ihtiyaç duyarlar. Bu gereksinimlerin giderilmesi için canlıların ihtiyaç duydukları en temel maddeler besinlerdir. Ancak canlıların çevresinde bulunan besin miktarı sınırsız değildir ve sınırlı miktarda besin de canlılar arasında rekabet olmasının ana nedenidir. İnsanlar tarih boyunca her ne kadar barınma ve giyinme gibi önemli yaşamsal mücadelelerde bulunsalar da bu mücadeleler temelde beslenme odaklı olmuştur. Avcı toplayıcı insanın yerleşik hayata geçmesindeki nedenlerden biri de sürekli ve yeterli gıdaya ulaşabilme kaygısıdır. Günümüze geldiğimizde ise beslenme yeterli ve dengeli gıdaya ulaşmaktan ziyade doğal, sağlıklı, geleneksel gıdaya ulaşabilme kaygısına evrilmiştir. Artık insanlar yerli tohumdan üretilmiş, tatlandırıcılar ve koruyucular gibi katkı maddelerinden âri küçük ölçeklerde geleneksel yöntemler ile taze ve küçük ölçekli işletmelerde hazırlanan gıdalara ulaşmak istemektedir. Günümüzde gelişen lojistik ağları ile coğrafyaya bağlı kalınsız bu tür gıdalara ulaşmak kolaylaşmıştır. Ayrıca teknolojinin gelişimi ve teknolojiden yararlanabilen kişi sayısı arttıkça çevrimiçi olarak yapılan alışveriş hem çeşitlilik hem de zaman tasarrufu sağlaması açısından tercih edilir olmuştur.

Küresel düzeyde sanal alışverişin toplam perakende alışveriş oranı içindeki payı 2016 yılında %7.4 iken 2018 yılına gelindiğinde bu oran artarak %8.8'e yükselmiştir (Saleh, 2019). Ülkemizde de durum küresel ölçekten çok farklı değildir. TÜİK (2019) verilerine göre Türkiye'de bir önceki dönemde %29.3 olarak gerçekleşen internet alışveriş oranı 2018 Nisan ayı ile 2019 Mart ayları arasında kapsayan dönemde %34.1'e yükselmiştir. Tüm internet alışverişlerinin %27.4'ü ise gıda maddeleri veya günlük gereksinimler yönünde gerçekleştirilmiştir (TÜİK, 2019). Bu oranların sadece pazaryeri olarak çalışan web sitelerini mi kapsadığı yoksa sosyal ağlar üzerinden herhangi bir kayıt olmaksızın kaynağı belli olmayan gıda maddelerinin ticaretini de mi içerdiği ile ilgili bir veriye rastlanmamıştır. Ancak Türkiye Cumhuriyeti mevzuatlarına göre her türlü gıda üretim, toplu tüketim ve satış işletmelerinin 5996 sayılı Kanun maddelerine uygun olarak faaliyetlerini gerçekleştirmesi zorunluluğu vardır. Yine üretilen ürüne göre Türk Gıda Kodeksine uygun üretim yapma zorunluluğu bulunmaktadır. Tüm üretim, satış ve toplu

tüketim yerleri ise Gıda Güvenliği Bilgi Sistemine kayıt edilmektedir. Yapılan denetimlerde mevzuata aykırılık tespit edildiğinde yasal işlem uygulanmaktadır.

Türk Gıda Kodeksinde bahsi geçen ürünlerin özelliklerine ve risk durumlarına göre çeşitli kriterlere sahip olması beklenir. Kullanılabilecek katkı maddeleri; mikrobiyolojik bulaşı; ağır metal, pestisit gibi kalıntılar ile mikotoksin içeriği bu kriterlere örnek olarak verilebilir.

Kuru yemişler tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de esansiyel yağ asitleri, vitamin ve mineral içerikleri açısından günlük beslenmede geniş bir kullanım alanı bulmaktadır. Gerek doğrudan tüketim için gerekse de diğer gıda ürünlerinin bileşiminde kuru yemişler sıklıkla kullanılmaktadır. Fırıncılık ürünleri, şekerlemeler, pestil-köme-cezerye gibi alışılmış ve geleneksel ürünlerden kahvaltılık gevrekler, granola, sürülebilir kremler, atıştırılabilir barlar, kuruyemiş sütleri gibi daha popüler ürünlere kadar çok farklı kullanım alanları bulunmaktadır.

Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği 1. Ek 2. Bölüm mikotoksinlere ayrılmış olup yer fıstığı, badem, Antep fıstığı, kayısı çekirdeği, fındık, Brezilya fındığı, diğer sert kabuklu meyveler, yağlı tohumlar, kurutulmuş meyveler, tahıllar, mısır, pirinç, baharatlar ve bunlardan elde edilen ürünlerin aflatoksin içerikleri açısından maksimum kalıntı limitleri belirlenmiştir (Türk Gıda Kodeksi, 2011). Sanal ortamda satışı yapılan kimi gıda maddeleri bu mevzuatları karşılayan halihazırda reel kanallarda da satışı yapılan ürünler olmakla birlikte özellikle sosyal ağlardan satışı yapılan ürünler denetim mekanizması dışında kalabilmektedir.

1.2. Kuruyemişler

Kuruyemiş, çeşitli meyvelerin ve yağlı tohumların fırında ya da güneş altında kurutularak; tuz ile ya da sade şekilde kavrularak fazla nemin uzaklaştırılması ve rayihasının değiştirilmesi suretiyle elde edilen mamul maddedir. Kuruyemişler günlük beslenmede sıklıkla yer aldığı gibi diğer ürünlerin çeşnilendirilmesinde ya da üretilmesinde de kullanılmaktadır. Kuruyemişler kıymetli esansiyel yağ asitleri, aminoasitler, vitamin, mineral ve polisakkaritlerden oluştuğundan sağlıklı bir diyet için çok önemlidir. Dünya Sağlık Örgütü 16 Şubat 2018 tarihinde yayınladığı habere göre aşırı kilo ve obezite ile mücadelede meyve, sebze, baklagiller, kepekli tahıllar ve kuruyemiş tüketimini arttırmanın önemine değinmiştir (WHO, 2018).

Tüm Kuruyemiş Sanayici ve İş Adamları Derneğinin (TÜKSİAD) 2014 yılında yayımladığı sektör raporunda bazı kuruyemiş kalemleri için miktar ve ciro bazından pazar büyüklüğü Tablo 1.1.'de verilmiştir. Bu tablodan da anlaşılabacağı üzere Türkiye’de yıllık olarak tüketilen kuruyemiş miktar olarak kaydedeğerdir.

Tablo 1.1. Kuruyemiş sektörü iç pazar büyüklüğü-2013 (TÜKSİAD, 2014)

Ürünler	Miktar (kg)	Ciro (TL)
Yer fıstığı	90.000.000	450.000.000
Fındık	65.000.000	975.000.000
Antep fıstığı	45.000.000	900.000.000
Ceviz	45.000.000	1.125.000.000
Badem	35.000.000	875.000.000
Kaju	10.000.000	180.000.000
Diğer	15.000.000	150.000.000

1.2.1. Fındık

Betulaceae (Huşgiller) familyasına ait olan Fındık, *Corylus* L. cinsi içerisinde yer almakta olup dünyada 25’ten fazla tür ile temsil edilmektedir (Polat, 2014). Türkiye için ekonomik açıdan önemli bir bitkidir. Üretim miktarlarına göre en çok Türkiye, İtalya, Amerika, Gürcistan, Azerbaycan ve İspanya gibi ılıman iklimin hakim olduğu kuzey yarım kürede yetişmektedir. Türkiye 2008 ile 2018 yılları arasındaki üretim ortalamaları göz önüne alındığında dünya fındık üretiminde yaklaşık %70’lik bir paya sahiptir (Türkiye Cumhuriyeti Ticaret Bakanlığı, 2019).

Fındık hasat olgunluğuna yetiştiği coğrafya, rakım ve türüne bağlı olarak ağustos-eylül aylarında erişir. Hasat işleminden sonra genellikle toprak üstünde ve güneş altında kurutulur. Kavuz kısmı ayrılır. Kabuklu taneler bir sonraki işleme kadar jüt çuvallarda ya da dökme olarak depolarda bekletilir. Depo koşullarının kontrolsüz oluşu, ilk kurutma işleminin uygun ve yeterli yapılmayışı, doğa koşullarına açık olması fungusların fındık üstünde gelişebileceği uygun ortamı sağlar. Bu durum ekonomik kayıplarla birlikte mikotoksin tehlikesini beraberinde getirir. Fındıkta en yaygın rastlanan ve Türk Gıda Kodeksinde bulaşı limitleri açıkça belirtilmiş olan mikotoksin aflatoksinlerdir.

Fındığın bileşimine bakılacak olursa %10-24 protein, %50-73 yağ, %10-22 karbonhidrat ve %1-3 selüloz karşımıza çıkar ve 100 g fındık 634 kcal enerji vererek yetişkin bir insanın günlük enerji ihtiyacının yaklaşık %25'ini karşılar (Şimşek ve Aslantaş, 1999). Fındık, protein yapı taşı olan aminoasit çeşitliliği açısından oldukça zengindir. İzolösin, histidin, metionin, triptofan, lösin, valin, lizin, fenilalanin ve treonin gibi esansiyel aminoasitleri de içermesiyle dikkat çekmektedir. Bununla birlikte früktoz, glukoz, sukroz, myo-inositol, rafinoz, stakiyoz gibi şekerleri ve organik asitlerden de oksalik, maleik, malik, laktik ve asetik asitleri içermektedir (Alasalvar vd., 2003).

Fındık doymuş yağ içermezken tekli doymamış yağ asitlerinden palmitoleik, oleik ve çoklu doymamış yağ asitlerinden linoleik, iki esansiyel yağ asitinden biri olan linolenik asitleri içermektedir. Bu kompozisyona bakıldığında zeytinyağı ile benzerliği görülmektedir (Şimşek ve Aslantaş, 1999). Gerek vitamin gerekse de mineral içeriği açısından oldukça zengindir. Fındık özellikle E vitamini içeriği bakımından önemli olmakla birlikte B grubu vitaminlerden B₁ (tiamin), B₂ (riboflavin), B₆ (piridoksin), niasin, biyotin, C vitamini (askorbik asit) ve pantotenik asit içermektedir. Vücutta pek çok fonksiyonda görev alan çok sayıda minerali içermekte olup. Bunlardan bazıları kalsiyum, demir, magnezyum, fosfor, potasyum, sodyum, çinko, bakır ve manganez olarak sıralanabilir. Özellikle serbest radikal oluşumunu önleyerek hücre zarlarını koruyan, kanser ve kalp ve kan damarlarının hastalığı riskini azaltan selenyumunu içermektedir (Alasalvar vd., 2003).

1.2.2. Yer Fıstığı

Yer fıstığı (*Arachis hypogaea* L.) Leguminosae familyasına ve Papilionacea alt familyasına ait tek yıllık (Özdemir vd., 2003; Sharma, ve Bhatnagar-Mathur, 2006) Güney Amerika'ya özgü bir baklagil olmakla birlikte, günümüzde 40 ° Kuzey ve 40 ° Güney enlemleri arasında kalan altı kıtada çeşitli ortamlarda yetiştiriciliği yapılan yağlı tohumlu bir bitkidir (Sharma, ve Bhatnagar-Mathur, 2006). Dünya yer fıstığı üretiminde ilk sırada yaklaşık % 32 ile Çin daha sonra sırasıyla Hindistan, Nijerya, Sudan, Amerika Birleşik Devletleri ve Myanmar yer almaktadır (Kadiroğlu, 2018). Türkiye'de yapılan yer fıstığı üretimi bunun çok daha gerisinde kalarak %0.43 olmuştur (FAO, 2019).

Yer fıstığının ekimi Mayıs ayında yapılır ve bunu takip eden 140 ila-160. günler arasında hasatına başlanılmaktadır. Yer fıstığı meyvesi saptan uzayarak toprağın 5-10 cm derinliğine kadar ulaşabilen ginefor denen yapılarda gelişir (Kadiroğlu, 2018). Haliyle

toprak mikrobiyotası ile oldukça bulaşmış olarak hasat edilir. Hasat edildiğinde %40-50 olan meyve rutubeti harman ve kurutma aşamalarıyla %10'a düşürülmektedir. Bu işlem yaklaşık 10 gün sürmekte ve yaygın olarak toprak üstünde doğal ortam şartlarında yapılmaktadır. Depo şartları %65-70 gibi uygun nispi nemde değilse yer fıstığı rutubeti artar ve zaten üstünde barındırdığı fungusların çalışabileceği uygun şartları sağlar. Bu durum sadece tane kayıplarına değil mikotoksin (aflatoksinler) riskine de sebep olur (Kadiroğlu, 2008).

Yer fıstığı yüksek yağ içeriği (%44-56) düşünüldüğünde yağlık olarak yetiştirilen bitkiler arasındadır. Bunun yanında %20-25 protein, %18 karbonhidrat barındırır. 100 gram yer fıstığı 600 kcal enerji vermektedir. Yağ içeriğinin yaklaşık %80 kadarı doymamış yağ asitlerinden oluşur. Linoleik ve linolenik yağ asiti içeriği de oldukça zengindir. Glutamik asit, aspartik asit ve arjinin amino asitlerince zengin, kükürtçe zengin aminoasitlerden fakirdir. Yağda eriyen vitaminlerden A ve E vitaminleri hem besleyicilik hem de antioksidan özelliklerinden ötürü ürünün oksidasyonu engellemesi açısından koruyucu olarak önemlidir. Bu vitaminlerin yanında B ve K vitaminlerini de barındırır. Potasyum, kalsiyum, magnezyum, fosfor, kükürt, çinko ve demir mineralleri bulundurur (Kadiroğlu, 2018).

1.2.3. Antep Fıstığı

Antep fıstığı (*Pistacia vera L.*) Anacardiaceae (sakızağacıgiller) familyasından yağlı ve kabuklu bir yemiş çeşididir. Günümüzde kuzey ve güney yarım kürede 30-45° paralellerde yazları sıcak ve kurak kışları nispeten soğuk geçen bölgelerinde yetişir (Karaca vd., 1995) Ünlü botanikçi ve genetikçi Nikolai Ivanovich Vavilov çalışmalarına göre Antep fıstığının gen merkezi olarak Güneybatı Asya'yı işaret etmiştir (Onay vd., 2012). Günümüzde ise Asya, Avrupa, Amerika, Avustralya kıtalarında az ya da çok yetiştirilmektedir. 2018 yılı verilerine göre dünya Antep fıstığı üretiminde söz sahibi olan ülkelerin başında % 16 ile İran gelmektedir ve bunu sırasıyla Suriye ve Amerika Birleşik Devletleri takip etmektedir. Türkiye ise % 7 ile dördüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2019).

Antep fıstığı hasadı yetiştirildiği bölgenin iklim ve rakım özelliklerine göre ağustos ortası ile eylül ortası arasında yapılır. Hasat ağaçlardan elle fıstık salkımlarının beraber koparılması şeklinde yapılır. Hasat zamanı geldiğinde dış kabuk sert kabuktan kolayca ayrılır hale gelir ve kimi sert kabuk kendiliğinden çıtılır. Bu aşamada meyve rutubeti %40-

50 civarındadır. Toplanan meyveler rutubeti % 3-5 seviyesine düşürülünceye kadar sergi yerlerinde güneş etkisiyle kurutulur. Hasarlı meyveler hasattan önce sergi sırasında ve işleme aşamalarında funguslarca bulaşabilir. Eğer depo şartları uygun, rutubet oranı % 50-60 seviyesinde değilse funguslar çoğalmaya devam ederler; ürün kalite kayıpları yanında aflatoksin mikotoksinleri de oluşur (Kibar ve Öztürk, 2008).

Antep fıstığı 100 gramda yaklaşık 600 kcal enerji vermektedir. Diğer kabuklu yemişlerde olduğu gibi toplam yağ içeriği oldukça fazladır (% 45). Toplam yağ asiti içeriğinin %87'si doymamış yağ asitlerinden oluşur. Bunun da % 50'den fazlasını oleik asit oluşturur. Çoklu doymamış yağ asitlerinden linoleik asit (omega-6) içeriği de oldukça önemlidir. Protein oranı Antep fıstığında yaklaşık % 21'dir. En çok bulunan amino asitler ise glutamik asit, arjinin, aspartik asit, serin ve valindir. Bunların yanında izolösin, lösin, metiyonin gibi birçok esansiyel amino asitleri de içermektedir. Antep fıstığının karbohidrat oranı % 28 olmasına rağmen diğer kabuklu yemişlere oranla diyet lifi açısından daha zengindir. Antep fıstığı kabuklu yemişlerde olduğu gibi birçok minerali bulundurur. Magnezyum, kalsiyum, potasyum bakımından zenginken sodyumca fakirdir. Selenyum ve folik asidi ise eser miktarlarda içerirler. Yağ içeriği zengin bir yemiş olan Antep fıstığı yağda eriyen vitaminlerden A, K ve E vitaminlerinin iyi bir kaynağıdır. Bunun yanında suda eriyen vitaminlerden tiamin, riboflavin, niasin, pantotenik asit ve piridoksin gibi B grubu vitaminleri barındırır(Çağlar vd., 2017).

1.2.4. Badem

Taksonomideki ismi *Prunus dulcis* Mill. olan badem; kiraz, erik, kuşburnu ve şeftali gibi bitkilerin de içerisinde yer aldığı Rosaceae familyasına ait olan bir bitki türüdür ve sert kabuklu bir meyveye sahiptir. Badem 20-40° güney ile 30-44° kuzey enlemlerinde yetişir. Günümüzde İran, Suriye, Filistin gibi Ortadoğu ülkelerinin yanı sıra Yunanistan, İspanya, İtalya gibi Avrupa ülkelerinde ve Kuzey Afrika ile Kuzey Amerika'da yetiştirilmektedir (Javaid vd., 2019). 2018 yılı verilerine göre dünya badem üretiminin %58'ini Amerika Birleşik Devletleri gerçekleştirirken bunu sırasıyla İspanya, Fas, İran, İtalya izlemektedir. Türkiye'deki üretim ise dünyadaki tüm üretimin ancak %3'ünü oluşturmaktadır (FAO, 2019).

Badem hasadı bölge iklim koşullarına ve bitkinin türüne göre temmuzda başlar ve eylüle kadar devam eder. Badem hasat olgunluğuna geldiğinde dış yeşil kabuğu renk değiştirir ve sert kabuktan ayrılmaya başlar. Hasat tercihen el ile silkeleyerek, daha genç

dallardan ise teloskobik çubuklarla vurmak suretiyle yapılır. Kavlamış dış kabuklar patoz ile ayrılır ve sert kabuklu bademler iç rutubeti % 8 oluncaya değin kurutulur. Kurutma işlemi doğrudan güneş altında değil hava akımının iyi olduğu ortamda yapılır. Kurutulmuş kabuklu badem yine havadar depolarda saklanmalıdır (Kibar ve Öztürk, 2008).

Badem 100 gramında 570 kcal enerji vermektedir. Besleyici içeriği incelenecek olursa %50 yağ, %25 protein, %4 karbohidrat içerdiği görülür. Yağ asidi kompozisyonuna bakıldığında yaklaşık %88'inin doymamış yağ asitlerinden oluştuğu görülür. Doymamış yağ asidi kompozisyonu diğer sert kabuklu yemişlerle benzer olarak oleik ve linoleik asitlerden meydana gelmektedir (Moayed vd., 2010). Badem protein içeriği bakımından bitkisel proteinler arasında önemlidir. Badem temel olarak aspartik asit, lösin, ve glutamik asit amino asitlerini içermektedir (Calixto vd., 1981). Potasyum, magnezyum, demir, fosfor ve kalsiyum bademde en çok bulunan minerallerdir. Bunun yanında manganez, bakır ve çinko da içerirken sodyumdan kısıtlı beslenenler düşünüldüğünde sodyum oranının düşük olması ürün lehine bir avantajdır. Vitamin içeriğine gelinecek olursa yağ içeriği zengin olan diğer yemişlerde olduğu gibi antioksidan fonksiyonunu da yerine getiren E vitamini öne çıkmaktadır. Bunun dışında tiamin, niasin, riboflavin gibi suda çözünen B grubu vitaminleri de içermektedir (Sudhakar vd., 2018).

1.2.5. Kaju

Sistematikte Anacardiaceae familyası içerisinde yer alan kaju (*Anacardium occidentale*) tropik iklimlerde yetişen tohumları kuruyemiş olarak kullanılan ağaç bitkisidir. İlk kez 16. yy'da portekizli gezginler tarafından Brezilya'da keşfedilmiş ve günümüzde yetişen diğer coğrafyalara bu şekilde yayılmıştır (Salvi vd., 2019). Yağlıklı ve rutubetli olan Ekvator kuşağında yaygın olarak yetiştirilir. Kaju üretimi en çok %44 ile Vietnam'da yapılırken; bu ülkeyi Hindistan, Fildişi Sahilleri, Benin, Filipinler gibi ülkeler takip etmektedir. Yetiştirilmesindeki iklim ihtiyaçlarından ötürü kaju tarımı Türkiye'de yapılamamaktadır ve iç piyasa kaju ihtiyacı ithalat ile karşılanmaktadır (FAO, 2019).

Kaju ekvator çevresinde kuzey ve güney yarım kürede yetişebilmektedir. Kuzey yarım kürede şubat ile mayıs ayları arasında hasat yapılırken güney yarım kürede eylül ve aralık ayları arasında hasat edilir. Kaju aslında meyvenin içinde gelişen sert karakterdeki tohumun içidir. Hasat zamanı geldiğinde meyveler toplanır ve tohum kısımları ayrılır. Meyvesi; reçel, meyve suyu, şarap yapımı gibi birçok alanda değerlendirilirken tohum kısmı çoğunlukla elle olmak üzere kabuğundan ayrılır. Yağda kavurma, doğrudan buharlı

kavurma, kurutma ve açık tavada kurutma yöntemlerinden biri kullanılarak kaju taneleri zarlarından uzaklaştırılmak suretiyle beyazlatılır. Amacına göre tuzlanır, çeşnilendirilir ya da sade şekilde piyasaya sunulabilir (Minh vd., 2019). Bu işlemler çoğunlukla yüksek iş gücü gerektiren işlemlerdir. Günümüzde dahi kaju eldesinde tam otomasyonlu sistemlerin kullanımı oldukça azdır. İşleme şartlarının teknolojiden uzak oluşu, üretimin gerçekleştiği ülkelerin iklim, gelişmişlik ve bilinç seviyeleri, uygunsuz depo şartları kaju mikolojisinde rastlanan *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* türlerinin aflatoksin sentezini kaçınılmaz yapmaktadır (Acevedo vd., 2011).

100 g kaju tüketildiğinde 553 kcal enerji vermektedir. Temel içeriğine baktığımızda %4 ham lif , %14 karbonhidrat, %28 protein ve %40 yağdan oluştuğu görülür. Yağın %75'i tekli ve çoklu doymamış yağ asitlerinden oluşmaktadır. En yaygın yağ asiti linoleik asittir. Mineral içeriği incelendiğinde kalsiyum, sodyum, potasyum, fosfor ve demir öne çıkmaktadır. Vitamin içeriğine bakacak olursak E ve A vitaminlerinin yanında B₁, B₂, B₃ ve K vitamini içerdiği görülür (Okonkwo ve Ozoude, 2015).

1.3. Mikotoksinler

Filamentli mikrofunguslar tüm organizmaların yaşamsal faaliyetlerini önemli derecede etkileyen başta sıcaklık, nem, pH gibi çevresel faktörlerin ekstrem durumları ile çok farklı özellikte besi yerleri içerisinde faaliyet gösterebilen Myceteae (mantar) aleminde yer alan mikroorganizmalardır. Yaşam döngüleri sırasında hücre dışına salgıladıkları enzimlerle ihtiyaç duydukları maddeleri büyük molekülleri parçalamak suretiyle oluştururken bu süre zarfında ikincil metabolitleri de oluştururlar. Bu metabolitlere antibiyotikler, alkoller ve çeşitli fenolik bileşikler gibi faydalı olanların yanı sıra insan, hayvan ve bitki sağlığını tehlikeye sokan serbest radikal bileşikler örnek verilebilir. Sağlık açısından tehlike oluşturan bu bileşiklere ise mikotoksin denilmektedir. Mikotoksin Yunanca kökenli mantar (mykes) kelimesi ile latince kökenli zehir (toxicum) kelimelerinden türetilmiştir (Aiko ve Mehta, 2015). Mikotoksinler sıralanan metabolitler arasında halk sağlığını olumsuz etkilediği bilinen en eski ve yaygın bulaşanlardandır.

Aspergillus, *Penicillium*, *Fusarium* ve *Alternaria* cinslerine ait 100'den fazla küf türü tarafından üretilen 400'ün üzerinde mikotoksin keşfedilmiştir (Gürhayta ve Çağındı, 2015). Farklı türler farklı mikotoksinleri üretebildiği gibi aynı mikotoksin farklı türler tarafından da üretilmektedir. En yaygın mikotoksinler Tablo 1.2'de gösterilmiştir.

Tablo 1.2. Başlıca mikotoksin üreten cinsler ve ürettikleri mikotoksinler (Yıkılmaz, 2007)

Fungus Cinsi	Üretilen Mikotoksinler
<i>Aspergillus</i>	Aflatoksinler (Af B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , M ₁ , M ₂ , B _{2a} , G _{2a} , B ₃), Aspertoksin, Sitrinin, Sterigmatosistin, Okratoksin A, Patulin, Penisilikasit
<i>Penicillium</i>	Sitrinin, Okratoksin A, Streoviridin, Rubratoksin, Rubratoksin B, Patulin, Penisilikasit, P-R (Pen. requeforti)-toksin, Luteosikrin, İzlanditoksin, Ksantosilin-X, Siklopiazonikasit, Sitromisetin, Rugulosin, Ksantomegnin, Rugulovasin A, Rugulovasin B, Verrukulotoksin, Emodin.
<i>Fusarium</i>	Zearalenon, Trikotosenler, Deoksinivalenol, Nivalenon, Diasetoksisirpenol, T-2, HT-2, Tremortin, Fusarin-C, Fumonisin B ₁ , Moniliformin
<i>Alternaria</i>	Alternariol, Alternariolmono-metil-eter, Alvertoksin, Tenuazonik

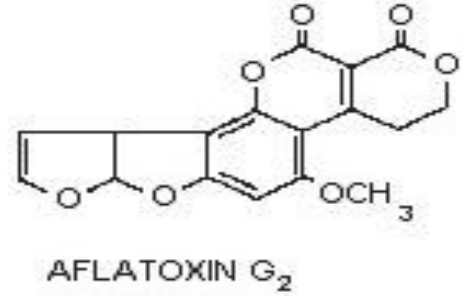
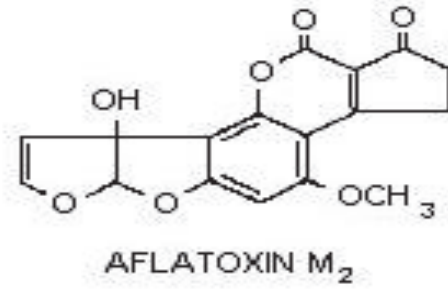
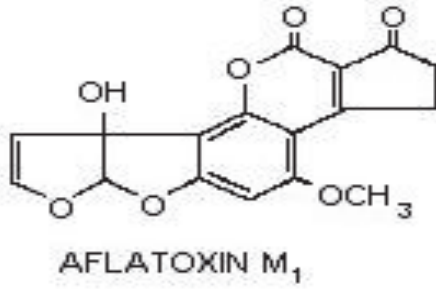
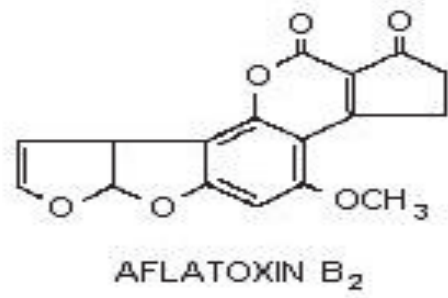
Mikotoksinler tarımsal ürünlerde ciddi ekonomik kayıplara neden olduğu gibi insan ve hayvanlar üzerinde akut ya da kronik sağlık sorunları doğurabilmektedir. Örneğin Okratoksin A'nın lipid peroksidasyonu artırıcı, genotoksik, immunosupresif, hepatonefrotoksik olduğu bulunmuştur. Trikotosenler (T-2 Toksin, Deoksinivalenol vb.) ise immunosupresif, nefrotoksik, karsinojenik, teratojenik etkiler gösterebilmektedir (Atasaray Sabuncuoğlu vd., 2008). Tarih yazınlarında mikotoksin maruziyetleri ile ilgili çok sayıda olaya rastlamak mümkündür. Örneğin 1942 ile 1947 yılları arasında kalan 5 yıllık dönemde Sibiryada trikotosenlerle kirlenmiş tahıllardan kaynaklı ATA (alimentary toxic aleukie) hastalığı nüfusun %10'luk kısmının ölümüne neden olmuştur. Mikotoksin üretimine nem, sıcaklık, su aktivitesi, dane hasarı gibi fiziksel faktörler; gıda maddesinin kimyasal kompozisyonu, pH gibi kimyasal faktörler; küf suşunun toksin üretme yeteneği, ortamın flora ve faunası gibi biyolojik koşullar etki etmektedir (Sert, 1985). Mikotoksinler, bahse konu ürün üstünde doğrudan oluşmasıyla, bulaşık ürünler kullanılarak yapılan başka ürünlere geçmesiyle ya da toksince bulaşmış ürünlerin tüketimi sonrası vücuda alınan toksinin et, süt, anne sütü, yumurta gibi doku ve organlara taşınmasıyla (carry-over) maruz kalınabilir (Tunail, 2000).

1.3.1. Aflatoksinler

Dünyada her yıl hasat edilen tarım ürünlerinin %25'inin imha edilecek derecede bozulmasına sebep olan *Aspergillus* cinsi küfler yaşam evrelerinde toksik ikincil metabolitleri üretirler. Dünya Sağlık Örgütü Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansının yayımladığı insan için kanserojen risklerin değerlendirilmesine dair çalışmada aflatoksinler 1. kategoride kanserojen maddeler arasına dahil edilmiştir (IARC, 2002). Doğal olarak oluşan bir genotoksin olduğundan Gıda Katkı Maddeleri Komitesi (JECFA) tüketim dozu ile ilgili bir düzenleme yapmazken maruziyetin mümkün olduğunca sınırlandırılmasını önermektedir. Yine de olumsuz bir etki gözlenmemesi için günlük maruziyetin 0.75 µg/kg düzeyini aşmaması gerektiği önerilmiştir (Bricknell, 2015).

Aflatoksinler en yaygın olarak *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* türleri tarafından üretilirken bunun yanında *Aspergillus nomius* ve *Aspergillus tamarisii* türleri de aflatoksinlerin üretiminden sorumlu olabilmektedir.

En sık rastlanılan aflatoksin çeşitleri B₁, B₂, G₁, G₂ ve aflatoksin B₁ ve B₂ ile bulaşmış yemlerle beslenmiş hayvanların sütlerinde bulunan M₁ ve M₂ olmakla birlikte benzer yapılarda daha pek çok aflatoksin keşfedilmiştir (Girgin vd., 2001). Şekil 1.1'de en yaygın aflatoksin türleri görülmektedir.



Şekil 1.1. En önemli aflatoksinlerin kimyasal yapıları (Awache, 2019)

Aflatoksin sentez kabiliyeti olan suşların ortamda olması her zaman toksin sentezleyebilecekleri anlamına gelmez. Toksin üretimi; sıcaklık, nem, mikroorganizma yükü, zararlı faaliyeti, ortam gazı bileşimi gibi çevresel faktörler yanında su aktivitesi, içerik vb. gibi ürün özelliklerine bağlı olarak yapılır. Aflatoksin üretimi en uygun %70 nem ve 24 ila 35°C arasındaki sıcaklıklarda olmaktadır (Kiraz, 2016).

Aflatoksinler 362 nm’de ultraviyole ışık altında ışıma yapmaktadır. Difurokumarosiklopentanon grubunda yer alan B₁, B₂, M₁ ve M₂ ultraviyole ışık altında 425 nm’de mavi renkte florasan verirken; difurokumarolakto grubunda yer alan G₁, G₂ ise ultraviyole ışık altında 450 nm’de yeşil renk florasan vermektedir (Özkaya ve Temiz, 2003). Bu özelliklerinden faydalanılarak aflatoksinlerin tayini yapılır.

Aflatoksin B₁ çeşitli reaksiyonlarla karaciğerde çeşitli metabolitlerin oluşmasına neden olur. Bunlar arasında güçlü reaktif etkili epoksid metabolitleri de vardır. Bu reaktif bileşik hücredeki makro moleküllerle (protein, RNA, ve DNA gibi) kovalent bağ kurmaktadır. Örneğin aflatoksin B₁'in epoksid bileşiği DNA'daki guanin gruplar ile bağlanarak G-C bağlantısının arasına girer ve heliks yapıyı bozar. Bu durum DNA hasarlarına ve kanser hücrelerinin oluşmasına neden olur (Onur vd., 2009).

Mutajenik, kanserojenik etkiler aflatoksinlerin vücutta uzun süre birikimi sonucu görülebilen kronik zararlarıdır. Çok yüksek miktarda aflatoksin maruziyetiyle kendini gösteren akciğer ödemi, kalp yetmezliği, karaciğer nekrozu gibi şekillerde ortaya çıkan akut etkileşimlere de literatürde rastlanılmıştır. Örneğin 1974 yılında Hindistanda kontamine mısır tüketen 320 kişiden 80'inin yaşamını yitirdiği kaydedilmiştir. Akut maruziyetlerde aflatoksin B₁ konsantrasyonu 200 ppb düzeyine kadar çıkabilmektedir (Özkaya ve Temiz, 2003).

Tüm bu zararları sebebiyle çeşitli gıdalarda en çok bulunabilecek aflatoksin miktarları ülkelerin kendi mevzuatlarında düzenlenmiş olup bu miktarlar aynı zamanda ülkeler arası gıda ticaretinin denetim kriterlerinden birini teşkil etmektedir. Örneğin Avrupa Toplulukları Komisyonunca 2001 yılındaki 466/2001 numaralı düzenlemesiyle direkt insan tüketimine sunulan yer fıstığı, diğer yemişler ve kuru meyveler için aflatoksin B₁ için 2 µg/kg, toplam aflatoksin için 4 µg/kg limitini belirlemiştir (CEC, 2001). ABD ise tüm gıdalar için toplam aflatoksin 20 µg/kg limitini belirlemiştir. Çin, mısır ve yer fıstığı için 20 µg/kg; Japonya tüm gıdalar için 10 µg/kg; Malezya ise 35 µg/kg toplam aflatoksin limitini belirlemiştir. Rusya ise tüm gıdalar için Aflatoksin B₁ miktarını 5 µg/kg olarak belirlemiştir (FAO, 2004).

Mikotoksin analizlerinde birkaç farklı tespit metodu bulunmaktadır. Bu yöntemlerin kimisiyle sadece kalitatif sonuç alınabiliyorken bazıları da kantitatif sonuç verebilmektedir. Analiz aşamasına geçilmeden önce metodun belirlediği şekilde analit ekstrakte edilir ve ekstrakt temizlenir. Mikotoksin analizinde kalitatif ya da kantitatif ince tabaka kromatografisi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), enzim bağlı immunesorbent deneyi (ELISA) seçilebilmektedir. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ince tabaka kromatografisi (TLC) ile kıyaslanacak olursa bazı üstünlükler göze çarpar. HPLC'de analit yer çekimi etkisiyle değil de kontrollü bir basınçla hareket ettirildiğinden analit çok daha hızlı ayrılır. Ayrıca uçucu zararlı gazlar az kullanılır ya da ayrıştırılabilir. HPLC

yönteminde karışım bileşenleri ayrılır, tanımlanır ve ölçülür. Bu anlamda kantitatif sonuçları da hassas ve güvenilir bir şekilde vermektedir (Var ve vd., 2004).

1.4. Kromatografi

Analiz edilecek numuneler içinde çok çeşitli analitleri barındırır. Her bir analitin ekstraksiyonunun ayrı ayrı yapılması çoğu zaman mümkün değildir. Tam da burada kromatografilerin aynı anda birçok analiti nitel ve nicel olarak ayırabilme yetenekleri öne çıkmaktadır.

1906 yılında adsorpsiyon kromatografisi alanında önemli gelişmeler yapan Rus bilim insanı Mikhail Semenovich Tswett kromatografi ismini ilk kez kullanmıştır. Endüstri çağıyla birlikte kromatografilerdeki gelişmeler devam etmiştir. Günümüzde yaygın kullanılan HPLC ise Csaba Hovath ekibiyle birlikte günümüzdeki formuna kavuşmuştur (Yalçın, 2012).

Kromatografi prensibi, hareketli faz eşliğinde verilen numunenin geçiş esnasında sabit fazda tutulma süresinin analitik olarak işlenmesine dayanır. Kromatografiler uygulama biçimine, ayrılma mekanizmalarına, faz tiplerine göre sınıflandırılabilir. Bu çalışmada kullanılan kolon kromatografisi yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC)'dir.

Analit ya da analitler kolondan geçerken sabit fazda bir süre alıkonulur. Kolon çıkışına ulaşan analit miktarı ve alıkonma süresi dedektör ile algılanır. Dedektörde edinilen veri bir bilgisayar yazılımı yardımıyla grafiğe işlenir. Bu grafikler kromatogram olarak isimlendirilir.

1.4.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Numune analiz edilmeden önce temsil edilen numunenin bilinmesi ve kromatogramı etkileyebilecek kirliliklerden uzaklaştırılmak üzere bir dizi işlem den geçirilmesi gereklidir. Kullanılacak yonteme göre değişmekle birlikte bu işlemler; örnekleme, homojenizasyon, tartım, ekstraksiyon, filtrasyon, immünoafinite kolonunda temizleme (clean up), dilüsyon şeklinde sıralanabilir. Bu aşamalardan hepsi bir arada kullanılabildiği gibi ihtiyaç duyulan bazıları da tercih edilebilir. Clean up aşamasında kullanılan kolonlar tespit edilmeye çalışılan analite özel monoklonal antikorlar (sadece bir antijenik belirleyiciye karşı reaksiyon gösteren antikor) içermektedir (Akdemir, 2008). Bu işlemler sonunda HPLC'de güvenilir bir şekilde çalışılabilecek saflıkta ve konsantrasyonda örnek hazırlanmış olunur.

Analiz edilen numune çalışılmadan önce cihazın yazılım kısmına basınç, numune enjeksiyon miktarı, sulandırma faktörü (dilisyon), analiz süresi, hattan geçecek solüsyonların akış hızı ve doğal olarak basıncı, optik emisyonla ilgili bilgiler işlenir. Cihaz benzer analitleri içeren farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standartlar ya da numuneler kullanılarak kalibre edilir. Seri okutmalarla bir kalibrasyon eğrisi oluşturulur. Oluşturulan kalibrasyon eğrisi ile analitin hangi sürede cihaz kolonundan geçtiği, okutulan farklı konsantrasyonların piklerinin alan büyüklükleri ile bu alanlar arasındaki korelasyon ilişkisine dair veriye ulaşılır. Sonraki okumalarda elde edilen sonuçlar, kalibrasyon verileri ile kıyaslama suretiyle elde edilir.

HPLC cihazları farklı kısımlardan meydana gelir. Farklı analizlerde farklı polaritelere sahip cam şişelerde ya da çelik kaplarda kimyasalların birarada tutulduğu taşıyıcı kısım, degasser ünitesinin hemen yakınına yerleştirilir. Böylece hassas olan basınç değişimlerini önlemek; kılcal boruların akışının düzenli sağlanması için analizde kullanılan çözücüler hem filtre edilir hem de içerisinde çözünmüş gazlar uzaklaştırılır. Numune ve hareketli fazın sistem boyunca hareket ettirilmesi pompa ile sağlanır. Enjektör (autosampler) istenilen numunelerin istenilen hacimde otomatik olarak vakumlanarak sisteme verilmesinde görevlidir (Eser ve Sepici Dinçel, 2018). Numune içindeki farklı analitler kolon içinde bulunan sabit fazı da oluşturan dolgu maddelerine tutunma yeteneğine göre ayırt edilir. Dolgu maddeleri çeşitli olsa da en yaygın kullanılanlar silika, polimer ve metaloksit esaslı olanlarıdır (Baykara, 2008). Sabit fazı oluşturan cihaz kolonlarının tekdüze bir sıcaklıkta muhafazasını kolon fırını sağlar. Çoğu organik bileşikler UV ışığı absorbe eder. Bu özellikten yararlanılarak kolondan çıkan analit bir UV ışığına maruz bırakılır. Sonraki aşamada ise bir UV dedektörle emilen bu ışığın emisyonu ölçülür. Işıma analit konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Geliş zamanına karşı bir grafik yardımıyla ölçüm görünür hale getirilir ve analitik olarak hesaplanır.

HPLC gıda sektörü yanında biyokimya, adli tıp, çevre, endüstri, ilaç, biyokimya gibi birçok alanda ve konuda faydalanılan bir analiz cihazıdır.

1.4.2. Validasyon/ Verifikasyon ve Ölçüm Belirsizliği

Validasyon ve verifikasyon kavramları birbirinden oldukça farklı tanımları temsil eder. Validasyon (geçerli kılma) yeni oluşturulan bir metodun çeşitli performans kriterlerine uygunluğunu araştırırken verifikasyon (doğrulama) ise validasyonu yapılmış ve dökümanite edilmiş, birçok laboratuvar tarafından halihazırda kullanılan bir metodun yeni

bir laboratuvar için belirlenen performans kriterlerini sağladığının teyidi için yapılır. Eğer sıfırdan bir metot oluşturuluyorsa doğruluk (accuracy), kesinlik (precision), özgüllük (specificity), tespit limiti (LOD), tayin limiti (LOQ), sağlamlık (ruggedness), doğrusallık (linearity) ve aralık (range) performans kriterlerinin hepsi çalışılmalıdır. Validasyon, tek bir laboratuvarla yapılabileceği gibi laboratuvarlar arası çalışma ile de gerçekleştirilebilir. Birçok laboratuvar rutin olarak validasyon çalışmaları yapılmış ve dökümanite edilmiş metotları kullandığından, laboratuvarlarında rutin kullanımdan önce sadece verifikasyon parametrelerini çalışmaktadır. Bu parametreler; kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik), doğruluk (gerçeklik) ve tespit limitidir.

Laboratuvar sonuçları çok farklı parametreden etkilenir. Örneğin aynı örneği çalışan farklı analistlerin, cihazların verdiği sonuçlar arasında fark olduğu gibi tek analist ve tek cihaz ile yapılan tekrarlı çalışmalar arasında bile farklılıklar görülmektedir. Bu farklılıkların istatistiki olarak belirli oranlarda kalması beklenir. Ölçüm belirsizliği ise ölçüm sonucunun gerçek değerden ne kadar farklı olabileceğini gösteren ve ölçülen büyüklük ile değerin ilişkilendirilebildiği bir parametredir (Magnusson vd., 2012).

1.5. Önceki Çalışmalar

Bilim dünyasının mikotoksine ilgisi ilk toplu insan ve hayvan maruziyetleriyle aynı zamanlarda başlamıştır. Özellikle savaş ve kıtlık zamanlarında tarım ürünlerinin uygun şekilde hasat edilip depolanamayı ya da iklim şartlarının küfler için uygun olduğu yıllarda üretilmiş tarım ürünlerini tüketen insanların ve hayvanların mikotoksin maruziyetleri rapor edilmiştir. Örneğin 1960 yılında İngiltere’de aflatoksin kaynaklı Turkey X hastalığı 100000’den fazla hindinin ölümüne neden olarak gösterilmiştir (Girgin vd., 2001). Bu olay mikotoksin araştırmaları konusunda ciddi çıkış noktası olmuştur. Hastalığın yemlik fısıklardan kaynaklandığı anlaşılmıştır (Blount, 1961). Bunu sırasıyla aynı yıl yem ile küf arasındaki ilişkinin keşfi, 1962 yılında aflatoksinin isimlendirilmesi ve kristal formunun izolasyonu ile B ve G formunun ayrıştırılması izlemiştir (Yunus vd., 2011). Türkiye için aflatoksin sorunu 1967 yılından başlayarak çeşitli zamanlarda sert kabuklu meyve ve kuru meyve ihracatında yaşanan aksaklıklarla bilinir olmuştur. 1988 yılına gelindiğinde ise söz konusu ürünlerin ihracatı tümünden durdurulmuştur (Kiraz, 2016). Gıda ve Yem Hızlı Alarm Sistemi (RASSF) portalı Şubat 2020 itibari ile yayımlanan

verilere bakıldığında aflatoksin konusunda çeşitli tarihlerde yapılan ihracatlarla ilgili işlemler açıkça görülmektedir.

Türkiye’de aflatoksin üzerine piyasa araştırması çalışmaları çeşitli tezlere ve makalelere konu olmaktadır. Bu araştırmalarda özellikle aflatoksin açısından riskli gıdalar olan sert kabuklu meyveler, kuru meyveler, baharatlar, mısır ve hayvan yemleri ile süt ve süt ürünleri değerlendirilmiştir.

Erzurum ilinde bazı satış yerlerinden toplanan yer fıstığı, Antep fıstığı ve badem numunelerinde aflatoksin varlığı ile ilgili çalışma yapılmış tüm numunelerin yaklaşık %30’unda aflatoksin B₁’e rastlanırken bunlardan tek bir yer fıstığı numunesi Türk Gıda Kodeksinin belirlediği değerin üstünde kalmıştır (Gürses ve Erdoğan, 2003).

Yapılan bir çalışmada ise İstanbul ve Güneydoğu Anadolu Bölgesindeki bir işletmeden temin edilen Antep fıstıkları okratoksin ve aflatoksin varlığı yönünden incelenmiştir. Toplam aflatoksin yönünden tüm numunelerin yaklaşık %74’ünde çeşitli düzeylerde toksine rastlanmıştır. Bulaşı olmuş numunelerden ikisi yasal sınırların üstünde kalmıştır (Sedefoğlu, 2013).

Arslanğray (2015) hazırladığı tez çalışmasında Şanlıurfa’dan temin edilen ambalajlı 30 adet ve ambalajsız 15 adet pul biber örneğinin aflatoksin içeriğini araştırmıştır. Buna göre toplam 45 numunedan 42 tanesinde aflatoksine rastlanırken 16 tanesinin yasal mevzuata aykırı olacak şekilde yüksek konsantrasyonda aflatoksin B₁ içerdiği tespit edilmiştir. Mevzuata aykırı olan pul biberlerden 6 tanesi ambalajlı 10 tanesi de ambalajsız olanlarda tespit edilmişti. Aynı çalışmada toprak ve beton zeminde kurutulan örneklerden toprakta kurutulan 10 tanesinin hepsinde, betonda kurutulan 10 tanesinin 4’ünde aflatoksine rastlanmıştır.

Karaman ilindeki semt pazarlarından ve marketlerden çeşitli mevsimlerde kuru meyve, baharat, mısır, badem, fındık, fıstık, peynir ve ekmek numuneleri aflatoksin içeriğini belirlemek üzere toplanmıştır. Alınan numunelerden %88,9’unda aflatoksine rastlanırken, sadece bazı kırmızı biber örneklerinde yasal sınırların üzerinde aflatoksin tespit edilmiştir (Karapınar, 2013).

Hepsağ (2018) tarafından yapılan çalışmada dört farklı firmadan temin edilen yerfıstığı ezmesi numuneleri bazı fiziksel, kimyasal özellikler ile aflatoksin açısından incelenmiştir. Alınan dört örnekte de aflatoksin B₁ ve B₂ bulaşısının olduğu ancak sadece 1 yer fıstığı ezmesinin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Tebliğine aykırı olduğu tespit edilmiştir.

Bir başka çalışmada ise bebek mamalarındaki tehlikeyi gözler önüne sermektedir. Türkiye piyasasında yer alan çeşitli bebek mamaları ve devam formüllerinin %87'sinde aflatoksin B₁ bulunduğuna dikkat çekilmektedir (Gökçay vd., 2012).

1.6. Çalışmanın Amacı

Hızlı yaşam, gelişen teknoloji ve lojistik ağları ile sağlıklı, lezzetli ve doğal ürünlerle beslenme isteği online alışveriş şeklini her geçen gün artırmaktadır. Ancak bu alan çoğu zaman denetim otoritelerinin ulaşamadığı, kontrol dışı kalan bir alan olduğu için halk sağlığını ne denli etkilediği konusunda tereddütleri doğurmaktadır. Bu tez çalışması ile sosyal ağlar üzerinden satış yapan hesaplardan temin edilen fındık, yer fıstığı, Antep fıstığı, badem ve kaju ezmelerinin aflatoksin içeriklerinin belirlenerek denetim dışı kalan bu ticaret alanında varsa toksin maruziyetinin ortaya çıkarılması amaçlanmaktadır.

1.7. Çalışmanın Kapsamı

Aflatoksinin maksimum kalıntı limiti, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği ile açıkça düzenlenmiştir. Bu mevzuat Türkiye'de üretilen, ithal edilen ve halka arzı yapılan tüm ürünleri kapsamaktadır. Ancak sosyal ağlar üzerinde satışı yapılan ürünlerle ilgili özel bir düzenleme yapılmamıştır ve rutin denetim faaliyeti dışında kalma ihtimali yüksektir. Bu çalışma, kullanılacak cihaza yönelik verifikasyon ve ölçüm belirsizliği ile internet alışverişi koşullarında temin edilen ürünlerin aflatoksin içeriğinin belirlenmesini kapsamaktadır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

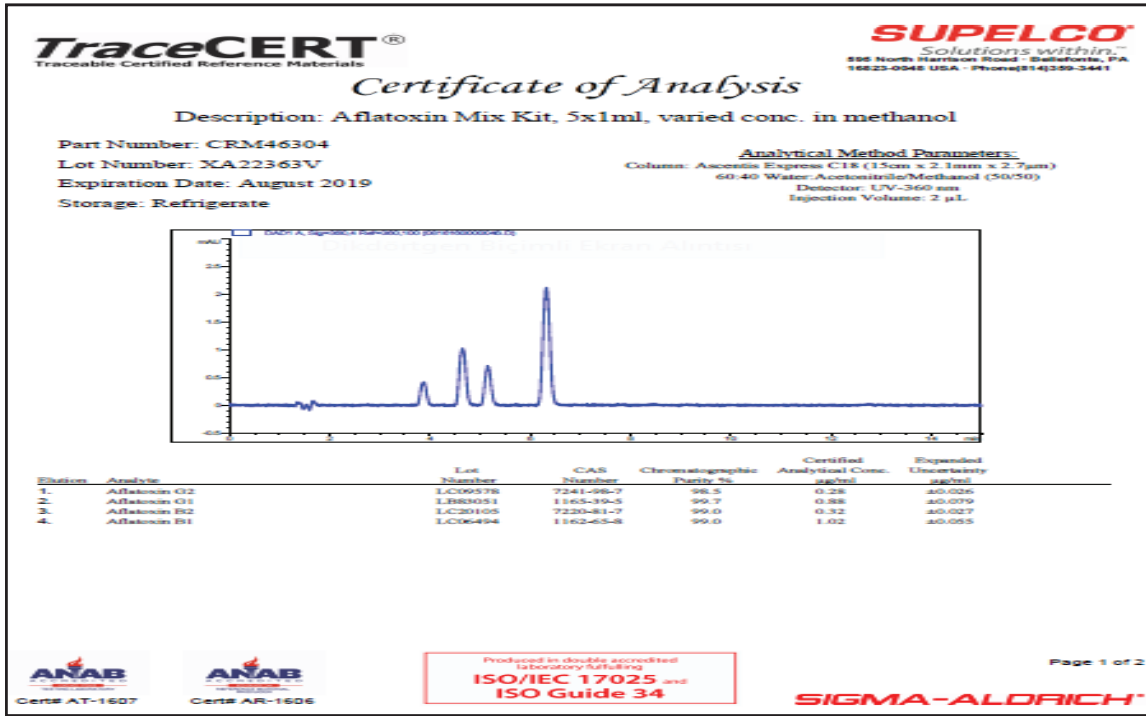
2.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

2.1.1. Kullanılan Cihazlar

- Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC)(Shimadzu/Prominence)
- Florasan dedektör (FLD)(Shimadzu/RF-20A)
- Pompa (LC-20AT)
- Kolon fırını (CTO-10AS)
- Gaz alma ünitesi (DGU-20A5)
- Otomatik örnekleyici (SIL-20A)
- Elektrokimyasal türevlendirme hücresi (Kobra-Cell)
- Hasas Terazı (Sartorius CP32025)(0.01g hassasiyette)
- Parçalayıcı (Waring HGB2WTS3)
- Girdap karıştırıcı (Ika Vortex-Genius3)
- Ultra Saf Su Cihazı (Millipore Direct Q 8 UV)

2.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Diğer Malzemeler

- Metanol (CH_3OH) (minimum %99.9 saflıkta):Merck
- Asetonitril ($\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$) (minimum %99.9 saflıkta):Merck
- Sodyum Klorür (NaCl): Merck
- Potasyum Bromür (KBr)(%99.5 saflıkta): Sigma Aldrich
- Nitrik Asit (HNO_3): 4M
- İmmunoafinite Kolon:Romer
- Aflatoksin standartı:Supelco CRM46304 (Şekil 2.1.)
- Kalitatif filtre kağıdı (gözenel büyüklüğü $8\mu\text{m}$): Whatman
- Cam elyaf filtre kağıdı (gözenek büyüklü $0.7\mu\text{m}$)



Şekil 2.1. Kullanılan standart referans madde bilgileri

2.2. Örneklerin Temin Edilmesi

Bu çalışma için Instagram üzerinden satış yapan 15 adet hesaptan toplam 27 adet fındık, yer fıstığı, Antep fıstığı ve kaju ezmesi numunesi çevrimiçi alışveriş yoluyla temin edilmiş ve kargo ile analiz yapılan adrese ulaştırılmıştır. Numune temininde gelişigüzel bir yol izlenmiştir. Numunelerin temin edildiği hesaplar takipçi sayısı, üretilen ürün çeşitliliği, ev ölçeğinde ve yasal denetim dışında kaldığı düşünülen, işletme kayıt belgesi olmayan hesaplardır.

2.3. Numunelerin Hazırlanması

Temin edilen tüm numuneler ezme formunda olduğundan ön öğütme işleminden geçirilmemiştir. Mikotoksinler ürünlerde heterojen bir dağılım yapmadığından her numune homojenize edilmiştir.

2.4. Aflatoksin Analizi

Numunelerin aflatoksin analizleri için AOAC'nin resmi metodu olan 991:31 (Aflatoxins in Corn, Raw Peanuts and Peanut Butter) kullanılmıştır. Ancak çalışmada daha

iyi bir aflatoksin B₁ ve G₁ sinyali alabilmek için Kobra cell kullanıldığından HPLC ve türevlendirme işlemi için AOAC 999.07 metodu tercih edilmiştir.

2.4.1. Ekstraksiyon

AOAC 991:31 ve TS EN 12955 yöntemlerinde olduğu gibi parçalayıcı içine 25.0000 g homojenize edilmiş örnek ve 5.0000 g analitik saflıkta sodyum klorür tartılarak ekstraksiyon için %70 konsantrasyonunda hazırlanan metanol+su çözeltisinden 125 ml ilave edildi. Karışım 2 dk yüksek devirde karıştırıldı ve whatman-2 filtre kağıdı yerleştirilmiş huni yardımıyla süzüldü. Süzüntünün 15 ml'si ile 30 ml saf su karıştırıldı ve cam elyafli filtre kağıdından ikinci bir süzme işlemi gerçekleştirilir (AOAC, 2013; TS EN 12955).

2.4.2. İmmunoaffinite Kolon

Cam filtreden geçirilerek elde edilen berrak süzüntünün 15 ml'si ucuna immunoaffinite kolon yerleştirilmiş enjektöre aktarılır ve hava basıncı yardımıyla kolondan geçmeye zorlanır (AOAC, 2013).

2.4.3. Geri Alma ve Dilisyon

Kolonda tutulan analitlerin ayrılması için ucuna ölçülü balon yerleştirilmiş immunoaffinite kolona 1 ml metanol konulur ve yer çekimi etkisiyle balona geçmesi sağlanır. Balon içeriği saf su ile çizgisine tamamlanır ve karışım girdap karıştırıcıyla karıştırılır. Son olarak ekstrakte edilmiş ve seyreltilmiş analit vialle alınır (AOAC, 2013).

2.4.4. Kromatografi

Aflatoksin içeriğinin belirlenmesi için yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC) tercih edilmiştir. Numuneler çalışılmadan önce cihaz kalibre edilmiş ve verifikasyon çalışmaları tamamlanmıştır (AOAC, 2008).

2.4.4.1. HPLC Şartları

- Kolon fırını sıcaklığı: 22.0°C
- FLD dedektör dalga boyu: Ex.360 nm; Em.430 nm

- LC pompa akış hızı: 1mL/dk
- LC kolon : C18 (25cm*4.6mm; 5µm)

2.4.4.2. HPLC Reaktifleri

- LC mobil faz: Su/asetonitril/metanol karışımı hacmen 6/2/3 oranında karıştırılır ve karışımın her litresi için 350 µL 4 M nitrik asit ve 120 mg potasyum bromür ilave edilir ve eritilir.
- Aflatoksin standart solüsyonu: Supelco marka CRM46304 aflatoksin karışımı kullanıldı. Ara stok çözeltisi hazırlamak için standardın 1 ml'si 10 ml'lik ölçü balonuna alındı ve balon ölçü çizgisine %100'lük metanol ile tamamlandı. Kalibrasyon standart çözeltileri için ara stok çözeltisinden alınan 90 µL 2.5 mL'lik balona alındı ve üzerine 910 µL metanol ve 1500 µL saf su eklenerek ölçülü balon çizgisine tamamlandı.

2.4.4.3. Hesaplama ve Sonuçların Verilmesi

Analiz sonucunda elde edilen değerler TGK Bulaşanlar Yönetmeliğinde de verildiği gibi µg/kg cinsinden ve sonuçlar virgülden sonra üç hane olarak verilecektir. Yapılan verifikasyon çalışmalarına göre ulaşılan ölçüm limiti (LOQ) değerinin altında olan sonuçlar 'tespit edilebilir limitin altında (TELA) olarak değerlendirilecektir.

Sonuçlar HPLC'nin yazılım kısmına enjeksiyon hacmi ve sulandırma oranı girildiğinden ayrıca hesaplama yapılmayacak; cihaz sonuçları doğrudan kullanılacaktır. Sulandırma oranı aşağıdaki eşitlikle hesaplanır.

$$\text{Sul. Oranı} = \frac{\text{Eks.Sol.Mik.(ml)}}{\text{Num.Mik.(g)}} * \frac{\text{Süzüntü+Su(ml)}}{\text{Al.Süz.Mik.(ml)}} * \frac{\text{Enj.İçin Son Hacim(ml)}}{\text{Afn.Kolon.Geç.Hac.(ml)}} * \frac{1}{\text{Enj.Edilen Hac.(ml)}} \quad (2.1)$$

$$= \frac{125\text{mL}}{25\text{gr}} * \frac{15\text{mL}}{5\text{mL}} * \frac{2.5\text{mL}}{15\text{mL}} * \frac{1}{0.1\text{mL}}$$

2.4.5. Kalibrasyon ve Lineerlik

Cihaz kalibrasyonu için aflatoksin standartı (CRM46304) kullanılmıştır. Ara stok çözeltisi seyreltilerek hazırlanan kalibrasyon standartı renkli viallere alındı. Beş farklı konsantrasyonda olacak şekilde farklı hacimlerde cihaza enjekte edilen standart üç paralel

halinde analize alındı. Tablo 2.1’de HPLC’ye enjekte edilen hacimlere karşılık gelen analit konsantrasyonları verilmiştir.

Tablo 2.1. Kalibrasyon için cihaza enjekte edilen miktarlar

No	HPLC’ye Verilen Hacim(μ l)	B ₁ (ng)	B ₂ (ng)	G ₁ (ng)	G ₂ (ng)
1	20	0.073	0.023	0.063	0.020
2	40	0.147	0.046	0.127	0.040
3	60	0.220	0.069	0.190	0.060
4	80	0.292	0.092	0.253	0.081
5	100	0.367	0.115	0.317	0.101

2.4.6. Verifikasyon

Verifikasyon çalışması için kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik (ara kesinlik)), doğruluk (gerçeklik) ve tespit-ölçüm limiti (LOD-LOQ) parametreleri incelenmiştir.

Yapılan bu tez çalışmasında kesinlik parametresi için LOQ, orta ve yüksek seviye içerecek şekilde temiz numune aflatoxin standardı ilave edilerek kirletildi. Tekrarlanabilirlik parametresi için kısa zaman aralıklarında altı tekrarlı çalışma yapıldı. Tekrar üretilebilirlik parametresi için ise uzun zaman periyotlarında altı farklı zamanda çalışma gerçekleştirildi. Gerçeklik parametresi ise yine kör numunenin LOQ, orta ve yüksek düzeylerde kirletilmesi suretiyle geri kazanım çalışması yapılarak tespit edilmiştir.

Tespit limiti çalışması için kör yer fıstığı numunesine cihazın anlamlı ve kararlı ölçebileceği en küçük konsantrasyonda kirletme yapılmış ve bu çalışma 10 tekerrür olacak şekilde tekrarlanmıştır. Elde edilen sonuçların standart sapmaları hesaplanmıştır. Standart sapmanın 3 katı tespit limiti 10 katı ise ölçüm limiti olarak belirlenmiştir (Magnusson ve Örnemark, 2014).

Kesinlik çalışması, ölçüm sonuçlarının birbirine yakınlığı ile ölçüm sonuçlarının ortalaması çevresindeki dağılımı hakkında bilgi verir (Taylor, 1997). Kesinlik çalışmasının parametrelerinden olan tekrarlanabilirlik çalışması için kör olduğu tespit edilen yer fıstığı ezmesi örneği 0.17 μ g/kg, 12.5 μ g/kg ve 25.0 μ g/kg düzeyinde toplam aflatoxin içerecek şekilde kirletildi ve aynı gün içinde 6 tekrarlı çalışıldı. Bir diğer kesinlik parametresi olan tekrar üretilebilirlik (ara kesinlik) için aynı oranlarda kirletilen yer fıstığı ezmesi numuneleri 6 farklı gün, uzun zaman periyotlarında çalışıldı. Her iki çalışma da iki analist

tarafından ayrı ayrı tekrarlandı. Çalışmadan elde edilen veriler ile ortalama, standart sapma, rölatif standart sapma ve % rölatif standart sapma, RSD_{pool} , Horrat ve Horwitz değerleri MS Excel ile hesaplanmıştır. Horwitz eşitliğinden hesaplanan rölatif standart sapma oranları tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik için Tablo 2.2 ve Tablo 2.3'ten yararlanarak çalışılan konsantrasyon seviyesine karşı bulunabilmektedir. Kesinlik değerlendirmesi HorRat oranına göre yapılır. Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik için HorRat oranının 2'den küçük olması beklenir (Stroka vd., 2003). Kimi kaynaklar uygun bir kesinliğin göstergesi olarak tekrarlanabilirlik için 0.3 ile 1.3 aralığı ile tekrar üretilebilirlik için 0.5 ile 2 aralığındaki oranları kabul etmekte ve çok düşük değerlerin çalışmanın bağımsızlığı konusunda şüpheli olduğunu söylemektedir. Ancak günümüz teknolojisinde çok daha hassas çalışılabilmektedir ve 0.3'ten düşük HorRat değerleri her zaman çalışmanın bağımsızlığı hakkında sorun olduğuna kanıt olmamaktadır.

HorRat hesaplamasında aşağıda yer alan eşitliklerden yararlanılarak MS Excel kullanılarak hesaplamalar yapılmıştır.

$$RSD = \frac{S}{\bar{x}} \quad (2.2)$$

$$\%RSD = \frac{S}{\bar{x}} * 100 \quad (2.3)$$

$$S_{birleşik} = \sqrt{\frac{(S_1^2 * df_1) + (S_2^2 * df_2) + \dots + (S_n^2 * df_n)}{df_1 + df_2 + \dots + df_n}} \quad (2.4)$$

$$RSD_{birleşik} = \sqrt{\frac{(RSD_1^2 * df_1) + (RSD_2^2 * df_2) + \dots + (RSD_n^2 * df_n)}{df_1 + df_2 + \dots + df_n}} \quad (2.5)$$

$$HorRat = \frac{\%RSD}{\%PRSD} \quad (2.6)$$

$$\%PRSD = 2 * C^{-0.15} \quad (2.7)$$

Bu eşitlikte;

RSD:	Rölatif standart sapma
% RSD:	Bağıl rölatif standart sapma
%PRSD:	Horwitz eşitliğinden hesaplanan rölatif standart sapma
\bar{x} :	Analiz sonuç ortalaması
S:	Standart sapma
df:	Serbestlik derecesi (df=n-1; n: çalışma sayısı)
C :	Kütle fraksiyonu

Tablo 2.2. Tekrarlanabilirlik Horwitz eşitliğinden hesaplanan rölatif standart sapma tablosu (GTHB, 2018)

Konsatrasyon, C	Kütle Farksiyonu (C)	Tekrarlanabilirlik (PRSD _r)
%100	1.0	%1
%10	0.1	%1.5
%1	0.01	%2
%0.1	0.001	%3
%0.01	0.0001	%4
10 µg/g (ppm)	0.00001	%6
1 µg/g	0.000001	%8
10 µg/kg (ppb)	0.0000001	%15

Tablo 2.3. Tekrar üretilebilirlik Horwitz eşitliğinden hesaplanan rölatif standart sapma tablosu (GTHB, 2018)

Konsatrasyon, C	Kütle Farksiyonu (C)	Tekrarlanabilirlik (PRSD _R)
%100	1.0	%2
%10	0.1	%3
%1	0.01	%4
%0.1	0.001	%6
%0.01	0.0001	%8
10 µg/g (ppm)	0.00001	%11
1 µg/g	0.000001	%16
10 µg/kg (ppb)	0.0000001	%32

Doğruluk (gerçeklik) bir ölçüm sonucunun referans değere yakınlığının göstergesidir (NMKL, 2009). Bu parametre belli konsantrasyonlarda kirletilen kör numunelerin geri alma oranlarının bulunmasıyla hesaplanır. Gerçeklik çalışması; tekrar üretilebilirlik çalışması sırasında elde edilen geri alma sonuçlarından hesaplanmaktadır. Bu çalışma iki farklı analist tarafından tekrarlanmıştır.

$$\%GK = \frac{\bar{x}' - \bar{x}}{x_{\text{kirletilmiş}}} * 100 \quad (2.8)$$

Bu eşitlikte;

%GK: Geri Kazanım Oranı
 \bar{X} : Kirletilmemiş örneklerle yapılan analiz sonuçları ortalaması
 \bar{X}' : Kirletilmiş örneklerle yapılan analiz sonuçları ortalaması
 $X_{\text{kirletilmiş}}$: Kirletmek için kullanılan analit miktarı (eklenen konsantrasyonlar)

Geri kazanımın değerlendirilmesinde analit konsantrasyonuna karşı beklenen geri kazanım oranları tablosundaki değerlere bakılır ve uygunluğu kontrol edilir. Tablo 2.4'te analit konsantrasyonuna karşı geri kazanım tablosu görülmektedir.

Tablo 2.4. Bir analit konsantrasyonuna göre beklenen geri kazanım oranları (AOAC, 2016)

Analit (%)	Kütle Fraksiyonu (C)	Birim	Gerçek Geri Kazanım (%)
100	1	%100	98-102
10	10^{-1}	%10	
1	10^{-2}	%1	
0.1	10^{-3}	%0.1	95-105
0.01	10^{-4}	100 ppm (mg/kg)	90-107
0.001	10^{-5}	10 ppm (mg/kg)	
0.0001	10^{-6}	1 ppm (mg/kg)	
0.00001	10^{-7}	100 ppb ($\mu\text{g/kg}$)	80-110
0.000001	10^{-8}	10 ppb ($\mu\text{g/kg}$)	
0.0000001	10^{-9}	1 ppb ($\mu\text{g/kg}$)	

Verifikasyon çalışmasıyla birlikte yapılan bu çalışma için genişletilmiş ölçüm belirsizliği de hesaplanmıştır. Ölçüm belirsizliği; Eurachem'in 2014 yılında yayımladığı kılavuzda ölçüm sonucu ile ölçülen büyüklük arasındaki ilişkinin dağılımı olarak tanımlanır. Belirsizlik sonucuna etkisi olan tüm faktörlerin bileşimidir. Ölçülen büyüklüğün tanımı, örnekleme, örneğin depolanması, hazırlaması, kalibrasyon, analiz ve veri toplama kimyasal analizlerde sistematik hatanın tipik nedenleri arasında sıralanabilir (Magnusson ve Ellison, 2008). Belirsizliklerin bir kısmı validasyon/verifikasyon çalışmaları sırasında elde edilen veriler kullanılarak hesaplanırken (A tipi belirsizlikler) bir kısmı ise kullanılan alet/ekipman/kimyasallarla beraber gelen sertifikalardan hazır hesaplanmış şekliyle alınır (B tipi belirsizlik). Tüm bu belirsizlik kaynaklarından gelen

değerler nihai belirsizlik için birleştirilmelidir. Ancak cam malzemeler, pipet vb. laboratuvar ekipman ve cihazlarından gelen belirsizlikler diğer belirsizlik kaynaklarından gelen değerlerle karşılaştırıldığında ihmal edilebilecek kadar küçük kaldığından nihai belirsizliğe dahil edilmeyebilir (Magnusson ve Örnemark, 2014). Yapılan bu çalışmada ise ölçüm belirsizliği hesabında cihaz kalibrasyonu, kesinlik (tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik), doğruluk (gerçeklik) verileri göz önüne alınmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Verifikasyon Sonuçları

3.1.1. Kalibrasyon ve Doğrusallık

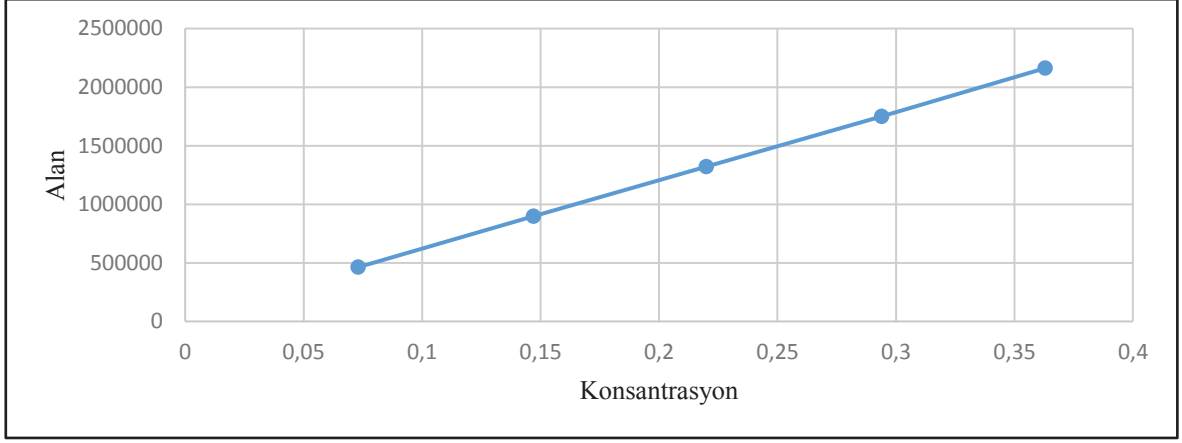
Verifikasyon çalışmasının ilk basamağı cihaz kalibrasyonu ve doğrusallık kontrolleridir. Bu amaçla 5 farklı konsantrasyon düzeyi belirlendi. Bu düzeylerden en düşüğü tayin limiti düzeyinde seçildi. 4 farklı analit için yapılan 3 paralel çalışmanın konsantrasyonlara karşılık gelen ortalama alan miktarları Tablo 3.1’de görülmektedir.

Tablo 3.1. Konsantrasyon ve karşılık gelen alan değerleri

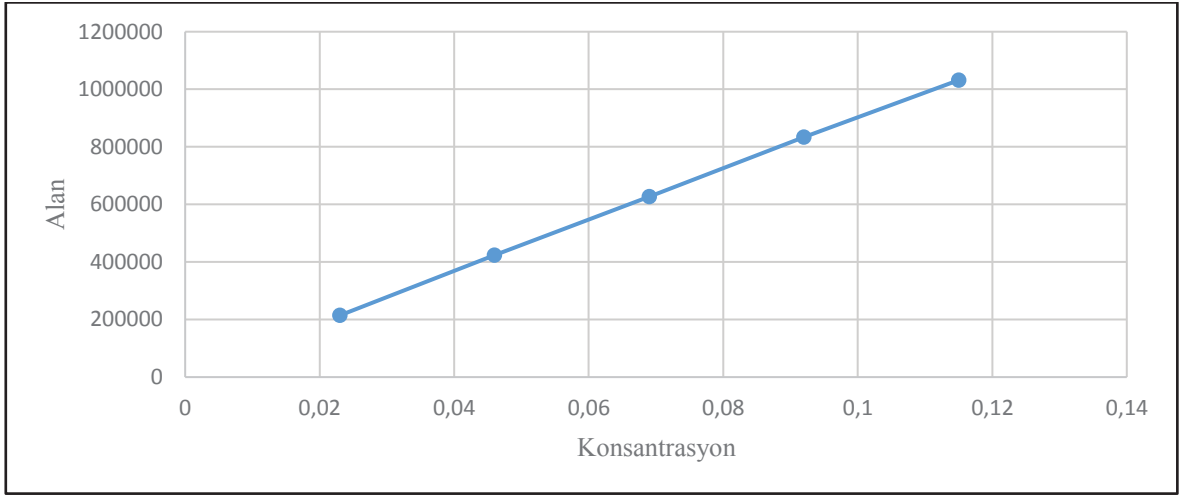
Konsantrasyon Düzeyleri	Konsantrasyon B ₁	Alan B ₁	Konsantrasyon B ₂	Alan B ₂	Konsantrasyon G ₁	Alan G ₁	Konsantrasyon G ₂	Alan G ₂
1	0.073	462772	0.023	214318	0.063	233217	0.020	78099
2	0.147	897796	0.046	423057	0.127	461159	0.040	153523
3	0.220	1321368	0.069	626855	0.190	684551	0.060	228827
4	0.294	1749174	0.092	833924	0.253	908017	0.080	303271
5	0.363	2160946	0.115	1031537	0.317	1123721	0.101	376751

Konsantrasyonlara karşılık gelen hesaplanmış alan büyüklükleri incelendiğinde konsantrasyonla orantılı olarak alan büyüklüklerinin de değiştiği görülmektedir.

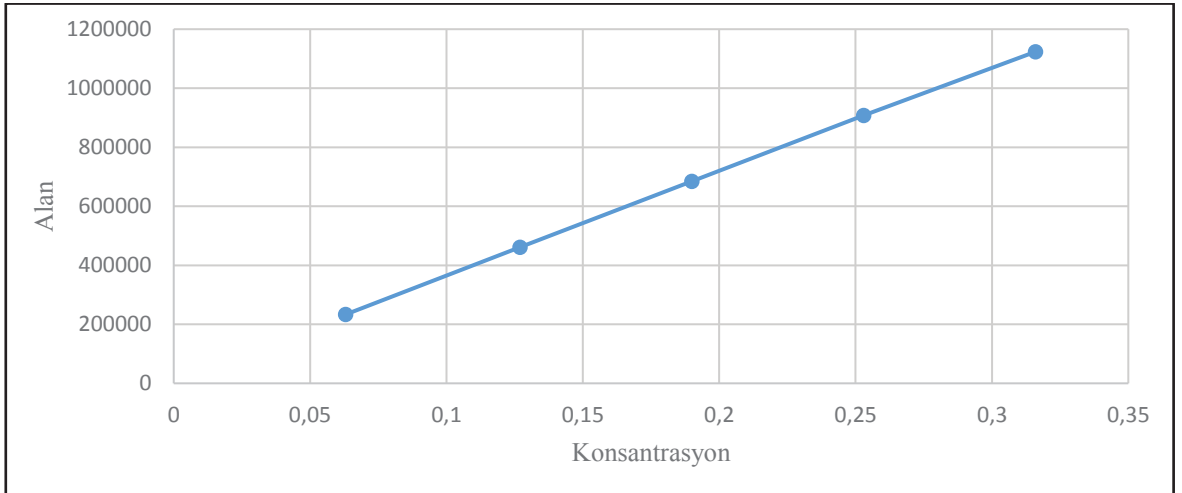
Seri okutmalar sonunda oluşturulan grafiklerin tüm analitler için doğrusallıkları aşağıdaki Şekil 3.1.-3.4’te görülmektedir. Korelasyon katsayısı cihaz tarafından hesaplanmaktadır. Korelasyon katsayısının (r) 0.99’dan büyük olması kalibrasyon eğrisinin doğrusallığına işaret etmektedir.



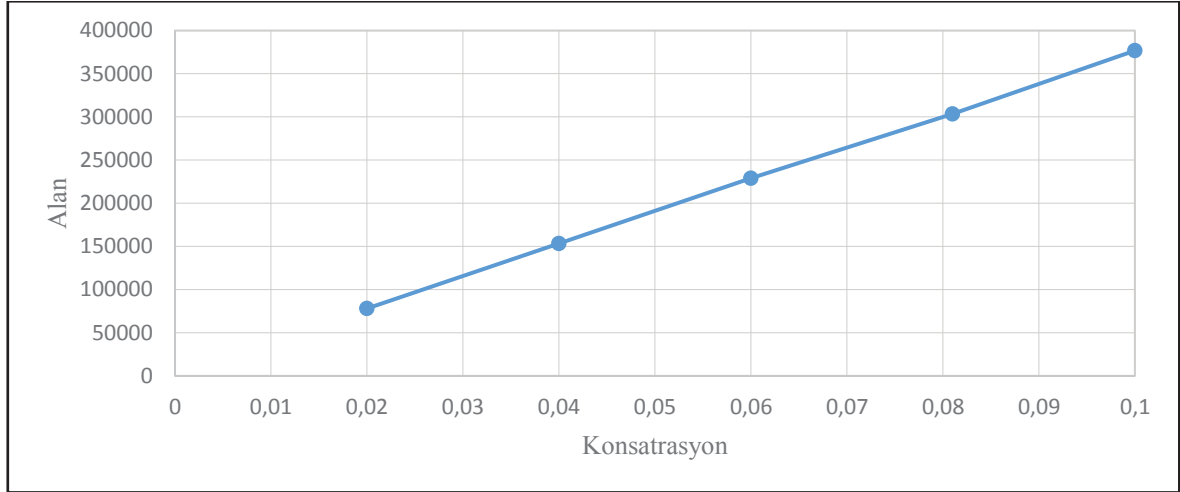
Şekil 3.1. Lineerlik aralığı çalışması (Aflatoksin B₁)



Şekil 3.2. Lineerlik aralığı çalışması (Aflatoksin B₂)



Şekil 3.3. Lineerlik aralığı çalışması (Aflatoksin G₁)



Şekil 3.4. Lineerlik aralığı çalışması (Aflatoksin G2)

Cihaz sinyali ve analit konsantrasyonu arasındaki ilişki incelenerek korelasyon katsayısı (r) ile de doğrusallık hakkında yorum yapılabilir. Cihaz kalibrasyonunda korelasyon katsayısı (r) değerinin 0.99'dan büyük olması kalibrasyon eğrisinin doğrusallığını gösterir. Yapılan bu çalışmada 5 farklı konsantrasyonda 3 paralelli okutma sonucunda cihaza hesaplatılan korelasyon katsayısı (r) değerleri incelendiğinde tüm analitler (aflatoksin B₁, aflatoksin B₂, aflatoksin G₁, aflatoksin G₂) için 0.99'dan büyük olduğu görülmektedir. Analitlere karşılık gelen korelasyon katsayıları ise tablo 3.2.'de verilmiştir.

Bu bilgiler ışığında bu cihaz ve çalışılan analit konsantrasyonları için kalibrasyon eğrisi doğrusaldır ve yapılan kalibrasyon çalışması uygundur.

Tablo 3.2. Analitlere karşılık gelen korelasyon katsayıları

	Aflatoksin B ₁	Aflatoksin B ₂	Aflatoksin G ₁	Aflatoksin G ₂
Korelasyon Katsayısı (r)	0.9999934	0.9999856	0.9999594	0.9999849

3.1.2. Tayin Limiti - Ölçüm Limiti

Tayin / ölçüm limitinin tespiti için II. düzey stok çözeltisinden alınan 17µl'lik hacim ile kör olduğu belirlenen yer fıstığı ezmesi numunesi kirletildi. İlave edilen bu hacim ile aflatoksin G₁ için 0.088 µg/kg, aflatoksin G₂ için 0.024 µg/kg, aflatoksin B₂ için 0.024

$\mu\text{g/kg}$ ve aflatoksin B₁ için 0.082 $\mu\text{g/kg}$ olması beklendi. 10 tekrarlı yapılan çalışma sonuçlarından faydalanılarak standart sapma hesaplandı. Standart sapmanın 3 katı tayin limiti, 10 katı ise ölçüm limiti olarak belirlendi. Tablo 3.3'te ölçüm sonuçları ve tayin/ölçüm limitleri görülmektedir.

Tablo 3.3. Tayin limiti ve ölçüm limiti çalışmaları

$\mu\text{g/kg}$	Aflatoksin G ₂	Aflatoksin G ₁	Aflatoksin B ₂	Aflatoksin B ₁	Toplam
1	0.010	0.050	0.020	0.060	0.130
2	0.020	0.070	0.020	0.070	0.180
3	0.020	0.070	0.020	0.080	0.190
4	0.020	0.060	0.020	0.060	0.160
5	0.020	0.070	0.020	0.070	0.180
6	0.020	0.070	0.020	0.080	0.180
7	0.020	0.050	0.020	0.070	0.150
8	0.020	0.050	0.020	0.070	0.140
9	0.020	0.060	0.020	0.070	0.160
10	0.020	0.070	0.020	0.070	0.170
Gerçek Değer	0.020	0.060	0.020	0.070	0.170
Ortalama μ	0.020	0.060	0.020	0.070	0.170
Standart Sapma	0.002	0.008	0.003	0.007	0.020
LOD	0.007	0.023	0.009	0.021	0.061
LOQ	0.023	0.076	0.029	0.071	0.202

Elde edilen veriler ile standart sapma hesaplanmıştır. Standart sapmanın 3 katı hesaplanarak LOD değeri aflatoksin B₁, aflatoksin B₂, aflatoksin G₁ ve aflatoksin G₂ için sırasıyla 0.021 $\mu\text{g/kg}$, 0.009 $\mu\text{g/kg}$, 0.023 $\mu\text{g/kg}$ ve 0.007 $\mu\text{g/kg}$ olarak belirlenmiştir. LOQ değeri olarak da standart sapmanın 10 katı hesaplanarak aflatoksin B₁, aflatoksin B₂, aflatoksin G₁ ve aflatoksin G₂ için sırasıyla 0.071 $\mu\text{g/kg}$, 0.029 $\mu\text{g/kg}$, 0.076 $\mu\text{g/kg}$ ve 0.023 $\mu\text{g/kg}$ sonuçlarına ulaşılmıştır. Tespit limitinin bu derece düşük olması bu cihazla yeterince hassas çalışılabileceğini göstermektedir.

3.1.3. Kesinlik Çalışması

3.1.3.1. Tekrarlanabilirlik

Kesinlik çalışması için yapılan tekrarlanabilirlik çalışması kör yer fıstığı ezmesi numunesi LOQ/orta/yüksek konsantrasyonlarda kirletilmek suretiyle aynı gün içinde 6

tekrarlı olacak şekilde 2 analist tarafından çalışıldı. Tablo 3.4.-3.8’de çalışma sonuçları ve hesaplanan parametreler görülmektedir.

Tekrarlanabilirlik çalışmasının kabul edilebilir hassasiyette çalışılıp çalışılmadığı ise Horrat değeri ile değerlendirilmiştir. 2.6. numaralı denklikten yararlanılarak elde edilen HorRat değerleri tüm düzeyler için 2’den küçüktür. Bu çalışmanın yeterli hassasiyette çalışıldığını göstermektedir (Stroka vd., 2003).

Aflatoksin B₁ analiti için hesaplanan %RSD_r değeri Horwitz eşitliğinden hesaplanan teorik RSD_r Tablo 3.4.’te görüldüğü üzere karşılaştırılmıştır. 1. analistin LOQ düzeyinde yaptığı tekrarlanabilirlik çalışmasına göre 3,889<23,618; orta seviye için yapılan tekrarlanabilirlik çalışmasına göre 3,910<12,450, yüksek düzey için ise 1,137<11,200 olarak; 2. analistin gerçekleştirdiği çalışmalara bakıldığında ise LOQ düzeyi için 7,223<23,618, orta düzey için 2,274<12,450, yüksek düzey için 1,137<11,220 değerlendirmesi yapılmıştır. Bu sonuçlara göre %RSD_r<%HRSD_r olduğundan her iki analist için ve çalışılan tüm düzeyler için paralel çalışmalar arasında istatistiki anlamda fark bulunmazken tekrarlanabilirlikleri uygundur. Analistlerin birbirleri ile olan uyumunu karşılaştırmak için ise LOQ, orta ve yüksek düzeyler için ayrı ayrı hesaplanan %RSD_{rpool} ile %HRSD_r karşılaştırılmıştır. LOQ düzeyi için 5,901<23,618, orta düzey için 3,148<12,450, yüksek düzey için 1,472<11,220 sonuçları göz önüne alındığında tüm düzeyler için %RSD_{rpool} <%HRSD_r olduğu görülmektedir. Bu durumda kişiler arasındaki tekrarlanabilirlik çalışması uyumludur.

Tablo 3.4. Yer fıstığı tekrarlanabilirlik çalışması (Aflatoksin B₁)

Sıra No	LOQ		ORTA		YÜKSEK	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.
1	0.064	0.063	4.52	4.100	9.510	9.160
2	0.070	0.057	4.32	4.090	9.630	9.250
3	0.070	0.068	4.28	3.990	9.140	9.370
4	0.069	0.066	4.33	4.110	9.220	9.340
5	0.069	0.07	4.26	4.280	9.290	9.450
6	0.072	0.068	4.000	4.110	9.230	9.40
Ortalama	0.069	0.065	4.285	4.113	9.337	9.328
Standart Sapma	0.003	0.005	0.168	0.094	0.191	0.106
%RSD _r	3.889	7.223	3.910	2.274	2.043	1.137
%HRSD _r	23.618	23.618	12.450	12.450	11.220	11.220
n-1	5	5	5	5	5	5
Tekrarlanabilirlik kontrolü	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru
Tekrarlanabilirlik limiti(f(6)=4)	0.011	0.019	0.670	0.374	0.763	0.424
X _{max} -X _{min}	0.008	0.013	0.52	0.29	0.49	0.29
Tekrarlanabilirlik limit uygunluk kontrolü (r)	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru
Horrat	0.164	0.305	0.313	0.182	0.182	0.101
Tekrarlanabilirlik limiti(f(12)=4.6)	0.019		0.724		0.677	
max-min	0.015		0.530		0.490	
Analizciler arası tekrarlanabilirlik limiti uygunluğu	Uygun		Uygun		Uygun	
Gerçek değer	0.070		5.000		10.000	
Birleşik standart sapma	0.004		0.157		0.147	
%RSD _{r pool}	5.901		3.148		1.472	
%HRSD _r	23.618		12.450		11.220	
Genel tekrarlanabilirlik kontrolü	Uygun		Uygun		Uygun	

Aflatoksin B₂ analiti için hesaplanan %RSD_r değeri Horwitz eşitliğinden hesaplanan teorik RSD_r Tablo 3.5.'te görüldüğü üzere karşılaştırılmıştır. 1. analistin LOQ düzeyinde yaptığı tekrarlanabilirlik çalışmasına göre 8,666<20,176; orta seviye için yapılan tekrarlanabilirlik çalışmasına göre 2,339<15,327, yüksek düzey için ise 2,253<13,814 olarak; 2. analistin gerçekleştirdiği çalışmalara bakıldığında ise LOQ düzeyi için 2,252<20,176, orta düzey için 3,027<15,327, yüksek düzey için 1,543<13,814 değerlendirmesi yapılmıştır. Bu sonuçlara göre %RSD_r<%HRSD_r olduğundan her iki analist için ve çalışılan tüm düzeyler için paralel çalışmalar arasında istatistiki anlamda fark bulunmazken tekrarlanabilirlikleri uygundur. Analistlerin birbirleri ile olan uyumunu karşılaştırmak için ise LOQ, orta ve yüksek düzeyler için ayrı ayrı hesaplanan %RSD_{r pool} ile %HRSD_r karşılaştırılmıştır. LOQ düzeyi için 6,337<20,176, orta düzey için 3,067<15,327, yüksek düzey için 2,626<13,814 sonuçları göz önüne alındığında tüm düzeyler için %RSD_{r pool}<%HRSD_r olduğu görülmektedir. Bu durumda kişiler arasındaki tekrarlanabilirlik çalışması uyumludur.

Tablo 3.5. Yer fıstığı tekrarlanabilirlik çalışması (Aflatoksin B₂)

Sıra No	LOQ		ORTA		YÜKSEK	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.
1	0.019	0.016	1.400	1.330	3.000	2.800
2	0.015	0.016	1.350	1.280	3.060	2.890
3	0.018	0.016	1.320	1.330	2.890	2.900
4	0.017	0.016	1.350	1.300	2.950	2.870
5	0.017	0.017	1.340	1.370	2.930	2.930
6	0.019	0.016	1.310	1.260	2.890	2.900
Ortalama	0.018	0.016	1.345	1.312	2.953	2.882
Standart Sapma	0.002	0.000	0.031	0.040	0.067	0.044
%RSD _r	8.666	2.525	2.339	3.027	2.253	1.543
%HRSD _r	20.176	20.176	15.327	15.327	13.814	13.814
n-1	5	5	5	5	5	5
Tekrarlanabilirlik kontrolü	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru
Tekrarlanabilirlik limiti(f(6)=4)	0.006	0.002	0.126	0.159	0.266	0.178
X _{max} -X _{min}	0.004	0.001	0.09	0.11	0.17	0.13
Tekrarlanabilirlik limit uygunluk kontrolü (r)	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru
Horrrat	0.303	0.088	0.152	0.197	0.230	0.158
Tekrarlanabilirlik limiti(f(12)=4.6)	0.006		0.176		0.302	
max-min	0.004		0.140		0.260	
Analizciler arası tekrarlanabilirlik limiti uygunluğu	Uygun		Uygun		Uygun	
Gerçek değer	0.020		1.250		2.500	
Birleşik standart sapma	0.001		0.038		0.066	
%RSD _{r pool}	6.337		3.067		2.626	
%HRSD _r	20.176		15.327		13.814	
Genel tekrarlanabilirlik kontrolü	Uygun		Uygun		Uygun	

Aflatoksin G₁ analiti için hesaplanan %RSD_r değeri Horwitz eşitliğinden hesaplanan teorik RSD_r Tablo 3.6.'da görüldüğü üzere karşılaştırılmıştır. 1. analistin LOQ düzeyinde yaptığı tekrarlanabilirlik çalışmasına göre 9,255<24,170; orta seviye için yapılan tekrarlanabilirlik çalışmasına göre 1,146<12,450, yüksek düzey için ise 2,150<11,220 olarak; 2. analistin gerçekleştirdiği çalışmalara bakıldığında ise LOQ düzeyi için 10,210<24,17, orta düzey için 3,251<12,450, yüksek düzey için 2,133<11,220 değerlendirmesi yapılmıştır. Bu sonuçlara göre %RSD_r<%HRSD_r olduğundan her iki analist için ve çalışılan tüm düzeyler için paralel çalışmalar arasında istatistiki anlamda fark bulunmazken tekrarlanabilirlikleri uygundur. Analistlerin birbirleri ile olan uyumunu karşılaştırmak için ise LOQ, orta ve yüksek düzeyler için ayrı ayrı hesaplanan %RSD_{r pool} ile %HRSD_r karşılaştırılmıştır. LOQ düzeyi için 6,322<24,170, orta düzey için 2,114<12,450, yüksek düzey için 2,210<11,220 sonuçları göz önüne alındığında tüm düzeyler için %RSD_{r pool}<%HRSD_r olduğu görülmektedir. Bu durumda kişiler arasındaki tekrarlanabilirlik çalışması uyumludur.

Tablo 3.6. Yer fıstığı tekrarlanabilirlik çalışması (Aflatoksin G₁)

Sıra No	LOQ		ORTA		YÜKSEK	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.
1	0.048	0.037	4.260	4.100	9.900	9.770
2	0.039	0.042	4.250	4.060	10.120	9.290
3	0.040	0.040	4.210	4.040	9.600	9.720
4	0.040	0.039	4.250	4.140	9.760	9.610
5	0.037	0.048	4.210	4.400	9.660	9.360
6	0.042	0.037	4.130	4.070	9.570	9.720
Ortalama	0.041	0.041	4.218	4.135	9.768	9.578
Standart Sapma	0.004	0.004	0.048	0.134	0.210	0.204
%RSD _r	9.255	10.210	1.146	3.251	2.150	2.133
%HRSD _r	24.170	24.170	12.450	12.450	11.220	11.220
n-1	5	5	5	5	5	5
Tekrarlanabilirlik kontrolü	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Tekrarlanabilirlik limiti(f(6)=4)	0.015	0.017	0.193	0.538	0.840	0.817
X _{max} -X _{min}	0.011	0.011	0.13	0.36	0.55	0.48
Tekrarlanabilirlik limit uygunluk kontrolü (r)	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru
Horrat	0.382	0.421	0.092	0.261	0.220	0.218
Tekrarlanabilirlik limiti(f(12)=4.6)	0.017		0.486		1.017	
max-min	0.011		0.360		0.830	
Analizciler arası tekrarlanabilirlik limiti uygunluğu	Uygun		Uygun		Uygun	
Gerçek değer	0.060		5.000		10.000	
Birleşik standart sapma	0.004		0.106		0.221	
%RSD _{r pool}	6.322		2.114		2.210	
%HRSD _r	24.170		12.450		11.220	
Genel tekrarlanabilirlik kontrolü	Uygun		Uygun		Uygun	

Aflatoksin G₂ analiti için hesaplanan %RSD_r değeri Horwitz eşitliğinden hesaplanan teorik RSD_r Tablo 3.7.'da görüldüğü üzere karşılaştırılmıştır. 1. analistin LOQ düzeyinde yaptığı tekrarlanabilirlik çalışmasına göre 25,435<28,500; orta seviye için yapılan tekrarlanabilirlik çalışmasına göre 3,637<15,327, yüksek düzey için ise 2,665<13,814 olarak; 2. analistin gerçekleştirdiği çalışmalara bakıldığında ise LOQ düzeyi için 18,631<28,500, orta düzey için 2,141<15,327, yüksek düzey için 2,506<13,814 değerlendirmesi yapılmıştır. Bu sonuçlara göre %RSD_r<%HRSD_r olduğundan her iki analist için ve çalışılan tüm düzeyler için paralel çalışmalar arasında istatistiki anlamda fark bulunmazken tekrarlanabilirlikleri uygundur. Analistlerin birbirleri ile olan uyumunu karşılaştırmak için ise LOQ, orta ve yüksek düzeyler için ayrı ayrı hesaplanan %RSD_{r pool} ile %HRSD_r karşılaştırılmıştır. LOQ düzeyi için 22,797<28,500, orta düzey için 2,901<15,327, yüksek düzey için 3,289<13,814 sonuçları göz önüne alındığında tüm düzeyler için %RSD_{r pool}<%HRSD_r olduğu görülmektedir. Bu durumda kişiler arasındaki tekrarlanabilirlik çalışması uyumludur.

Tablo 3.7. Yer fıstığı tekrarlanabilirlik çalışması (Aflatoksin G₂)

Sıra No	LOQ		ORTA		YÜKSEK	
	1.	2.	1.	2.	1.	2.
1	0.018	0.019	1.150	1.080	2.610	2.370
2	0.029	0.012	1.110	1.020	2.680	2.480
3	0.017	0.013	1.040	1.070	2.500	2.460
4	0.018	0.012	1.080	1.050	2.530	2.450
5	0.017	0.014	1.110	1.070	2.540	2.560
6	0.016	0.015	1.060	1.040	2.520	2.440
Ortalama	0.019	0.014	1.092	1.0550	2.563	2.4600
Standart Sapma	0.005	0.003	0.040	0.023	0.068	0.062
%RSD _r	25.435	18.631	3.637	2.141	2.665	2.506
%HRSD _r	28.500	28.500	15.327	15.327	13.814	13.814
n-1	5	5	5	5	5	5
Tekrarlanabilirlik kontrolü	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Tekrarlanabilirlik limiti(f(6)=4)	0.020	0.011	0.159	0.090	0.273	0.247
X _{max} -X _{min}	0.013	0.007	0.11	0.06	0.18	0.19
Tekrarlanabilirlik limit uygunluk kontrolü (r)	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru	Doğru
Horrat	0.890	0.652	0.237	0.139	0.385	0.362
Tekrarlanabilirlik limiti(f(12)=4.6)	0.021		0.167		0.378	
max-min	0.017		0.130		0.310	
Analizciler arası tekrarlanabilirlik limiti uygunluğu	Uygun		Uygun		Uygun	
Gerçek değer	0.020		1.250		2.500	
Birleşik standart sapma	0.005		0.036		0.082	
%RSD _{r pool}	22.797		2.901		3.289	
%HRSD _r	28.500		15.327		13.814	
Genel tekrarlanabilirlik kontrolü	Uygun		Uygun		Uygun	

Toplam aflatoksin G₂ analiti için hesaplanan %RSD_r değeri Horwitz eşitliğinden hesaplanan teorik RSD_r Tablo 3.8.'de görüldüğü üzere karşılaştırılmıştır. 1. analistin LOQ düzeyinde yaptığı tekrarlanabilirlik çalışmasına göre 3,777<20,675; orta seviye için yapılan tekrarlanabilirlik çalışmasına göre 2,323<10,851, yüksek düzey için ise 2,129<9,779 olarak; 2. analistin gerçekleştirdiği çalışmalara bakıldığında ise LOQ düzeyi için 5,442<20,675, orta düzey için 2,438<10,851, yüksek düzey için 2,183<9,779 değerlendirmesi yapılmıştır. Bu sonuçlara göre %RSD_r<%HRSD_r olduğundan her iki analist için ve çalışılan tüm düzeyler için paralel çalışmalar arasında istatistiki anlamda fark bulunmazken tekrarlanabilirlikleri uygundur. Analistlerin birbirleri ile olan uyumunu karşılaştırmak için ise LOQ, orta ve yüksek düzeyler için ayrı ayrı hesaplanan %RSD_{r pool} ile %HRSD_r karşılaştırılmıştır. LOQ düzeyi için 4,222<20,674, orta düzey için 2,349<10,851, yüksek düzey için 2,125<9,779 sonuçları göz önüne alındığında tüm düzeyler için %RSD_{r pool}<%HRSD_r olduğu görülmektedir. Bu durumda kişiler arasındaki tekrarlanabilirlik çalışması uyumludur.

Tekrarlanabilirlik koşullarında yapılan çalışmalarda hem her bir analistin kendi yaptığı çalışmaların hem de analistler arasındaki çalışmaların tutarlılığının kontrolünde tekrarlanabilirlik limiti (r) hesaplanmış ve en yüksek değer ile en düşük değer arasındaki fark ile kıyaslanmıştır. Bu kıyaslamada (r) değerinin büyük olması beklenir (TS 5822-6. 2003). Yapılan bu çalışmada Tablo 3.4., 3.5., 3.6., 3.7. ve 3.8.'de görüldüğü gibi Aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, ve toplam aflatoksin yönünden her iki analist tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda en yüksek ve en düşük sonuçlar arasındaki fark tekrarlanabilirlik limiti (r)'den düşük olduğundan çalışma tutarlı olduğu anlaşılmıştır.

Tekrarlanabilirlik çalışmasında farklı konsantrasyonların kendi içinde istatistiki olarak ortalamadan anlamlı derecede uzaklaşıp uzaklaşmadığını saptamak için tek yönlü F testi MS Excel veri çözümlemesi ile yapılmıştır.

Tablo 3.8. Yer fıstığı tekrarlanabilirlik çalışması (Toplam Aflatoksin)

Sıra No	LOQ		ORTA		YÜKSEK	
	1	2	1	2	1	2
1	0.150	0.140	11.270	10.610	25.020	24.740
2	0.140	0.130	11.030	10.450	25.480	23.520
3	0.150	0.140	10.850	10.430	24.130	24.620
4	0.140	0.130	11.000	10.600	24.460	24.430
5	0.140	0.150	10.910	11.120	24.420	23.730
6	0.150	0.140	10.500	10.480	24.210	24.700
Ortalama	0.145	0.138	10.927	10.615	24.620	24.290
Standart Sapma	0.005	0.008	0.254	0.259	0.524	0.530
%RSD _r	3.777	5.442	2.323	2.438	2.129	2.183
%HRSD _r	20.675	20.674	10.851	10.851	9.779	9.779
n-1	5	5	5	5	5	5
Tekrarlanabilirlik kontrolü	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Tekrarlanabilirlik limiti(f(6)=4)	0.022	0.030	1.015	1.035	2.096	2.121
X _{max} -X _{min}	0.01	0.02	0.77	0.69	1.35	1.22
Tekrarlanabilirlik limit uygunluk kontrolü (r)	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Horrat	0.182	0.263	0.151	0.159	0.307	0.315
Tekrarlanabilirlik limiti(f(12)=4.6)	0.033		1.351		2.444	
max-min	0.020		0.840		1.960	
Analizciler arası tekrarlanabilirlik limiti uygunluğu	Uygun		Uygun		Uygun	
Gerçek değer	0.170		12.500		25.000	
Birleşik standart sapma	0.007		0.294		0.531	
%RSD _{r pool}	4.222		2.349		2.125	
%HRSD _r	20.674		10.851		9.779	
Genel tekrarlanabilirlik kontrolü	Uygun		Uygun		Uygun	

Tablo 3.9'da test sonuçları görülmektedir. F_{kritik} değerleri her iki analist ve tüm çalışma düzeyleri için F_{hesap} değerlerinden büyük olduğundan analitik ortalamaya göre anlamlı bir farklılık göstermediğine işaret etmektedir.

Tablo 3.9. Yer fıstığı tekrarlanabilirlik F testi sonuçları.

Yer Fıstığı Numunesi	LOQ Seviyesi		F Test Sonuçları			
	F _{hesap}	F _{kritik}	Orta Seviye		Yüksek Seviye	
	F _{hesap}	F _{kritik}	F _{hesap}	F _{kritik}	F _{hesap}	F _{kritik}
Aflatoksin B ₁	3.093	5.050	3.210	5.050	3.232	5.050
Aflatoksin B ₂	3.800	5.050	1.876	5.050	2.240	5.050
Aflatoksin G ₁	1.188	5.050	4.733	5.050	1.057	5.050
Aflatoksin G ₂	3.411	5.050	3.092	5.050	1.228	5.050
Toplam	1.889	5.050	1.040	5.050	1.023	5.050

3.1.3.2. Ara Kesinlik (Tekrar Üretilirlik)

Kesinlik çalışmasının bir diğer parametresi olan tekrar üretilebilirlik çalışması için kör yer fıstığı ezmesi numunesi LOQ/orta/yüksek konsantrasyonlarda kirletilmiş ve farklı 6 günde olacak şekilde 2 analist tarafından çalışılmıştır. Tablo 3.10-3.14'te tekrar üretilebilirlik analiz sonuçları ile hesaplanan parametreler görülmektedir.

Tekrar üretilebilirlik çalışmasının kabul edilebilir hassasiyette çalışılıp çalışılmadığı ise Horrat değeri ile değerlendirilmiştir. 2.6. numaralı denklikten yararlanılarak elde edilen HorRat değerleri tüm düzeyler için 2'den küçüktür. Bu değer çalışmanın yeterli hassasiyette çalışıldığını göstermektedir (Stroka vd., 2003).

Aflatoksin B₁ analiti için hesaplanan %RSD_R değeri Horwitz eşitliğinden hesaplanan teorik RSD_R Tablo 3.10.'da görüldüğü üzere karşılaştırılmıştır. 1. analistin LOQ düzeyinde yaptığı tekrar üretilebilirlik çalışmasına göre 12,619<20,723; orta seviye için yapılan tekrar üretilebilirlik çalışmasına göre 3,705<15,364, yüksek düzey için ise 4,350<6,923 olarak; 2. analistin gerçekleştirdiği çalışmalara bakıldığında ise LOQ düzeyi için 5,977<23,618, orta düzey için 1,787<15,364, yüksek düzey için 3,381<6,923 değerlendirmesi yapılmıştır. Bu sonuçlara göre %RSD_R<%HRSD_R olduğundan her iki analist için ve çalışılan tüm düzeyler için paralel çalışmalar arasında istatistiki anlamda fark bulunmazken tekrar üretilebilirlikleri uygundur. Analistlerin birbirleri ile olan uyumunu karşılaştırmak için ise LOQ, orta ve yüksek düzeyler için ayrı ayrı hesaplanan %RSD_{Rpool} ile %HRSD_R karşılaştırılmıştır. LOQ düzeyi için 1,239<20,723, orta düzey için 3,418<15,364, yüksek düzey için 4,764<6,923 sonuçları göz önüne alındığında tüm düzeyler için %RSD_{Rpool}<%HRSD_R olduğu görülmektedir. Bu durumda kişiler arasındaki tekrar üretilebilirlik çalışması uyumludur. Tekrar üretilebilirlik koşullarında yapılan çalışmalarda hem her bir analistin kendi yaptığı çalışmaların hem de analistler arasındaki çalışmaların tutarlılığının

kontrolünde tekrar üretilebilirlik limiti (R) hesaplanmış ve en yüksek değer ile en düşük değer arasındaki fark ile kıyaslanmıştır. Bu kıyaslamada (R) değerinin büyük olması beklenir (TS 5822-6. 2003).

Tablo 3.10. Yer fıstığı ıstık ezmesi tekrar üretilebilirlik çalışması (Aflatoksin B₁)

Sıra No	LOQ		ORTA		YÜKSEK	
	1	2	1	2	1	2
1.Gün	0.078	0.068	4.260	4.030	9.080	8.530
2.Gün	0.062	0.062	4.420	4.100	9.200	8.990
3.Gün	0.059	0.059	4.040	4.130	8.570	8.60
4.Gün	0.058	0.059	4.090	3.940	8.710	8.540
5.Gün	0.060	0.061	4.230	4.120	8.510	8.540
6.Gün	0.057	0.058	4.020	4.030	8.180	8.080
Ortalama	0.062	0.061	4.177	4.058	8.708	8.547
Standart Sapma	0.008	0.004	0.155	0.073	0.379	0.289
%RSD _R	12.619	5.977	3.705	1.787	4.350	3.381
%HRSD _R	20.723	20.723	15.364	15.364	6.923	6.923
n-1	5	5	5	5	5	5
Tekrarlanabilirlik kontrolü	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Tekrarlanabilirlik limiti(f(6)=4)	0.031	0.015	0.619	0.290	1.515	1.156
X _{max} -X _{min}	0.021	0.010	0.400	0.190	1.020	0.910
Tekrar üretilebilirlik limit uygunluk kontrolü (R)	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Horrat	0.609	0.288	0.241	0.116	0.628	0.488
Tekrar üretilebilirlik limiti(f(2)=2.8)	0.024		0.478		1.334	
max-min	0.001		0.118		0.162	
Analizciler arası tekrar üretilebilirlik limiti uygunluğu	Uygun		Uygun		Uygun	
Gerçek değer	0.700		5.000		10.000	
Birleşik standart sapma	0.009		0.171		0.476	
%RSD _{R pool}	1.239		3.418		4.764	
%HRSD _R	20.723		15.364		6.923	
Genel tekrar üretilebilirlik kontrolü	Uygun		Uygun		Uygun	

Tablo 3.10. incelendiğinde 1. Analist için LOQ, orta ve yüksek düzeyler için sırasıyla 0,031>0,021, 0,619>0,400, 1,515>1,020 iken 2. analist için ise 0,015>0,010, 0,290>0,190, 1,156>0,910 sonucuna ulaşıldığından her bir analistin yaptığı çalışmaların farkı kendi içinde tutarlıdır. Analistlerin yaptığı çalışmaların birbirleri ile olan uyumuna

bakıldığında LOQ, orta ve yüksek düzeyler için $0.024 > 0.001$, $0.478 > 0.118$, $1.334 > 0.162$ sonucuna ulaşılmıştır. Tüm düzeyler için $R > (\max - \min)$ olduğundan analistlerin yaptığı çalışmaların aralarındaki farkın da birbiri ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Aflatoksin B₂ analiti için hesaplanan %RSD_R değeri Horwitz eşitliğinden hesaplanan teorik RSD_R Tablo 3.11.'de görüldüğü üzere karşılaştırılmıştır. 1. analistin LOQ düzeyinde yaptığı tekrar üretilebilirlik çalışmasına göre $15,575 < 28,162$; orta seviye için yapılan çalışmaya göre $2,913 < 21,702$, yüksek düzey için ise $2,479 < 6,923$ olarak; 2. analistin gerçekleştirdiği çalışmalara bakıldığında ise LOQ düzeyi için $5,075 < 28,162$, orta düzey için $1,344 < 21,702$, yüksek düzey için $2,602 < 6,923$ değerlendirmesi yapılmıştır. Bu sonuçlara göre %RSD_R < %HRSD_R olduğundan her iki analist için ve çalışılan tüm düzeyler için paralel çalışmalar arasında istatistiki anlamda fark bulunmazken tekrar üretilebilirlikleri uygundur. Analistlerin birbirleri ile olan uyumunu karşılaştırmak için ise LOQ, orta ve yüksek düzeyler için ayrı ayrı hesaplanan %RSD_{Rpool} ile %HRSD_R karşılaştırılmıştır. LOQ düzeyi için $10,820 < 28,162$, orta düzey için $3,331 < 21,702$, yüksek düzey için $3,953 < 6,923$ sonuçları göz önüne alındığında tüm düzeyler için %RSD_{Rpool} < %HRSD_R olduğu görülmektedir. Bu durumda kişiler arasındaki tekrar üretilebilirlik çalışması uyumludur.

Yapılan her bir çalışmanın diğerleri ile olan uyumluluğunu anlamak için tablo 3.11. incelendiğinde 1. analist için LOQ, orta ve yüksek düzeyler için sırasıyla $0.009 > 0.006$, $0.151 > 0.110$, $0.276 > 0.160$ iken 2. analist için ise $0.003 > 0.002$, $0.070 > 0.050$, $0.283 > 0.170$ sonucuna ulaşıldığından her bir analistin yaptığı çalışmaların farklılıkları kendi içinde tutarlıdır. Analistlerin yaptığı çalışmaların birbirleri ile olan uyumuna bakıldığında LOQ, orta ve yüksek düzeyler için $0.007 > 0.001$, $0.117 > 0.007$, $0.277 > 0.073$ sonucuna ulaşılmıştır. Tüm düzeyler için $R > (\max - \min)$ olduğundan analistlerin yaptığı çalışmaların aralarındaki farkın da birbiri ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.11. Yer fıstığı ezmesi tekrar üretilebilirlik çalışması (Aflatoksin B₂)

Sıra No	LOQ		ORTA		YÜKSEK	
	1	2	1	2	1	2
1.Gün	0.019	0.016	1.340	1.320	2.880	2.660
2.Gün	0.014	0.015	1.290	1.270	2.870	2.790
3.Gün	0.014	0.014	1.230	1.310	2.720	2.620
4.Gün	0.013	0.015	1.290	1.300	2.740	2.680
5.Gün	0.013	0.015	1.310	1.310	2.750	2.770
6.Gün	0.014	0.014	1.320	1.310	2.770	2.770
Ortalama	0.015	0.015	1.297	1.303	2.788	2.715
Standart Sapma	0.002	0.001	0.038	0.018	0.069	0.071
%RSD _R	15.575	5.075	2.913	1.344	2.479	2.602
%HRSD _R	28.162	28.162	21.702	21.702	6.923	6.923
n-1	5	5	5	5	5	5
Tekrarlanabilirlik kontrolü	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Tekrarlanabilirlik limiti(f(6)=4)	0.009	0.003	0.151	0.070	0.276	0.283
X _{max} -X _{min}	0.006	0.002	0.11	0.05	0.16	0.17
Tekrar üretilebilirlik limit uygunluk kontrolü (R)	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Horrat	0.553	0.180	0.134	0.062	0.358	0.376
Tekrar üretilebilirlik limiti(f(2)=2.8)	0.007		0.117		0.277	
max-min	0.000		0.007		0.073	
Analizciler arası tekrar üretilebilirlik limiti uygunluğu	Uygun		Uygun		Uygun	
Gerçek değer	0.022		1.250		2.500	
Birleşik standart sapma	0.002		0.042		0.099	
%RSD _{R pool}	10.820		3.331		3.953	
%HRSD _R	28.162		21.702		6.923	
Genel tekrar üretilebilirlik kontrolü	Uygun		Uygun		Uygun	

Aflatoksin G₁ analiti için hesaplanan %RSD_R değeri Horwitz eşitliğinden hesaplanan teorik RSD_R Tablo 3.12’de görüldüğü üzere karşılaştırılmıştır. 1. analistin LOQ düzeyinde yaptığı tekrar üretilebilirlik çalışmasına göre 8,863< 24,227; orta seviye için yapılan çalışmaya göre 3,768<17,627, yüksek düzey için ise 5,879<7,943 olarak; 2. analistin gerçekleştirdiği çalışmalara bakıldığında ise LOQ düzeyi için 18,643<24,227, orta düzey için 12,205<17,627, yüksek düzey için 3,937<7,943 değerlendirmesi yapılmıştır. Bu sonuçlara göre %RSD_R<%HRSD_R olduğundan her iki analist için ve çalışılan tüm düzeyler için paralel çalışmalar arasında istatistiki anlamda fark bulunmazken tekrar üretilebilirlikleri uygundur. Analistlerin birbirleri ile olan uyumunu karşılaştırmak için ise LOQ, orta ve yüksek düzeyler için ayrı ayrı hesaplanan %RSD_{R pool} ile %HRSD_R

karşılaştırılmıştır. LOQ düzeyi için $18,592 < 24,227$, orta düzey için $3,501 < 17,627$, yüksek düzey için $6,108 < 7,943$ sonuçları göz önüne alındığında tüm düzeyler için $\%RSD_{R_{pool}} < \%HRSD_R$ olduğu görülmektedir. Bu durumda kişiler arasındaki tekrar üretilebilirlik çalışması uyumludur.

Tablo 3.12. incelendiğinde tekrar üretilebilirlik limiti (R) ve (max-min) karşılaştırmaları 1. analist için LOQ, orta ve yüksek düzeyler için sırasıyla $0,018 > 0,010$, $0,603 > 0,360$, $2,038 > 1,260$ iken 2. analist için ise $0,041 > 0,027$, $0,356 > 0,250$, $1,348 > 0,870$ sonucuna ulaşılmıştır. Tüm düzeyler için $R > (max-min)$ olduğundan her bir analistin yaptığı çalışmaların farkı kendi içinde tutarlıdır. Analistlerin yaptığı çalışmaların birbirleri ile olan uyumuna bakıldığında yine tekrar üretilebilirlik limiti (R) ve (max-min) karşılaştırılmış ve LOQ, orta ve yüksek düzeyler için $0,031 > 0,004$, $0,490 > 0,032$, $1,710 > 0,110$ sonucuna ulaşılmıştır. Tüm düzeyler için $R > (max-min)$ olduğundan analistlerin yaptığı çalışmaları aralarındaki fark da birbiri ile uyumlu olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3.12. Yer fıstığı ezmesi tekrar üretilebilirlik çalışması (Aflatoksin G₁)

Sıra No	LOQ		ORTA		YÜKSEK	
	1	2	1	2	1	2
1.Gün	0.047	0.045	4.180	4.060	9.330	8.670
2.Gün	0.056	0.06	4.160	4.080	9.170	8.950
3.Gün	0.057	0.046	3.850	4.060	8.560	8.60
4.Gün	0.048	0.05	3.820	3.860	8.690	8.810
5.Gün	0.047	0.072	3.980	4.110	8.070	8.230
6.Gün	0.052	0.055	4.020	4.030	8.180	8.080
Ortalama	0.051	0.055	4.002	4.033	8.667	8.557
Standart Sapma	0.005	0.010	0.151	0.089	0.510	0.337
%RSD _R	8.863	18.643	3.768	2.205	5.879	3.937
%HRSD _R	24.227	24.227	17.627	17.627	7.943	7.943
n-1	5	5	5	5	5	5
Tekrarlanabilirlik kontrolü	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Tekrarlanabilirlik limiti(f(6)=4)	0.018	0.041	0.603	0.356	2.038	1.348
X _{max} -X _{min}	0.010	0.027	0.360	0.250	1.260	0.870
Tekrar üretilebilirlik limit uygunluk kontrolü (R)	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Horrat	0.366	0.769	0.214	0.125	0.740	0.496
Tekrar üretilebilirlik limiti(f(2)=2.8)	0.031		0.490		1.710	
max-min	0.004		0.032		0.110	
Analizciler arası tekrar üretilebilirlik limiti uygunluğu	Uygun		Uygun		Uygun	
Gerçek değer	0.060		5.000		10.000	
Birleşik standart sapma	0.011		0.175		0.611	
%RSD _{R pool}	18.592		3.501		6.108	
%HRSD _R	24.227		17.627		7.943	
Genel tekrar üretilebilirlik kontrolü	Uygun		Uygun		Uygun	

Aflatoksin G₂ analiti için hesaplanan %RSD_R değeri Horwitz eşitliğinden hesaplanan teorik RSD_R Tablo 3.13.'da görüldüğü üzere karşılaştırılmıştır. 1. analistin LOQ düzeyinde yaptığı tekrar üretilebilirlik çalışmasına göre 14,556<40,353; orta seviye için yapılan çalışmaya göre 3,069<15,364, yüksek düzey için ise 3,944<6,923 olarak; 2. analistin gerçekleştirdiği çalışmalara bakıldığında ise LOQ düzeyi için 21,222<40,353, orta düzey için 2,435<15,364, yüksek düzey için 2,422<6,923 değerlendirmesi yapılmıştır. Bu sonuçlara göre %RSD_R<%HRSD_R olduğundan her iki analist için ve çalışılan tüm düzeyler için paralel çalışmalar arasında istatistiki anlamda fark bulunmazken tekrar üretilebilirlikleri uygundur. Analistlerin birbirleri ile olan uyumunu karşılaştırmak için ise LOQ, orta ve yüksek düzeyler için ayrı ayrı hesaplanan %RSD_{R pool} ile %HRSD_R karşılaştırılmıştır. LOQ düzeyi için 31,038<40,353, orta düzey için 3,200<15,364, yüksek

düzey için $4,129 < 6,923$ sonuçları göz önüne alındığında tüm düzeyler için $\%RSD_{R_{pool}} < \%HRSD_R$ olduğu görülmektedir. Bu durumda kişiler arasındaki tekrar üretilebilirlik çalışması uyumludur. Tablo 3.13. incelendiğinde tekrar üretilebilirlik limiti (R) ile (max-min) karşılaştırılmıştır. 1. analist için LOQ, orta ve yüksek düzeyler için sırasıyla $0,014 > 0,009$, $0,125 > 0,088$, $0,354 > 0,220$ iken 2. analist için ise $0,021 > 0,015$, $0,100 > 0,065$, $0,213 > 0,150$ sonucuna ulaşıldığından her bir analistin yaptığı çalışmaların farkı kendi içinde tutarlıdır. Analistlerin yaptığı çalışmaların birbirleri ile olan uyumuna bakıldığında LOQ, orta ve yüksek düzeyler için $0,017 > 0,010$, $0,112 > 0,008$, $0,289 > 0,042$ sonucuna ulaşılmıştır. Tüm düzeyler için $R > (max-min)$ olduğundan analistlerin yaptığı çalışmaların aralarındaki farkın da birbiri ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.13. Yer fıstığı ezmesi tekrar üretilebilirlik çalışması (Aflatoksin G₂)

Sıra No	LOQ		ORTA		YÜKSEK	
	1	2	1	2	1	2
1.Gün	0.017	0.015	1.068	1.065	2.390	2.160
2.Gün	0.025	0.024	1.000	1.030	2.310	2.290
3.Gün	0.026	0.030	1.010	1.040	2.200	2.210
4.Gün	0.026	0.025	0.980	1.000	2.180	2.140
5.Gün	0.025	0.028	1.040	1.020	2.200	2.220
6.Gün	0.023	0.024	1.010	1.000	2.170	2.180
Ortalama	0.024	0.024	1.018	1.026	2.242	2.200
Standart Sapma	0.003	0.005	0.031	0.025	0.088	0.053
$\%RSD_R$	14.55	21.222	3.069	2.435	3.944	2.422
$\%HRSD_R$	40.35	40.353	15.36	15.364	6.923	6.923
n-1	5	5	5	5	5	5
Tekrarlanabilirlik kontrolü	Uygu	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Tekrarlanabilirlik limiti($f(6)=4$)	0.014	0.021	0.125	0.100	0.354	0.213
$X_{max}-X_{min}$	0.009	0.015	0.088	0.065	0.22	0.15
Tekrar üretilebilirlik limit uygunluk kontrolü (R)	Uygu	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Horrat	0.361	0.526	0.200	0.159	0.570	0.350
Tekrar üretilebilirlik limiti($f(2)=2.8$)	0.017		0.112		0.289	
max-min	0.001		0.008		0.042	
Analizciler arası tekrar üretilebilirlik limiti uygunluğu	Uygun		Uygun		Uygun	
Gerçek değer	0.020		1.250		2.500	
Birleşik standart sapma	0.006		0.040		0.103	
$\%RSD_{R_{pool}}$	31.038		3.200		4.129	
$\%HRSD_R$	40.353		15.364		6.923	
Genel tekrar üretilebilirlik kontrolü	Uygun		Uygun		Uygun	

Toplam aflatoksin analiti için hesaplanan $\%RSD_R$ değeri Horwitz eşitliğinden hesaplanan teorik RSD_R Tablo 3.14.'te görüldüğü üzere karşılaştırılmıştır. 1. analistin LOQ düzeyinde yaptığı tekrar üretilebilirlik çalışmasına göre $3,534 < 20,723$; orta seviye için yapılan tekrar üretilebilirlik çalışmasına göre $3,347 < 15,364$, yüksek düzey için ise $5,027 < 6,923$ olarak; 2. analistin gerçekleştirdiği çalışmalara bakıldığında ise LOQ düzeyi için $10,621 < 20,723$, orta düzey için $2,298 < 15,364$, yüksek düzey için $3,773 < 6,923$ değerlendirmesi yapılmıştır. Bu sonuçlara göre $\%RSD_R < \%HRSD_R$ olduğundan her iki analist için ve çalışılan tüm düzeyler için paralel çalışmalar arasında istatistiki anlamda fark bulunmazken tekrar üretilebilirlikleri uygundur. Analistlerin birbirleri ile olan uyumunu karşılaştırmak üzere LOQ, orta ve yüksek düzeyler için ayrı ayrı hesaplanan $\%RSD_{R_{pool}}$ ile $\%HRSD_R$ karşılaştırılmıştır. LOQ düzeyi için $10,189 < 20,723$, orta düzey için $3,387 < 15,364$, yüksek düzey için $5,569 < 6,923$ sonuçları göz önüne alındığında tüm düzeyler için $\%RSD_{R_{pool}} < \%HRSD_R$ olduğu görülmektedir. Bu durumda kişiler arasındaki tekrar üretilebilirlik çalışması uyumludur.

Tablo 3.14. incelendiğinde tekrar üretilebilirlik limit kontrolü 1. analist için LOQ, orta ve yüksek düzeylerde sırasıyla $0,022 > 0,010$, $1,399 > 0,740$, $4,489 > 2,85$ iken 2. analist için ise $0,066 > 0,040$, $0,954 > 0,55$, $3,296 > 2,580$ sonucuna ulaşıldığından her bir analistin yaptığı çalışmaların farkı kendi içinde tutarlıdır. Analistlerin yaptığı çalışmaların birbirleri ile olan uyumuna bakıldığında LOQ, orta ve yüksek düzeyler için $0,048 > 0,0001$, $1,186 > 0,072$, $3,898 > 0,478$ sonucuna ulaşılmıştır. Tüm düzeyler için $R > (\max - \min)$ olduğundan analistlerin yaptığı çalışmaların aralarındaki farkın da birbiri ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.14. Yer fıstığı ezmesi tekrar üretilebilirlik çalışması (Toplam Aflatoksin)

Sıra No	LOQ		ORTA		YÜKSEK	
	1	2	1	2	1	2
1.Gün	0.160	0.140	10.840	10.480	23.690	22.01
2.Gün	0.160	0.170	10.870	10.540	23.550	23.04
3.Gün	0.160	0.150	10.130	10.540	22.040	21.96
4.Gün	0.150	0.140	10.180	10.140	22.320	21.8
5.Gün	0.150	0.180	10.560	10.570	21.520	21.77
6.Gün	0.150	0.150	10.140	10.020	20.840	20.46
Ortalama	0.155	0.155	10.453	10.382	22.327	21.840
Standart Sapma	0.005	0.016	0.350	0.239	1.122	0.824
%RSD _R	3.534	10.601	3.347	2.298	5.027	3.773
%HRSD _R	20.723	20.723	15.364	15.364	6.923	6.923
n-1	5	5	5	5	5	5
Tekrarlanabilirlik kontrolü	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Tekrarlanabilirlik limiti(f(6)=4)	0.022	0.066	1.399	0.954	4.489	3.296
$X_{max}-X_{min}$	0.01	0.04	0.74	0.55	2.85	2.58
Tekrar üretilebilirlik limit uygunluk kontrolü (R)	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun	Uygun
Horrat	0.171	0.512	0.218	0.150	0.726	0.545
Tekrar üretilebilirlik limiti(f(2)=2.8)	0.048		1.186		3.898	
max-min	0.000		0.072		0.487	
Analizciler arası tekrar üretilebilirlik limiti uygunluğu	Uygun		Uygun		Uygun	
Gerçek değer	0.170		12.500		25.000	
Birleşik standart sapma	0.017		0.423		1.392	
%RSD _{R pool}	10.189		3.387		5.569	
%HRSD _R	20.723		15.364		6.923	
Genel tekrar üretilebilirlik kontrolü	Uygun		Uygun		Uygun	

Tekrar üretilebilirlik çalışmalarının hassasiyetinin değerlendirmesi için HorRat eşitliğinden faydalanılmıştır. Tablo 3.10. 3.11. 3.12. 3.13. 3.14’de ulaşılan HorRat değerleri incelendiğinde tüm değerlerin 2’den küçük olduğu görülmektedir.

Tekrar üretilebilirlik çalışmasında farklı konsantrasyonların kendi içinde istatistiki olarak ortalamadan anlamlı derecede uzaklaşıp uzaklaşmadığını saptamak için F testi MS Excel veri çözümlemesi ile yapılmıştır. Tablo 3.15’te test sonuçları görülmektedir.

Tablo 3.15. Yer fıstığı ezmesi tekrar üretilebilirlik F testi sonuçları

	LOQ Seviyesi		F Test Sonuçları		Yüksek Seviye	
	F _{Hesap}	F _{kritik}	F _{Hesap}	F _{kritik}	F _{Hesap}	F _{kritik}
Aflatoksin B ₁	4.628	5.050	4.555	5.050	1.718	5.050
Aflatoksin B ₂	0.163	5.050	4.652	5.050	1.045	5.050
Aflatoksin G ₁	5.050	5.050	2.876	5.050	2.287	5.050
Aflatoksin G ₂	2.248	5.050	1.564	5.050	2.752	5.050
Toplam Aflatoksin	4.765	5.050	2.151	5.050	1.856	5.050

3.1.4. Doğruluk

Doğruluk kontrolü için tekrarlanabilirlik çalışmasındaki geri alma değerleri kullanılabileceği gibi bağımsız çalışma da tercih edilebilir. Bunun için kör yer fıstığı ezmesi numunesi LOQ/orta/yüksek konsantrasyonlarda kirletilmek suretiyle 6 tekrarlı olacak şekilde 2 analist tarafından çalışıldı. Çalışmada ilk olarak geri alma oranları AOAC'nin 2016 yılında yayımladığı analit konsantrasyonuna göre beklenen geri kazanım oranları tablosuyla karşılaştırmak suretiyle değerlendirildi. Sonuç olarak çalışılan tüm analitler için tüm düzeyler uygun olarak değerlendirilmiştir. Tablo 3.16-3.20'de çalışma sonuçları ve hesaplanan parametreler görülmektedir.

Gerçeklik parametresi olarak da kullanılan doğruluk çalışmasında analistler ve tekrarlar arasında istatistiki bir fark olup olmadığını anlayabilmek için yapılan T testi sonuçlarında tüm analitler için $t_{\text{hesap}} < t_{\text{kritik}}$ olması beklenir. Doğruluk çalışması 6 tekrarlı olarak gerçekleştirildiğinden $df(36)=35$ serbestlik derecesinde %95 güven aralığında t_{kritik} değeri 2,030 olarak t testi tablosundan bulunmuştur. t_{hesap} değeri ise aşağıdaki 3.1. numaralı eşitlikten faydalanılarak hesaplanmıştır. 3.16-3.20 no'lu tablolarda görüldüğü üzere t_{hesap} ile t_{kritik} değerleri karşılaştırılmış ve tüm analitler için uygun olarak değerlendirilmiştir. Yani tekrarlar arasındaki fark istatistiki değil rastlantısaldır.

$$T_{\text{hesap}} = \left| 1 - \frac{\%GK/100}{S/\sqrt{n}} \right| \quad (.3.1)$$

Bu eşitlikte;

%GK: % Geri Kazanım

S: Standart sapma

n: Çalışma sayısı

Tablo 3.16. Yer fıstığı ezmesi geri alma çalışması (Aflatoksin B₁)

	LOQ (µg/kg)				Orta (µg/kg)				Yüksek (µg/kg)			
	1.	%GA	2.	%GA	1.	%GA	2.	%GA	1.	%GA	2.	%GA
1	0.064	91.429	0.063	90.000	4.520	90.400	4.100	82.000	9.510	95.100	9.160	91.600
2	0.070	100.000	0.057	81.429	4.320	86.400	4.090	81.800	9.630	96.300	9.250	92.500
3	0.070	100.000	0.068	97.143	4.280	85.600	3.990	79.800	9.140	91.400	9.370	93.700
4	0.069	98.571	0.066	94.286	4.330	86.600	4.110	82.200	9.220	92.200	9.340	93.400
5	0.069	98.571	0.070	100.000	4.260	85.200	4.280	85.600	9.290	92.900	9.450	94.500
6	0.072	102.857	0.068	97.143	4.000	80.000	4.110	82.200	9.230	92.300	9.400	94.000
Gerçek Değer	0.07				5.000				10.000			
%R					91.087							
Standart Sapma					6.471							
n					36.000							
t _{hesap}					0.155							
t _{kritik}					2.030							
t _{hesap} < t _{kritik} Ux					0.011							

Tablo 3.17. Yer fıstığı ezmesi geri alma çalışması (Aflatoksin B₂)

	LOQ µg/kg				Orta µg/kg				Yüksek µg/kg			
	1.	%GA	2.	%GA	1.	%GA	2.	%GA	1.	%GA	2.	%GA
1	0.019	95.000	0.016	80.000	1.400	112.000	1.330	106.400	3.000	120.000	2.800	112.000
2	0.015	75.000	0.016	80.000	1.350	108.000	1.280	102.400	3.060	122.400	2.890	115.600
3	0.018	90.000	0.016	80.000	1.320	105.600	1.330	106.400	2.890	115.600	2.900	116.000
4	0.017	85.000	0.016	80.000	1.350	108.000	1.300	104.000	2.950	118.000	2.870	114.800
5	0.017	85.000	0.017	85.000	1.340	107.200	1.370	109.600	2.930	117.200	2.930	117.200
6	0.019	95.000	0.016	80.000	1.310	104.800	1.260	100.800	2.890	115.600	2.900	116.000
Gerçek Değer	0.020			1.250			2.500					
%R				102.378								
Standart Sapma				14.386								
n				36.000								
t _{hesap}				0.573								
t _{kritik}				2.030								
t _{hesap} < t _{kritik} U _x				0.024								

Tablo 3.18. Yer fıstığı ezmesi geri alma çalışması (Aflatoksin G₁)

	LOQ µg/kg			Orta µg/kg			Yüksek µg/kg					
	1.	%GA	2.	%GA	1.	%GA	2.	%GA	1.	%GA	2.	%GA
1	0.048	80.000	0.037	61.667	4.260	85.200	4.100	82.000	9.900	99.000	9.770	97.700
2	0.039	65.000	0.042	70.000	4.250	85.000	4.060	81.200	10.120	101.200	9.290	92.900
3	0.040	66.667	0.040	66.667	4.210	84.200	4.040	80.800	9.600	96.000	9.720	97.200
4	0.040	66.667	0.039	65.000	4.250	85.000	4.140	82.800	9.760	97.600	9.610	96.100
5	0.037	61.667	0.048	80.000	4.210	84.200	4.400	88.000	9.660	96.600	9.360	93.600
6	0.042	70.000	0.037	61.667	4.130	82.600	4.070	81.400	9.570	95.700	9.720	97.200
Gerçek Değer	0.060			5.000			10.000					
%R				82.728								
Standart Sapma				12.577								
n				36.000								
t _{hesap}				0.605								
t _{kritik}				2.030								
t _{hesap} < t _{kritik}				0.021								
U _x												

Tablo 3.19. Yer fıstığı ezmesi geri alma çalışması (Aflatoksin G₂)

	LOQ µg/kg				Orta µg/kg				Yüksek µg/kg			
	1.	%GA	2.	%GA	1.	%GA	2.	%GA	1.	%GA	2.	%GA
1	0.018	90.000	0.017	85.000	1.150	92.000	1.080	86.400	2.610	104.400	2.370	94.800
2	0.015	75.000	0.012	60.000	1.110	88.800	1.020	81.600	2.680	107.200	2.480	99.200
3	0.017	85.000	0.013	65.000	1.040	83.200	1.070	85.600	2.500	100.000	2.460	98.400
4	0.018	90.000	0.016	80.000	1.080	86.400	1.050	84.000	2.530	101.200	2.450	98.000
5	0.017	85.000	0.014	70.000	1.110	88.800	1.070	85.600	2.540	101.600	2.560	102.400
6	0.016	80.000	0.015	75.000	1.060	84.800	1.040	83.200	2.520	100.800	2.440	97.600
Gerçek Değer	0.020				1.250				2.500			
%R					88.222							
Standart Sapma					11.042							
n					36.000							
t _{hesap}					0.521							
t _{kritik}					2.030							
t _{hesap} < t _{kritik} Ux					0.018							

Tablo 3.20. Yer fıstığı ezmesi geri alma çalışması (Toplam Aflatoksin)

	LOQ µg/kg				Orta µg/kg				Yüksek µg/kg			
	1.	%GA	2.	%GA	1.	%GA	2.	%GA	1.	%GA	2.	%GA
1	0.150	88.235	0.140	82.353	11.270	90.160	10.610	84.880	25.020	100.080	24.740	98.960
2	0.140	82.353	0.130	76.471	11.030	88.240	10.450	83.600	25.480	101.920	23.520	94.080
3	0.150	88.235	0.140	82.353	10.850	86.800	10.430	83.440	24.130	96.520	24.620	98.480
4	0.140	82.353	0.130	76.471	11.000	88.000	10.600	84.800	24.460	97.840	24.430	97.720
5	0.140	82.353	0.150	88.235	10.910	87.280	11.120	88.960	24.420	97.680	23.730	94.920
6	0.150	88.235	0.140	82.353	10.500	84.000	10.480	83.840	24.210	96.840	24.700	98.800
Gerçek Değer	0.170				12.500				25.000			
%R					89.107							
Standart Sapma					7.013							
n					36.000							
t _{hesap}					0.238							
t _{kritik}					2.030							
t _{hesap} < t _{kritik} Ux					0.012							

Verifikasyon çalışması sonucunda ölçüm belirsizliği hesaplanmıştır. Çalışma sonuçları süreç boyunca birçok etmenden etkilenebilmektedir. Ortam şartları, analist alışkanlıkları, cihaz etkisi gibi sebeplerle tekrarlı analizlerde farklılıklar gözlenebilmektedir. Ancak bu değişimin farklı zamanlarda yapılan çalışmaları, farklı konsantrasyonları, farklı matrisleri, farklı analistleri de temsil edecek şekilde ve güvenilir bir aralıkta verilmesi gerekir. Sonuç ile birlikte ifade edilen bu aralık; analizin güvenilirliği ve sonuçların doğruluğu için önemlidir. Ölçüm belirsizliği hesabında kalibrasyon, tekrarlanabilirlik, ara kesinlik ve geri kazanım çalışmaları sırasında elde edilen verilerden hesaplanan değerler kullanılmıştır.

Belirsizlik aflatoxin B₁, B₂, G₁ ve G₂ için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Belirsizlik %95 güven aralığında k=2 katsayısı kullanılarak genişletilmiş belirsizlik olarak hesaplanmıştır. Tablo 3.21- 3.24’de kullanılan belirsizlik kaynaklarına tekabül eden belirsizlik değerleri ile genişletilmiş belirsiz değerleri görülmektedir. Belirsizlik miktarı aşağıdaki formül kullanılarak sonuca yansıtılmaktadır.

$$\text{ÖB} = C \pm C * UG \quad (3.1)$$

Bu eşitlikte;

ÖB : Ölçüm belirsizliği

C : Analiz sonucu

UG : Genişletilmiş belirsizlik (k=2. %95 güven aralığında)

Tablo 3.21. Yer fıstığı ezmesi genel belirsizliği (Aflatoxin B₁)

Belirsizlik bileşeni	Değer	Standart	Relatif Standart	Genişletilmiş
Kalibrasyon	0.22	0.002	0.009	
Tekrarlanabilirlik	1	0.028	0.028	
Tekrarüretilebilirlik	1	0.024	0.024	
Gerçeklik	0.911	0.011	0.012	
Birleşik Belirsizlik			0.040	0.080

Tablo 3.22. Yer fıstığı ezmesi genel belirsizliği (Aflatoxin B₂)

Belirsizlik bileşeni	Değer	Standart	Relatif Standart	Genişletilmiş
Kalibrasyon	0.07	0.0003	0.004	
Tekrarlanabilirlik	1	0.031	0.031	
Tekrarüretilebilirlik	1	0.049	0.049	
Gerçeklik	1.024	0.024	0.023	
Birleşik Belirsizlik			0.062	0.124

Tablo 3.23. Yer fıstığı ezmesi genel belirsizliği (Aflatoksin G₁)

Belirsizlik bileşeni	Değer	Standart belirsizlik u(X)	Relatif Standart Belirsizlik	Genişletilmiş Belirsizlik
Kalibrasyon	0.19	0.020	0.127	
Tekrarlanabilirlik	1	0.029	0.029	
Tekrarüretilebilirlik	1	0.088	0.088	
Gerçeklik	0.827	0.021	0.025	
Birleşik Belirsizlik			0.160	0.320

Tablo 3.24. Yer fıstığı ezmesi genel belirsizliği (Aflatoksin G₂)

Belirsizlik bileşeni	Değer	Standart belirsizlik u(X)	Relatif Standart Belirsizlik	Genişletilmiş Belirsizlik
Kalibrasyon	0.06	0.001	0.019	
Tekrarlanabilirlik	1	0.095	0.095	
Tekrarüretilebilirlik	1	0.106	0.106	
Gerçeklik	0.882	0.018	0.021	
Birleşik Belirsizlik			0.145	0.290

3.2. Kuruyemiş Numunelerini Aflatoksin İçerikleri

Çeşitli Instagram hesaplarından satın alınan 15 adet yer fıstığı ezmesi, 9 adet fındık ezmesi, birer adet badem, Antep fıstığı ve kaju ezmesi numuneleri üzer tekerrür olacak şekilde çalışıldı. Çalışmalar sonucu elde edilen kromatogramlar Ek Şekil 7.1. - 6.81.'de görülmektedir. Ortalamalar ve standart sapmaları ile numunelere ait aflatoksin B₁ ile aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ toplamalarının sonuçları tablo 3.25 ve 3.26'da görülmektedir. Aflatoksin B₁ için 0,07 µg/kg ve toplam aflatoksin için 0,20 µg/kg olan tespit limitinin altındaki değerler için ortalama sonuçlar tespit edilebilir limitin altında (TELA) şeklinde ifade edilecektir.

Tablo 3.25. Numune aflatoksin B₁ sonuçları

Numune Kodu	Numune Çeşidi	Aflatoksin B ₁				Standart Sapma
		1. Tekerrür	2. Tekerrür	3. Tekerrür	Ortalama	
1	Yer Fıstığı	0.411	0.428	0.429	0.423	0.010
2	Yer Fıstığı	5.097	5.841	7.868	6.269	1.434
3	Yer Fıstığı	1.842	1.725	1.66	1.742	0.092
4	Yer Fıstığı	0.028	0.027	0.046	0.337	0.011
5	Fındık	0.005	0.017	0.006	TELA	0.007
6	Fındık	0.015	0.013	0.051	TELA	0.021
7	Yer Fıstığı	46.371	44.163	38.202	42.912	4.226
8	Badem	0.098	0	0	TELA	0.057
9	Antep Fıstığı	0.043	0	0	TELA	0.025
10	Yer Fıstığı	7.889	9.274	9.451	8.871	0.855
11	Yer Fıstığı	0.857	0.762	0.884	0.834	0.064
12	Yer Fıstığı	0.005	0	0	TELA	0.003
13	Yer Fıstığı	0.033	0	0	TELA	0.019
14	Yer Fıstığı	0	0	0	TELA	0
15	Fındık	0	0	0	TELA	0
16	Yer Fıstığı	0	0	0.093	TELA	0.054
17	Yer Fıstığı	0.645	0.500	0.614	0.586	0.764
18	Fındık	0.025	0.020	0.038	TELA	0.009
19	Fındık	0	0	0	TELA	0
20	Fındık	0.054	0.036	0.032	TELA	0.012
21	Kaju	0	0	0.006	TELA	0.004
22	Yer Fıstığı	0.551	0.502	0.542	0.532	0.026
23	Fındık	0.013	0.011	0.013	TELA	0.001
24	Yer Fıstığı	30.945	33.69	31.632	32.089	1.428
25	Fındık	0	0	0	TELA	0
26	Yer Fıstığı	9.231	7.616	9.956	8.934	1.198
27	Fındık	0	0	0	TELA	0

Tablo 3.26. Numune toplam aflatoksin sonuçları

Numune Kodu	Numune Çeşidi	Toplam Aflatoksin				Standart Sapma
		1. Tekerrür	2. Tekerrür	3. Tekerrür	Ortalama	
1	Yer Fıstığı	0.483	0.497	0.489	0.490	0.007
2	Yer Fıstığı	6.398	7.355	9.850	7.868	1.782
3	Yer Fıstığı	2.646	2.455	2.360	2.487	0.146
4	Yer Fıstığı	0.035	0.033	0.051	TELA	0.010
5	Fındık	0.005	0.017	0.006	TELA	0.007
6	Fındık	0.019	0.013	0.078	TELA	0.036
7	Yer Fıstığı	57.311	54.418	46.185	52.638	5.773
8	Badem	0.119	0.000	0.000	TELA	0.069
9	Antep Fıstığı	0.073	0.024	0.018	TELA	0.030
10	Yer Fıstığı	12.268	14.392	14.725	13.795	1.333
11	Yer Fıstığı	1.049	0.937	1.073	1.020	0.073
12	Yer Fıstığı	0.023	0.015	0.020	TELA	0.004
13	Yer Fıstığı	0.042	0.000	0.014	TELA	0.021
14	Yer Fıstığı	0.000	0.022	0.000	TELA	0.013
15	Fındık	0.000	0.000	0.000	TELA	0.000
16	Yer Fıstığı	0.000	0.000	0.093	TELA	0.054
17	Yer Fıstığı	0.732	0.568	0.697	0.666	0.086
18	Fındık	0.030	0.028	0.044	TELA	0.009
19	Fındık	0.000	0.000	0.007	TELA	0.004
20	Fındık	0.077	0.040	0.054	TELA	0.019
21	Kaju	0.000	0.000	0.006	TELA	0.003
22	Yer Fıstığı	0.647	0.591	0.636	0.625	0.030
23	Fındık	0.013	0.011	0.013	TELA	0.001
24	Yer Fıstığı	37.520	40.856	38.274	38.883	1.749
25	Fındık	0.000	0.000	0.000	TELA	0.000
26	Yer Fıstığı	10.231	7.845	11.541	9.872	1.874
27	Fındık	0.000	0.000	0.000	TELA	0.000

Her ne kadar aflatoksin analitleri ayrı ayrı verifikasyon ve ölçüm belirsizliği raporunda yer bulsa da özellikle yemişlerde sonuç verilirken çeşitli ülkelerde olduğu gibi Türkiye’de de aflatoksin B₁ ve aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ toplamaları (toplam aflatoksin) sonuç raporunda yer bulur. Bu sebepten çalışmada da sonuçlar sadece aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin şeklinde verilmiştir.

Şekil 3.1. oluşturulurken yerfistıkları YF, fındıklar F, antepfıstığı AF, badem B, kaju K olarak kodlandı. Her örnek için örneğin YF1, YF2 gibi kod verilerek çalışılan 27 örnek şekle yerleştirildi. Aflatoksinlerin oldukça karmaşık özelliklerinden ötürü yapılan analizin sistematik varyasyonunu elde etmek ve görüntülemek için çok değişkenli analiz yöntemi yerfıstığı, fındık, antep fıstığı, kaju ve badem arasında ayırım tespit edebilmek için yapıldı. Temel bileşenler analizi (PCA), analizler hakkında aralarındaki ilişkileri keşfetmek için kullanılan en popüler yöntemdir. Hem değişkenleri hem de gözlemleri içerirken, bunlar ile ilgili bilgileri sağlar ve tüm değişkenlerin aynı anda kullanılarak grafiksel olarak analiz edilmesine yardım eder. Çerez gruplarının PCA analizinde, PC1 ve PC2 eksenleri kümülatif varyansın % 100 'ünü temsil etti (sırasıyla% 99.94 ve % 0.06). Yani elde edilen verilerin % 100'lük kısmı açıklanmış oldu. Elde edilen analiz grupları, Şekil 3.1.'deki skor grafiğinde (renkli dairelerde) gösterildiği gibi kısmen gruplar oluşturdu. Elde edilen sonuçlar grafiğin dört alanında yayılım gösterdi. Örnekler arasındaki ayırım, analizi yapılan etkenlerin miktarlarına bağlı olarak farklılık gösterdi. PCA analizinde Aflatoksin B₁ ve Toplam Aflatoksin arasında 0.999 gibi güçlü pozitif korelasyon tespit edildi. Yani AFB₁ miktarı arttıkça toplam AFL miktarı da artmaktadır.

Grafikte YF2 örneğinin AFB₁ sonuçları TGK Bulaşanlar Yönetmeliğine uygun olmadığı ancak TAFL yönünden uygun olduğu tespit edildi. YF5, YF6, YF16, YF17 nolu örneklerin ise TGK Bulaşanlar Yönetmeliğine hem AFB₁ hem de TAFL açısından uygun olmadığı görüldü. Yapılan bu çalışmada fındık, badem, kaju örneklerinin bulaşanlar yönetmeliğine uygun olduğu tespit edildi. Temin edilen örnekler göz önüne alındığında piyasada en fazla yerfıstığı ürünlerinin satıldığı anlaşılmaktadır. Toplam 27 adet numunenin 5 adeti TGK Bulaşanlar Yönetmeliğine uygun çıkmamıştır. Bu durum internet üzerinden satılan bu biçimdeki ürünleri % 18.5 oranında kodekse uygun olmadığına işaret etmektedir. Yerfıstığı örnekleri için yapılan çalışmalar kendi içinde değerlendirildiğinde ise %33.33 gibi yüksek oranda örneğin TGK Bulaşanlar Yönetmeliğince izin verilen limitlerin üstünde olduğu tespit edilmiştir.

4. TARTIŞMA

Çalışmaya AOAC'nin 991:31 (Mısır, Çiğ Yer Fıstığı ve Yer Fıstığı Yağındaki Aflatoksinler) numaralı standart metodunun çalışılan laboratuvarında ve cihaz için uygunluğunu tespit etmek adına verifikasyon çalışmaları yapılarak başlandı. Cihaz kalibrasyonu için standart aflatoksin karışım çözeltisi kullanılırken diğer tüm çalışmalar için (tespit-ölçüm limiti, geri kazanım, tekrarlanabilirlik ve ara kesinlik) temiz yer fıstığı numunesinin kirletilmesiyle elde edilen numuneler analiz edilmiştir.

Cihaz kalibrasyonu için 5 farklı konsantrasyon 3 tekrarlı olacak şekilde okutuldu ve tüm analitler için varyasyon katsayısı 1 ile 0.99 arasında bulundu. Hem grafikten hem de varyasyon katsayısı değerinden anlaşıldığı üzere çalışmanın lineer olduğu ortaya konuldu.

Cihazın güvenli ve tutarlı verebildiği analiz sonucunu yakalayabilmek adına kör numune aflatoksin B₁ 0.07µg/kg; toplam aflatoksin 0.20 µg/kg olacak şekilde standart çözeltiyle kirletildi ve tekrarlı çalışmalar sonunda elde edilen standart sapmadan faydalanılarak algılama sınırı (LOD) aflatoksin B₁ için 0.021 µg/kg, aflatoksin B₂ için 0.09 µg/kg, aflatoksin G₁ için 0.023 µg/kg, aflatoksin G₂ için 0.07 µg/kg ve toplam aflatoksin için 0.061 µg/kg iken tayin sınırı (LOQ) aflatoksin B₁ için 0.071 µg/kg, aflatoksin B₂ için 0.029 µg/kg, aflatoksin G₁ için 0.076 µg/kg, aflatoksin G₂ için 0.023 µg/kg ve toplam aflatoksin için 0.202 µg/kg olarak belirlenmiştir. Tayin sınırının altındaki değerler her ne kadar zaman zaman cihaz tarafından algılansa da güvenli ve tutarlı değildir. Tayin limitinin altındaki sonuçlar Türkiye mevzuatında tespit edilebilir limitin altında (TELA) olarak raporlanmaktadır. Çalışılan yemişlerin aflatoksin içeriğinin Türk Gıda Kodeksi ile diğer ülke mevzuatlarında izin verilen limitleri göz önüne alındığında belirlenen tayin limiti oldukça düşüktür. Ayrıca cihazın çok küçük bulaşları yakalayabilecek kadar hassas olduğu sonucuna da varılmıştır.

Tekrarlanabilirlik çalışması için LOQ, orta ve yüksek düzeylerde kirletilen kör numune altı tekrarlı okutuldu ve tüm analitler için RSD_r değerleri hesaplandı. Horwitz eşitliğinden hesaplanan RSD_{r teorik} tüm düzeyler, analistler ve analitler için RSD_r 'den büyük olduğunda çalışmanın tekrarlanabilirlik parametresi

Tekrar üretilebilirlik (ara kesinlik) LOQ, orta ve yüksek düzeyde kör yer fıstığı ezmesi numunesi kirletildi. İki analist tarafından altı farklı günde yapılan analiz verilerinden yararlanılarak hesaplanan RSD_R değeri tüm analitler için horwitz eşitliğinden

hesaplanan PRSD_R değerinden küçük olduğundan yer fıstığı ezmesi numunesinin LOQ, orta ve yüksek çalışılan düzeyleri için tekrar üretilebilirlik kontrolü uygundur.

Geri alma çalışması için kirlenilen kör örneklerden iki analist tarafından altı tekrarlı çalışma yapılmıştır. Çalışma sonunda aflatoksin B₁ için %91.087, aflatoksin B₂ için %102.378, G₁ için %82.728, G₂ için %88.222 ve toplam aflatoksin için %89.107 geri kazanım sonuçları elde edilmiştir. Ulaşılan sonuçlar, analit konsantrasyonuna göre beklenen geri kazanım oranları tablosundaki değerlerle karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak verifikasyon çalışmasının geri kazanım performansı uygun olarak değerlendirilmiştir.

İnternet alışverişi ile temin edilen yer fıstığı, fındık, Antep fıstığı, badem ve kaju ezmeleri verifikasyonu yapılan yöntemle göre çalışılmıştır. Araştırmada kullanılan numunelerden aflatoksin B₁ açısından 10 adet tespit limitinin üstünde iken toplam aflatoksin açısından ise yine 10 adet numune tespit limitinin üstünde olarak tespit edilmiştir. Tespit limitinin üstündeki tüm sonuçlar yer fıstıklarından elde edilen sonuçlardır. Tespit limitinin üstünde olan sonuçlardan 7. 10. ve 24. örnekler aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin açısından TGK Bulaşanlar Yönetmeliğinde verilen limitlere aykırıyken 2. ve 26. numuneler sadece aflatoksin B₁ açısından limitlere uymamaktadır. Kodekse aykırı numunelerin izin verilen limitlerin katbekat üstünde olması ayrıca dikkati çekmektedir. Zira seçilen numuneler tüketim alışkanlıkları dikkate alındığında çok farklı tüketici profiline ve tüketim sıklığına işaret etmektedir. Toksisitesi bu denli yüksek ürünlerin günlük olarak düzenli tüketiminin akut ve kronik rahatsızlıklara sebep olabileceği bir çok araştırmanın konusu olmuştur. Ayrıca çalışılan 15 yer fıstığından 5 tanesinin yani %33.33 gibi yüksek oranda, izin verilen limitlerin üstünde sonuç vermesi güvensizliği artırmaktadır. Elde edilen bu sonuçlara sebep olarak yer fıstığının yetiştirme ve hasat sırasında toprakla ilişkili olması da göz önüne alınmalıdır. Ancak 4, 12, 13, 14 ve 16 numaralı yer fıstığı numunelerinin sonuçları incelendiğinde sonuçların tespit limitinin altında olduğu ve bu sonuçların tüm yer fıstığı sonuçlarının %33,33'ünü oluşturduğuna dikkat edilmelidir. Sonuçların üçte ikisinin kesin sınırlarda kutuplaşması şaşkınlık yarattığı gibi benzer koşullarda yetişen yer fıstıklarının muhtemelen hasat, işleme, depolama vb. aşamalarındaki tercihlerin mamüllerin güvenilir ürün ya da zararlı ürün olma potansiyeline ne kadar etki edebileceğini de akla getirmektedir.

Çalışılan fındık ezmesi numune sonuçlarından hiçbirisi tespit limitinin üstünde değildir. Bu şekilde aflatoksin açısından fındık ezmesi örnekleri güvenlidir. Türkiye bilindiği üzere fındık üretimi konusunda yıllardır dünyada ilk sıradadır ve ihracatçı

konumundadır. Fındık üretimi ve işleme konusundaki tecrübe her geçen yıl artmakta; mevcut işletmelerin modernizasyonu yanında modern işletmelerin faaliyete geçmesi ürün kalitesini iyileştirmektedir. Önceki senelerde ihracat konusunda yaşanan sorunlardan ve RASFF (hızlı alarm sistemi) süreçleri ile bildirilen olumsuzluklardan edinilen deneyimler, genel süreci iyileştirmesi konusunda fayda göstermektedir. Zira 2005 yılından bu yana toplam fındık ihracat miktarları yaklaşık %30 artarken RASFF bildirimleri incelendiğinde yıllara göre bildirim sayılarında önemli farklar oluşmamıştır (RASFF, 2020). Ancak bu olumlu gelişmeler tüm tarım ürünleri gibi fındık kalitesinin de iklim koşullarına ne derece bağlı olduğunu unutturmamalıdır.

İncelenen tek Antep fıstığı numunesinin sonucu tespit limitinin altında kalmıştır. Türkiye’de Antep fıstığı tüketim alışkanlıkları incelenecek olursa çerez olarak tüketiminin yanında şerbetli tatlılar ve pastacılık ile şekerleme ürünlerinin bir girdisi olduğu görülür. Sürülebilir ezme olarak kullanımı ise çok daha azdır. Her ne kadar yapılan bu çalışmada herhangi bir olumsuzluğa rastlanmamış olsa da *Aspergillus* cinsi küfler hasattan son ürüne kadar birçok üretim aşamasında izole edilebilmektedir. Ayrıca RASFF bildirimleri incelendiğinde durumun ciddiyeti daha iyi anlaşılmaktadır. Ekonomik getirisi yüksek, kullanım alanları çeşitli ve talebin her geçen yıl arttığı göz önüne alındığında yasa dışı yollarla gelebilecek ürünlerdeki tehlikeler de göz ardı edilmemelidir. Antep fıstığı ezmelerinin aflatoxin kalitesi üzerine fikir sahibi olunabilmesi için daha çok numuneyle çalışılıp daha geniş bir piyasa taraması yapılması yerinde olacaktır.

İncelenen örneklerden bir diğeri olan badem ezmesi aflatoxin analiz sonucu tespit limitinin altında kalmıştır. Bademin de tıpkı Antep fıstığı gibi şekerleme, unlu mamüller vb. mamül maddelerin hammaddesi olarak ve çerez olarak kullanımı yaygındır. Sürülebilir ezme olarak kullanım ise çok daha yeni bir alternatiftir. 2000-2019 yıllarını kapsayan TÜİK verilerine göre kişi başına badem tüketimi 1.4 kg’a ulaşmıştır (TÜİK, 2020). Üretim miktarının yaklaşık iki katına çıkmasına rağmen talep ancak ithalat ile karşılanabilmektedir. Bahsedilen zaman aralığında ithalat yaklaşık 10 kat artmıştır. Bu veriler ışığında badem her geçen zaman sofralarımızda sağlıklı bir alternatif olarak daha çok yer bulmaktadır. 2018 yılında yapılan bir çalışmada incelenen 80 adet kabuksuz badem örneğinin %15’inde tespit limitinin üstünde aflatoxin tespit edilmiştir (Kanık, 2018). Ürün özellikleri ve diğer sert kabuklu meyvelerle olan benzerliğinden ötürü hem yerli ürünlerin hem de ithal ürünlerin mikotoksin kalitesi açısından yeterli kontrollerinin yapılması önemlidir.

Çok sık olmasa da sürülebilir kuru yemiş ezmeleri arasında kaju ezmesine de rastlanmaktadır. Kaju üretimi Türkiye iklim şartları bitki isteklerini karşılamamasından ötürü yapılmayan ürünler arasındadır. Buna rağmen hem lezzet hem de besleyici içeriği anlamında diyetle yer bulmaktadır. Çalışılan örnekler arasında yer alan kaju ezmesi aflatoxin analiz sonucu tespit limitinin altında gözlenmektedir. Ezmede kullanılan kajuların %100'ü ithaldir ve gümrükte kontrolleri yapılarak ülke sınırlarına girebilmektedir. Türkiye sınır komşu ülkeleri arasında kaju üretiminin yapılmayışı kayıt dışı giriş ihtimalini azaltmaktadır. Kontrollü hammadde temini aflatoxin açısından temiz mamül ürünleri sağlamaktadır. Her ne kadar kontrollü hammadde girişi sağlansa da gümrük işlemlerinden sonraki uygunsuz işleme ve depolama şartları küflerin bulaşp metabolit oluşturma ihtimalini her zaman akla getirmelidir.

Her ne kadar çalışılan örneklerden yaklaşık %80'i TGK Bulaşanlar Yönetmeliğine ve diğer birçok ülke mevzuatına uygun olarak nitelenip ticaretine izin verilse de düzenli kullanımda vücutta mikotoksin birikimine sebep olacaktır.

Avrupa Gıda Bilim Komitesi (SCF) 1994 yılından itibaren aflatoxinleri genotoksik kanserojenler arasına dahil etmiştir (EC SCF, 1994). Yani aflatoxinler yönünden tamamen temiz tüketim yapılmıyorsa kanser riski her zaman olabilir. Komite bu riski şöyle somutlaştırmıştır: Her gün her 1 kg'lık vücut ağırlığı için maruz kalınan aflatoxin miktarı 1 nanogram dahi olsa karaciğer kanseri riski hala vardır. Yine maruziyet üzerine yapılan çalışmada düşük ve yüksek tüketim sıklığı ile farklı toplam aflatoxin değerlerine göre senaryolar geliştirilmiştir. Sonuç olarak 10 µg/kg düzeyinde izin verilen maksimum toplam aflatoxin içeren yemişlerin tüketimini sık yapan kitle için toksin maruziyeti %41 artmaktadır (EFSA, 2007). Bahsedilen çalışma bazı Avrupa ülkelerinin tüketim alışkanlıkları üzerine kurgulanmıştır. Türkiye gibi kuru yemişlerin yaygın ve sıkça tüketildiği ülkelerde maruziyetin olumsuz yönde değişebileceği göz ardı edilmemelidir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Yapılan bu çalışma sosyal ağlar üzerinden satış yapan hesaplarca imal edilmiş kuru yemiş ezmelerindeki aflatoksin riskleri ile ilgili prototip niteliğinde bir piyasa araştırmasıdır. Ezme dışında kuruyemişlerin daha birçok ürün eldesinde kullanıldığı göz önüne alındığında diğer ürünlerdede aflatoksin ya da mikotoksin içeriği de araştırılmalıdır.
- Sosyal ağlardan temin edilebilecek örnekler çeşitli olmasına rağmen örnek sayısını imkanlar ölçüsünde 26 adet belirlenmiştir. . Çalışılan örnkelerden 5 adet yer fıstığı Türk Gıda Kodeksine göre uygun değilken fındık, Antep fıstığı, badem ve kaju ezmesi örnekleri uygun olarak değerlendirilmiştir
- Tüketim sıklığına dikkat edilecek olursa daha çok örnekle kapsamlı bir çalışma yapılması yerinde olacaktır.
- Çeşide göre ürün sayısının belirlenmesinde ise en yaygın satışı yapılan ürünlerden daha fazla sayıda çalışılmıştır. Tüm kuruyemişlerin beraberce çalışılması yanında her bir çeşit için ayrı bir çalışmanın planlanması daha spesifik sonuçlara ulaşmakta yardımcı olacaktır.
- Birkaç kuruyemiş çeşidinin beraber çalışılması aflatoksin oluşumuna ürün çeşidinin ne oranda etkili olduğu ile ilgili fikir vereceği gibi yetiştirme, hasat, işleme ve depolama konusundaki farklılıkların etkisini de gözler önüne serebilecektir.
- Çalışılan örneklerin üretiminde kullanılan hammaddenin hasat zamanı, depolama koşulları, depolama süresi vb. şartların aflatoksin gelişmesine ne oranda etki edeceği sonraki çalışmalar için araştırma konusu olabilir.
- Hammadde özellikleri ile mamul madde özellikleri arasında tespit edilecek benzerlikler ya da farklar işleme koşullarının aflatoksin miktarına ne kadar etki edeceği konusunda bilgi vereceğinden sonraki çalışmalarda araştırması önerilmektedir.
- Ayrıca bu tip riskli ürünlerin ticaretinin yapıldığı böylesine geniş ve kontrolsüz bir alanda yasal denetimlerin artırılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

Küfler günlük yaşamımızın her anında bizimle olmaya devam edecek. Küfleri dost ya da düşman olarak seçmek ise tamamen topraktan sofraya kadar olan üretim sürecini nasıl yönettiğimizle ilgili bir seçimdir.

6. KAYNAKLAR

- Acevedo, A., Smith, J. ve Ramos-Villarroel, A.Y., 2011. Incidence of Moulds and Presence of Aflatoxin on Toasted Cashew Nuts (*Anacardium occidentale* L) in Venezuela, The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI-Food Technology, 35, 2, 9-15.
- Aiko, V. ve Mehta, A., 2015. Occurrence, Detection and Detoxification of Mycotoxins, Journal of Biosciences, 40, 943-954.
- Akdemir, Ç., 2008. Türkiyenin Çeşitli Bölgelerinden Toplanan İnsan İdrar Örneklerinde Okratoksin A (OTA) Varlığının ve Düzeylerinin İmmünoafinite Kolon-Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Araştırılması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 108s.
- Alasalvar, C., Shahidi, F., Liyanapathirana, C.M. ve Ohshima, T. (2003). Turkish Tombul Hazelnut (*Corylus avellana* L.). 1. Compositional Characteristics, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51,13, 3790-3796.
- Arslanğray, T., 2015. Şanlıurfa'da Geleneksel Olarak Üretilen Pul Biberlerde Aflatoksin Oluşum Aşamalarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, 100s.
- Association of Official Analytical Collaboration (AOAC), 2008. AOAC Official Method 999.07 Aflatoxin B1 and Total Aflatoxins in Peanut Butter, Pistachio Paste, Fig Paste and Paprika Powder Immunoaffinity Column Liquid Chromatography With Post-Column Derivatization.
- Association of Official Analytical Collaboration (AOAC), 2013. AOAC Official Method 991.31 Aflatoxins in Corn, Raw Peanuts and Peanut Butter Immunoaffinity Column (Aflatest) Method.
- Association of Official Analytical Collaboration (AOAC), 2016. Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements.
- Atasay Sabuncuoğlu, S., Baydar, T., Giray, B. ve Şahin, G., 2008. Mikotoksinler: Toksik Etkileri, Degredasyonları, Oluşumlarının Önlenmesi ve Zararlı Etkilerinin Azaltılması, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 28,1, 63-92.
- Awache, I.L.N, 2019. Hepatosellüler Karsinomalarda Hbv ve Aflatoksin Metabolitleri ile Aflatoksin Maruziyetinin Patogeneze Katkısının Gen Düzeyinde Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, 47s.

- Baykara, E., 2008. HPLC Sabit Fazı Olarak Molekül Kalıplanmış Polimerlerin 4-Aminofenol İçin Sentezi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 70s.
- Blount, W. P., 1961. Turkey X Disease, Journal of British Turkey Federation, 9, 52-55.
- Bricknell, L. K., 2015. Management of Mycotoxins in Australian Maize, Doctoral Thesis, the University of Queensland School of Medicine, Australia, 219s.
- Calixto, F.S., Bauza, M., Martinez De Toda, F. ve Argamenteira, A., 1981. Amino Acids, Sugars and Inorganic Elements in the Sweet Almond (*Prunus amygdalus*), Journal of Agricultural and Food Chemistry, 29, 3, 509-511.
- Çağlar, A., Tomar, O., Vatansever, H. ve Ekmekçi, E., 2017. Antepfısıtğı (*Pistacia vera* L.) ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri, Akademik Gıda, 15, 4, 436-447.
- Eser, B., ve Sepici Dinçel, A., 2018. Kromatografiye Giriş, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Kullanımında Basit İpuçları, Sağlık Hizmetleri ve Eğitimi Dergisi, 2, 2, 51-57.
- European Commission Food and Feed Rapid Alert (RASFF), 2020.
- European Commission The Scientific Committee on Food, 1994. Opinion on Toxicological Safety of Aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂.
- European Food Safety Authority (EFSA), 2007. Opinion on the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a Request From the Commission Related to The Potential Increase of Consumer Health Risk by a Possible Increase of the Existing Maximum Levels for Aflatoxins in Almonds, Hazelnuts and Pis, The EFSA Journal, 446, 1-127.
- Food and Agriculture of the United Nations, 2004. Worldwide Regulations for Mycotoxins in Food and Feed in 2003, Rome, 81.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations., 2019. Crops, Rome.
- Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (GTHB), 2018. Kimyasal ve Fiziksel Analizlerde Metot Validasyonu/Verifikasyonu Rehberi. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara, 77s.
- Girgin, G., Başaran, N. ve Şahin, G., 2001. Dünyada ve Türkiyede İnsan Sağlığını Tehdit Eden Mikotoksinler, Türk Hijyen Derneği ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 58, 3, 97-118.
- Gökçay, G., Eren, T. ve Devocioğlu, E., 2012. Bebek Mamalarındaki Katkı Maddeleri, Çocuk Dergisi, 12, 2, 60-65.
- Gümrük ve Ticaret Bakanlığı, 2018. 2017 Yılı Fındık Raporu.

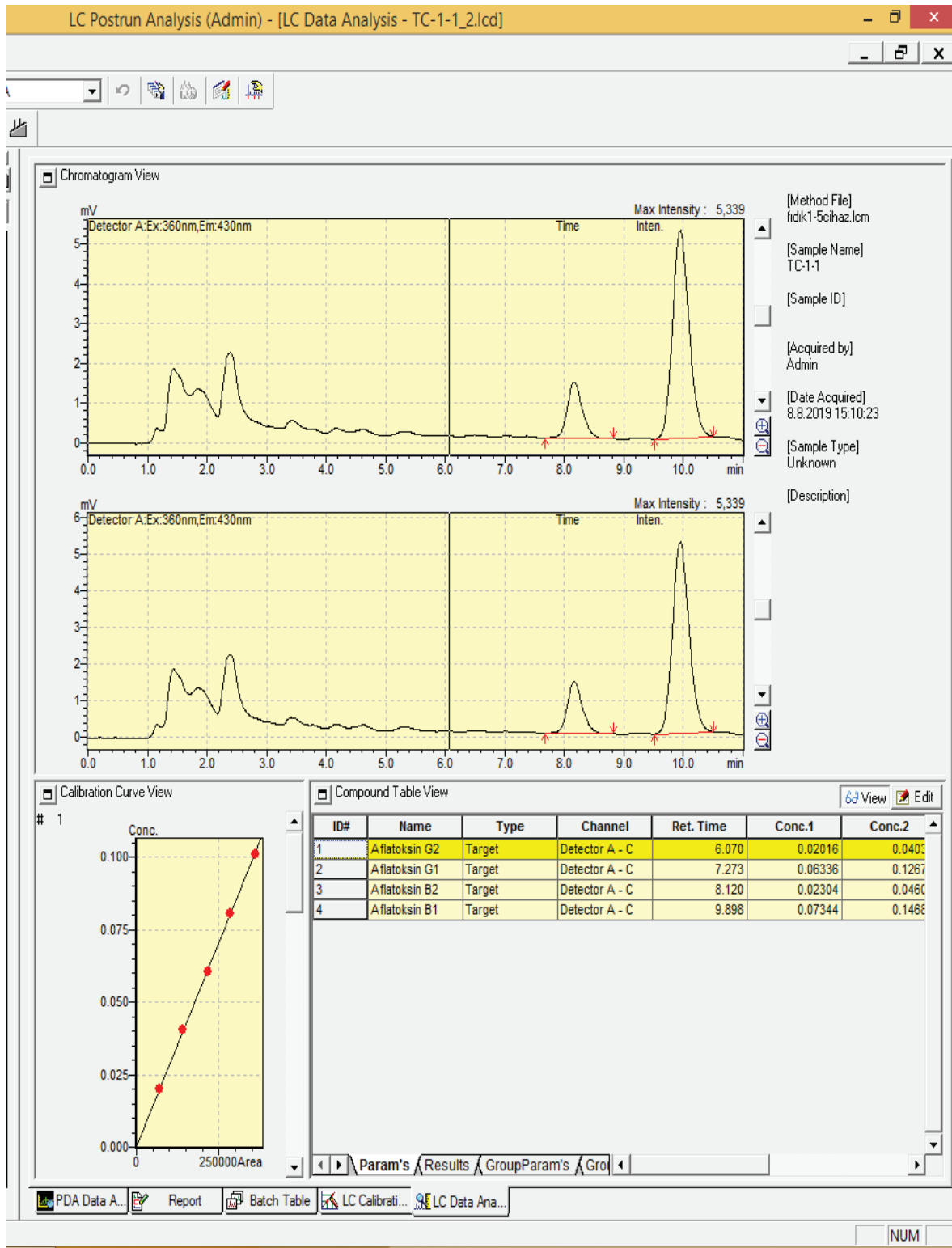
- Gürhayta, O. F. ve Çağındı, Ö., 2015. Kurutulmuş Meyvelerde Aflatoksin ve Okratoksin A Varlığının ve Sağlık Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 12, 2, 327-338.
- Gürses, M., Erdoğan, A. ve Sert, S., 2003. Erzurum Piyasasında Satılan Yerfıstığı, Antepfıstığı ve Bademlerin Aflatoksin B1 Kontaminasyonu Bakımından İncelenmesi, Gıda, 28, 6, 607-610.
- Hepsağ, F., 2018. Osmaniye İlinde Üretilen Yer Fıstığı Ezmelerinin Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi, Adıyaman Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Arazi Yönetimi Uygulama ve Araştırma Merkezi Dergisi, 6, 2, 55-66.
- International Agency for Research on Cancer (IARC), 2002. Some Traditional Herbal Medicine, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Lyon, 82.
- Javaid, T., Mahmood, S., Saeed, W. ve Alam, M.Q., 2019. A Critical Review on Varieties and Benefits of Almond (Prunus dulcis), Acta Science Nutritional Health, 3, 11, 70-72.
- Kadiroğlu, A., 2008. Yer Fıstığı Yetiştiriciliği. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Antalya, 53s.
- Kadiroğlu, A., 2018. Yerfıstığı Yetiştiriciliği, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Antalya, 74s.
- Kanık, T., 2018. Bademlerde Aflatoksin Varlığının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çorum, 76s.
- Karaca, R., Tekin, H., Arpacı, S., Atlı, S., Mart, C., ve Turan, K., 1995. Antepfıstığı Yetiştirme Tekniği, Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Gaziantep, 136s.
- Karapınar, H.S., 2013. Bazı Gıdaların Aflatoksin İçeriğinin HPLC Metodu ile Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Karaman, 77s.
- Kibar, H., Öztürk, T., 2008. Sert Kabuklu Meyvelerin Depolanması (Derleme), Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 23, 48, 77-84.
- Kiraz, D., 2016. Mardin İlinde Rasyon ile Beslenen Süt Sığırlarında Sütteki Aflatoksin M1 Kontaminasyonuna Mevsim Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 128s.
- Magnusson, B. ve Ellison, S.L.R., 2008. Treatment of Uncorrected Measurement Bias In Uncertainty Estimation for Chemical Measurements, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 390, 201-213.

- Magnusson, B., Näykki, T., Hovind, H., ve Krysell, M., 2012. Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories. Nordtest Report NT TR 537 (Ed. 3.1), Nordic Innovation: Oslo, Norway, 46s.
- Magnusson, B., ve Örnemark, U., 2014. The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Eurachem Guide, 2nd ed., A Focus For Analytical Chemistry in Europe. 70s.
- Minh, N.P., Pham, V. T., Da, V.T., Vinh, T.Q. ve Thuan, L.Q., 2019. Effect of Drying, Roasting and Preservation on Antioxidant of Cashew (*Anacardium Occidentale*) Nut, Journal of Pharmaceutical Science and Research, 11, 3, 930-934.
- Moayed, A., Rezaei, K., Moini, S. ve Keshavarz, B., 2010. Chemical Compositions of Oils from Several Wild Almond Species, Journal of the American Oil Chemists Society, 88, 4, 503-508.
- Nordisk Metodikkomite for Næringsmidler (NMKL), 2009. Validation of Chemical Analytical Methods, NMKL Procedure No.4 (Ed.3).
- Okonkwo, C. ve Ozoude, U.J., 2015. The Impact of Processing on the Nutritional, Mineral and Vitamin Composition of Cashew Nut, International Journal of Engineering Research ve Technology, 4, 3, 596-602.
- Onay, A., Tilkat, E., Ersalı, Y., Ayaz Tilkat, E., Süzerer, V., 2012. Antepfıstığının (*Pistacia vera* L.) Morfolojik ve Biyolojik Özellikleri ile Verimini Etkileyen Faktörler, Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi, 2, 1, 116-131.
- Onur, E., Tuğrul, B. ve Bozyiğit, F., 2009. DNA Hasarı ve Onarım Mekanizması, Türk Klinik Biyokimya Dergisi, 7, 2, 61-70.
- Özdemir, F., Gölükcü, M. ve Topuz, A., 2003. Yer Fıstığının (*Arachis hypogaea*) Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri ve Fıstık Kavurmada Mikrodalga Uygulamasının Yağ Asitleri Bileşimi Üzerine Olan Etkisi, Gıda/Journal of Food, 28, 1, 39-45.
- Özkaya, Ş., ve Temiz, A., 2003. Aflatoksinler: Kimyasal Yapıları, Toksikite ve Detoksifikasyonları. Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi, 1, 1, 1-21.
- Polat, S., 2014. Türk Fındığı (*Corylus colurna*)'nın Türkiye'deki Yeni Bir Yayılış Alanı, Marmara Coğrafya Dergisi, 29, 136-149.
- Saleh, K., 2019. Global Online Retail Spending-Statistics and Trends. <https://www.invespcro.com/blog/global-online-retail-spending-statistics-and-trends/>

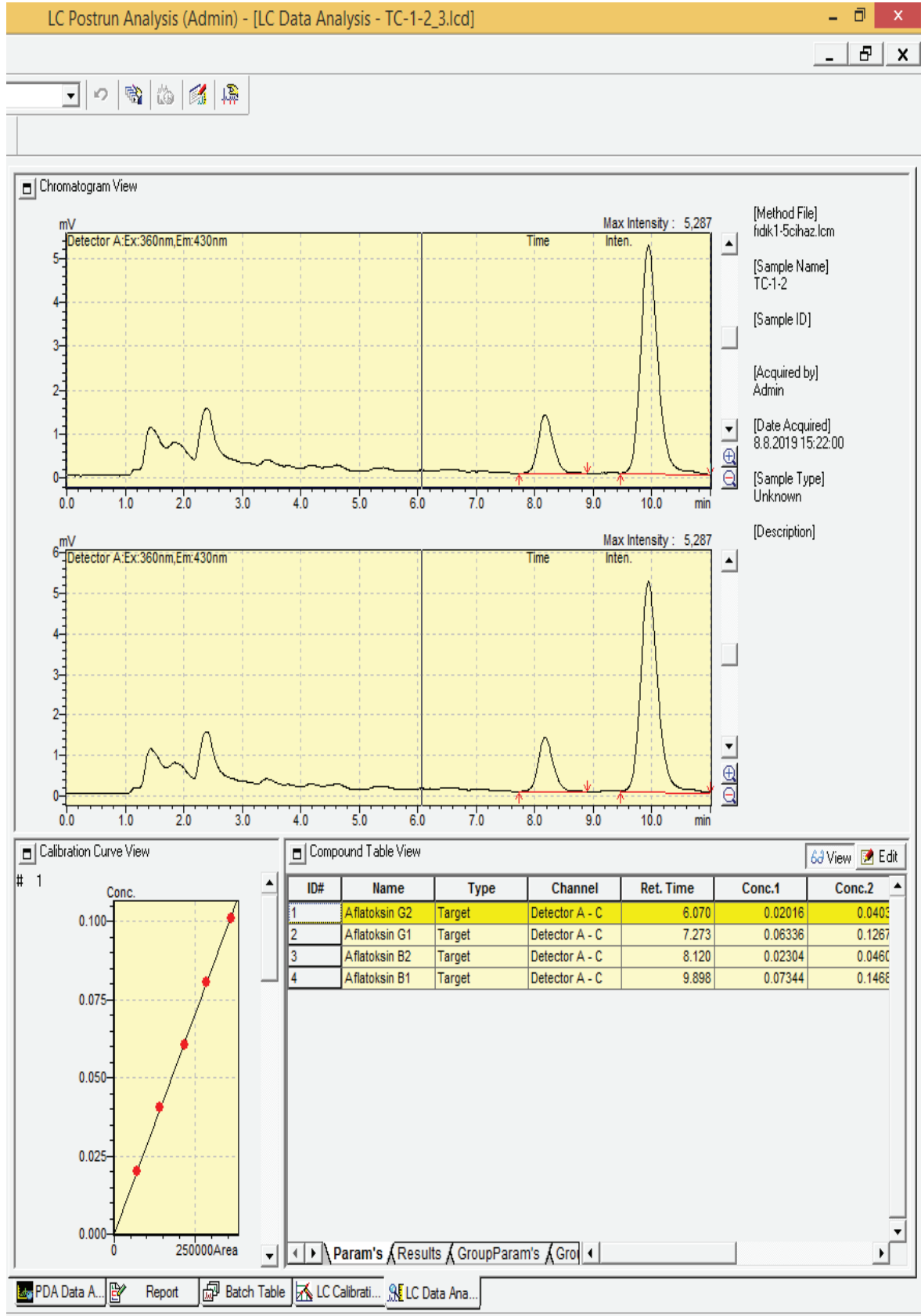
- Salvi, B.R., Khedkar, S.P., Sawant, B.N, Khandekar, R.G. ve Dalvi, N.V., 2019. Cashew Doubling Farmers Income: Success Stories in Konkan, Cashew and Cocoa Journal, 8, 2, 11-15.
- Sedefoğlu, C., 2013. Antep Fıstıklarında Okratoksin A ve Aflatoksin Varlığının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 113s.
- Sharma, K.K. ve Bhatnagar-Mathur, P., 2006. Peanut (*Arachis hypogaea* L.). Agrobacterium Protocols. Wang, K. (eds). Human Press, Totowa, New Jersey. pp. 347-358.
- Sert, S., 1985. Mikotoksin Üretimine Tesir Eden Faktörler, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 16, 1-4, 147-159.
- Stroka, J., Von Holst, C. ve Elke, A., 2003. Immunoaffinity Column Cleanup with Liquid Chromatography Using Post-Column Bromination for Determination of Aflatoxin B1 in Cattle Feed: Collaborative Study, Journal of AOAC International, 86, 6, 1179-1186.
- Sudhakar, P., Priyanka, K., Peter, A.E., Sandeep, B.V., Rajeswari, M., Rao, B.G. ve Sujatha, P., 2018. A Study on the Proximate Composition and Nutritive Value of Local Tree Almonds, *Prunus amygdalus*. Annals of Plant Science, 7, 6, 2363-2372.
- Şimşek, A. ve Aslantaş, R., 1999. Fındığın Bileşimi ve İnsan Beslenmesi Açısından Önemi, Gıda/ The Journal of Food, 24, 3, 209-216.
- Taylor, J.R., 1997. Introduction to Error Analysis: The Study of Uncertainties in Physical Measurements, University Science Books, California, 327s.
- The Commission of The European Communities, 2001. Setting Maximum Levels For Certain Contaminants in Foodstuffs. (Commission Regulation (EC) No 466/2001), 25s.
- Türkiye Cumhuriyeti Ticaret Bakanlığı, 2019. 2018 Yılı Fındık Raporu. TC Ticaret Bakanlığı, Esnaf, Sanatkarlar ve Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü, Ankara. <https://ticaret.gov.tr/data/5d41e59913b87639ac9e02e8/5c41e34d540794faaa011bdfa3466ff3.pdf>
- TS 5822-6 (ISO 5725-6), 2003. Ölçme Metotlarının ve Sonuçlarının Doğruluğu (Gerçeklik ve Kesinlik)-Bölüm 6: Doğruluk Değerlerinin Pratikte Kullanılması. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Tunail, N., 2000. Mikrobiyal Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar, Sim Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara, 502s.

- Tüm Kuruyemiş Sanayici ve İş Adamları Derneği (TÜKSIAD), 2014. Kuruyemiş Sektörü Mevcut Durum Analizi. <http://www.tuksiad.org/uploads/yuklemeler/tuksiad-mda-2014.pdf>
- Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği, 2011. Resmi Gazete Sayı:28157
- TS EN 12955, 2003. Gıda Maddeleri-Hububatlarda, Kabuklu Meyvelerde ve Türetilmiş Ürünlerde Aflatoksin B1 ile Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2 Toplamlarının Tayini - Artkolon Türevlendirmeli İmmunoaffinite ile Kolondan Geri Almalı Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Yöntemi. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), 2019. Hanehalkı Bilişim Teknolojileri (BT) Kullanım Araştırması. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=30574>
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), 2020. Meyve, Sert kabuklular ve İçecek Bitkileri İçin Bitkisel ürün Denge Tabloları. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001
- Var, I., Kabak, B. ve Özkarslı, M., 2004. Mikotoksin Aranmasında Kullanılan Analiz Yöntemleri, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 2, 11, 1-11.
- World Health Organization (WHO), 2018. Obesity and overweight. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>: <https://www.who.int>
- Yalçın, G., 2012. Bir Ayırma Sanatı Kromatografi ve Kısa Tarihçesi. VI. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, 3-7, Eylül, 2012, Hatay, Türkiye, s. 12.
- Yıkılmaz, F., 2007. Tekirdağ İlinde Satışa Sunulan Kuru İncirlerde Aflatoksin Varlığı. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, 58s.
- Yunus, A.W., Fazeli, E.R., ve Bohm, J., 2011. Aflatoxin B₁ in Affecting Broiler's Performance, Immunity and Gastrointestinal Tract: A Review of History and Contemporary Issues, Toxins, 3, 6, 566-590.

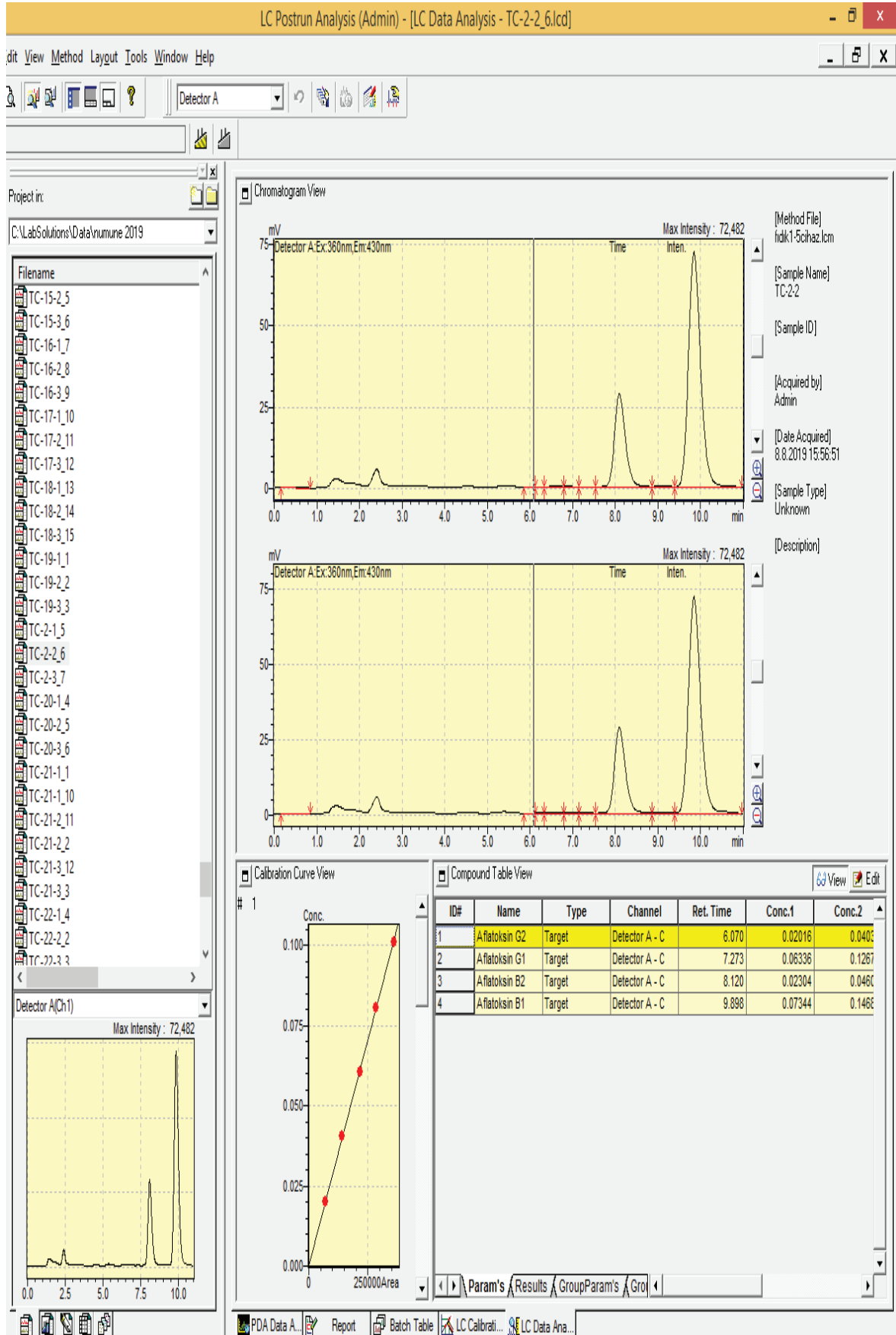
7. EKLER



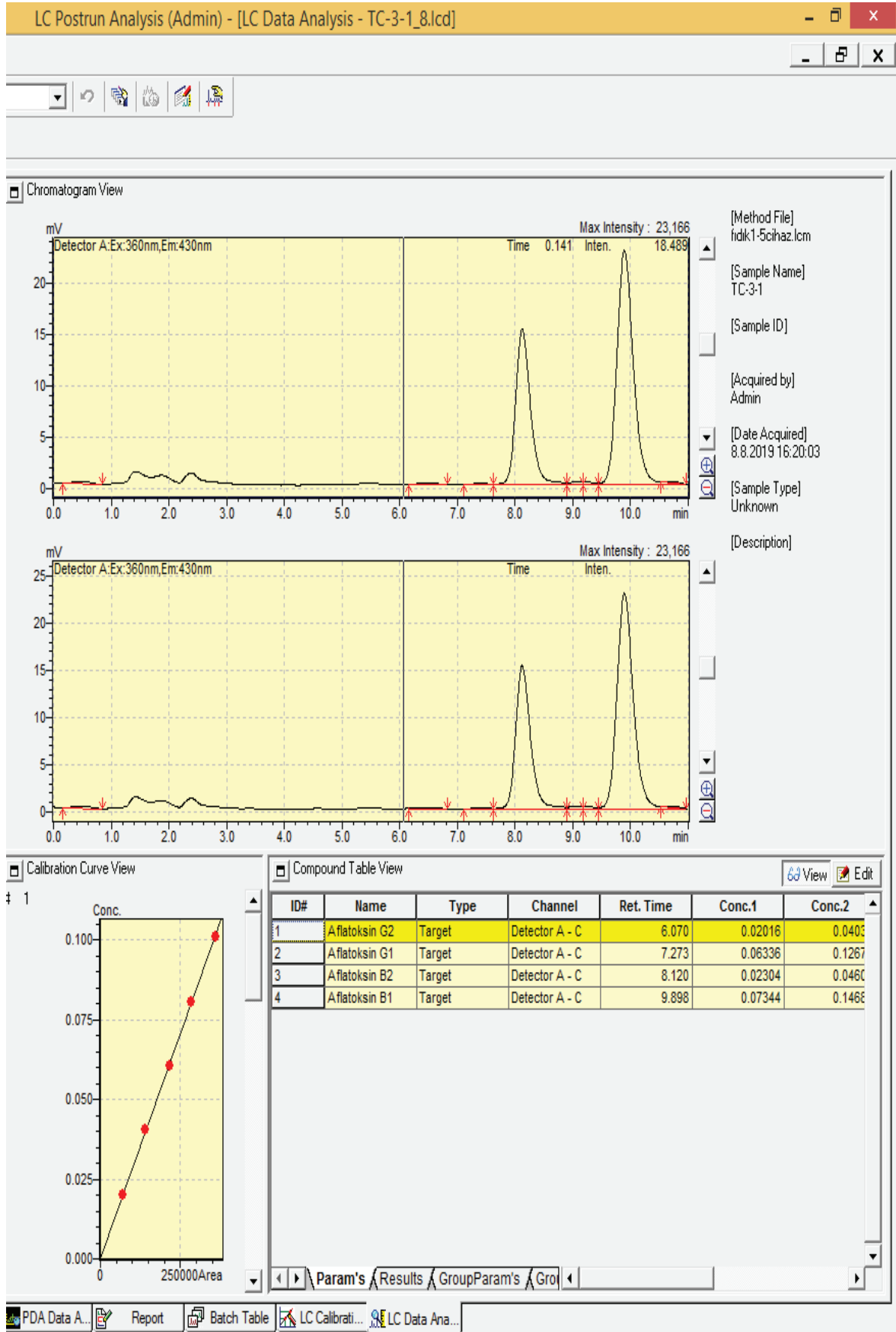
Ek Şekil 7.1. TC-1-1 numunesi kromatogramı



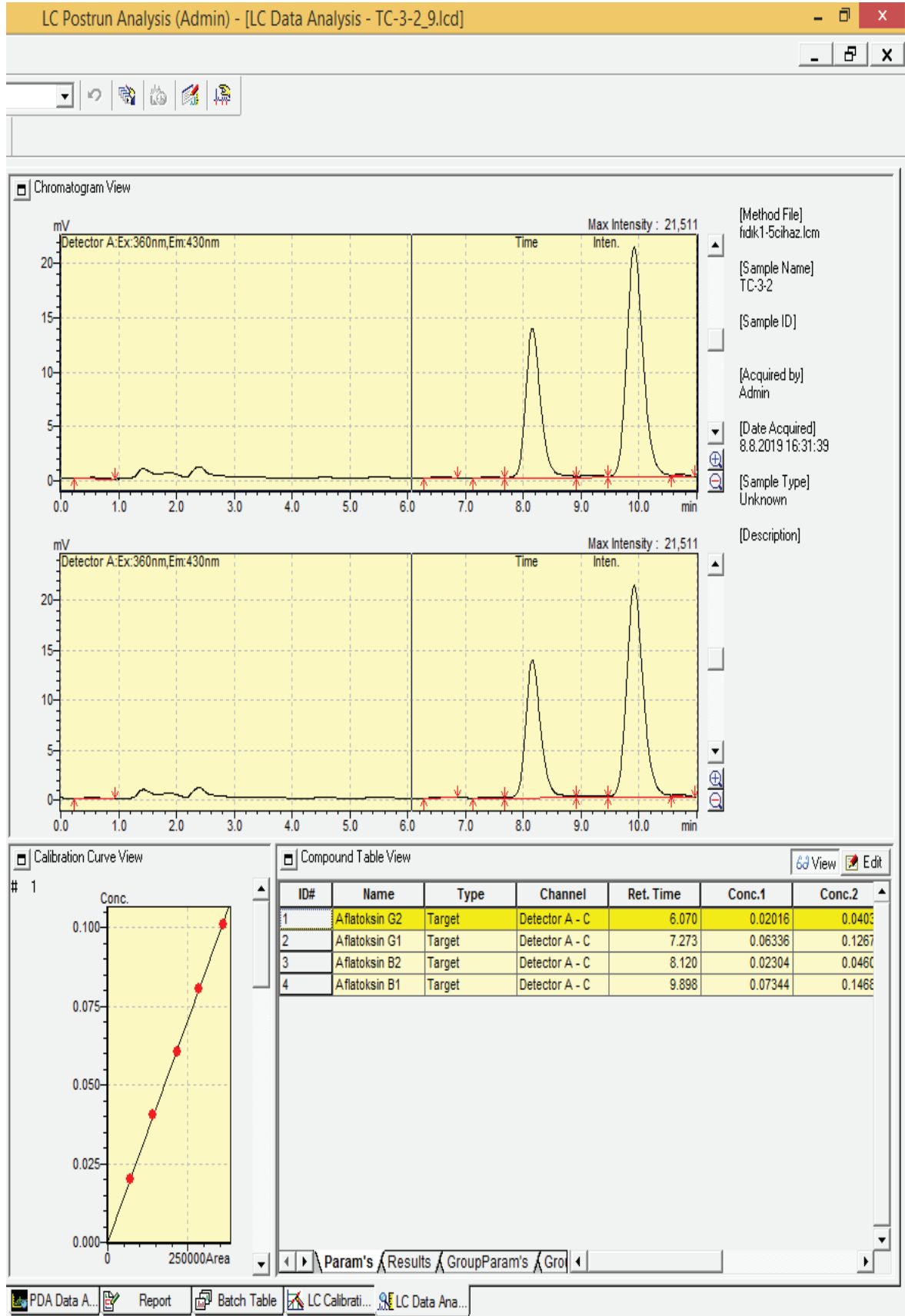
Ek Şekil 7.2. TC-1-2 numunesi kromatogramı



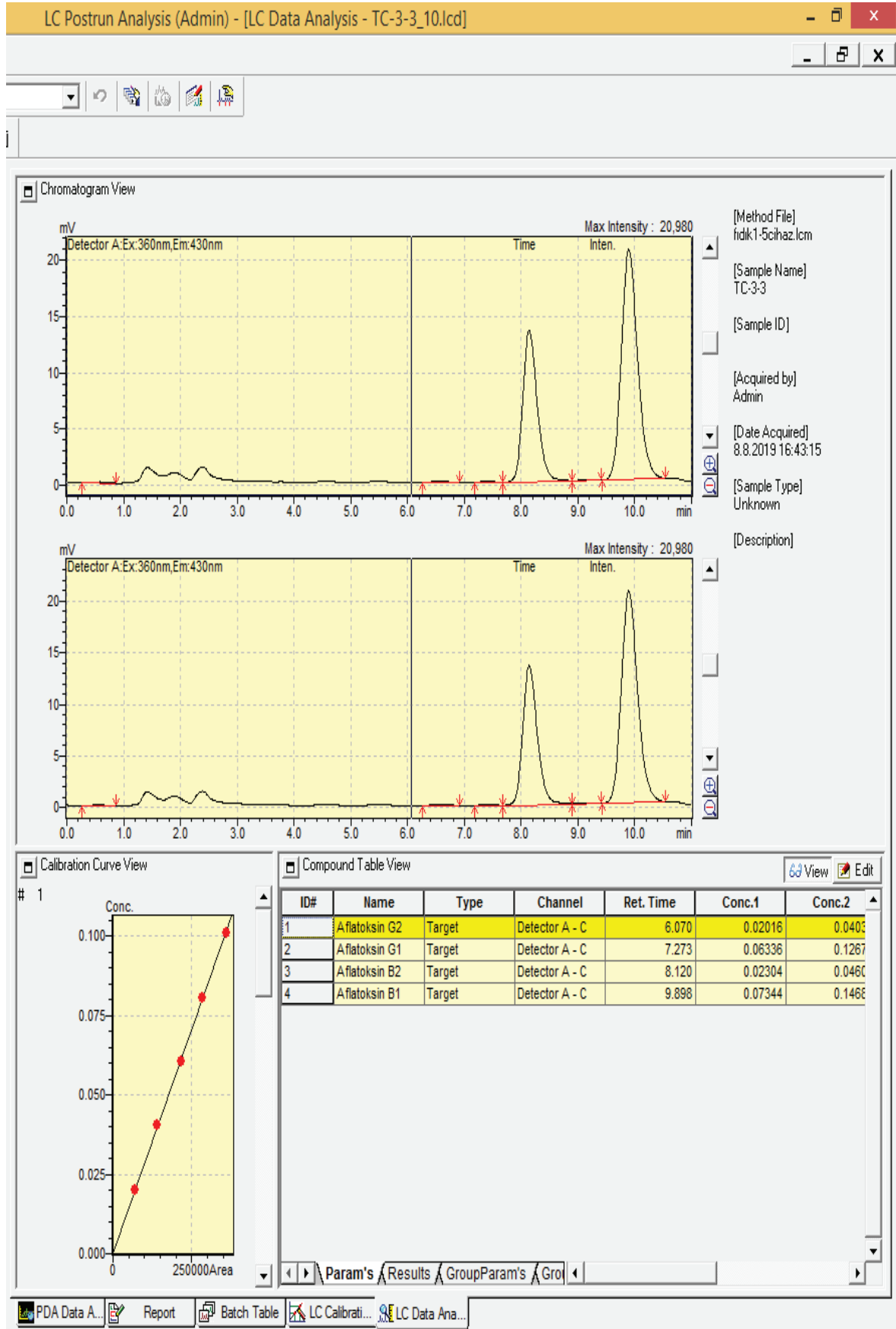
Ek Şekil 7.5. TC-2-2 numunesi kromatogramı



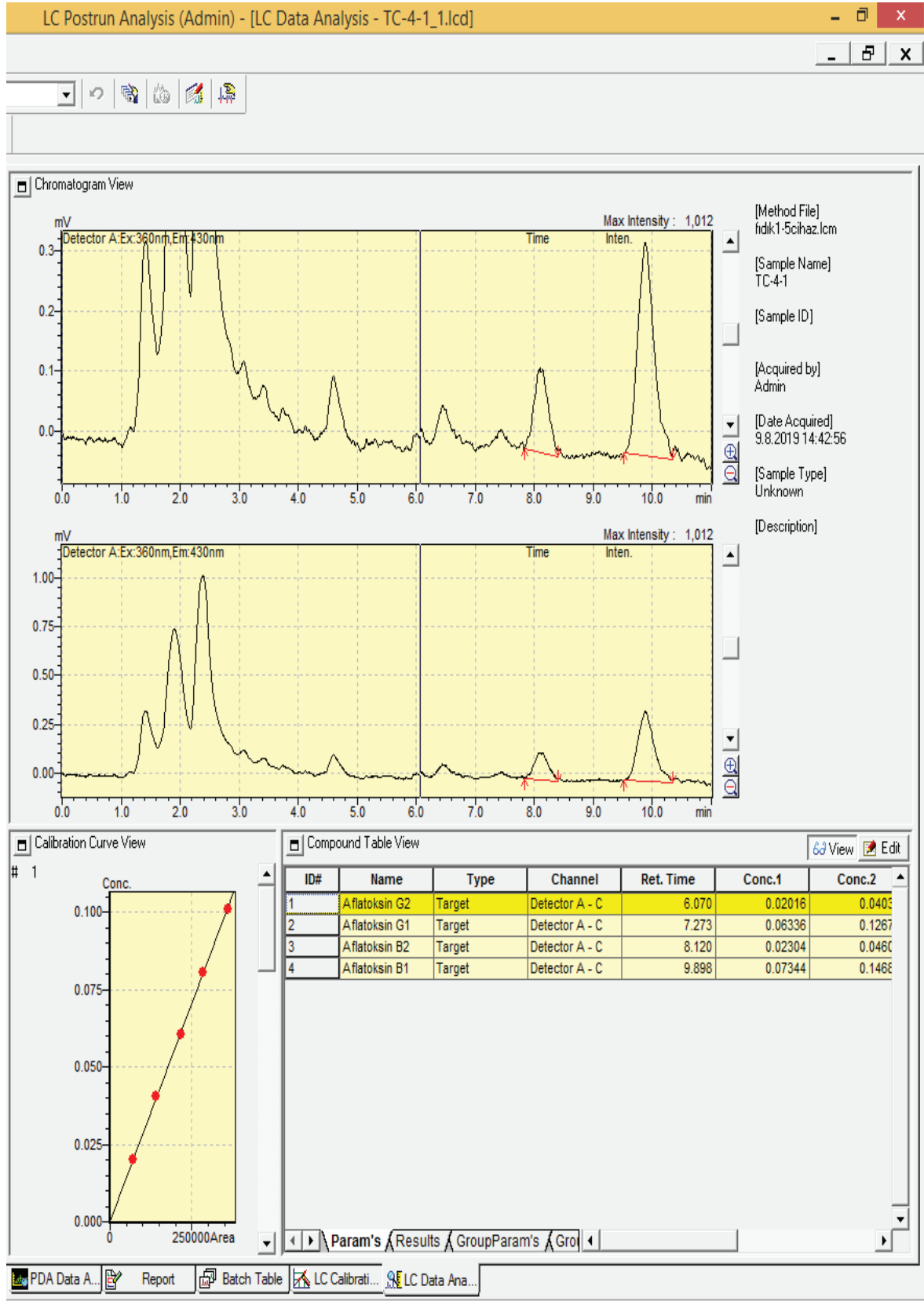
Ek Şekil 7.7. TC-3-1 numunesi kromatogramı



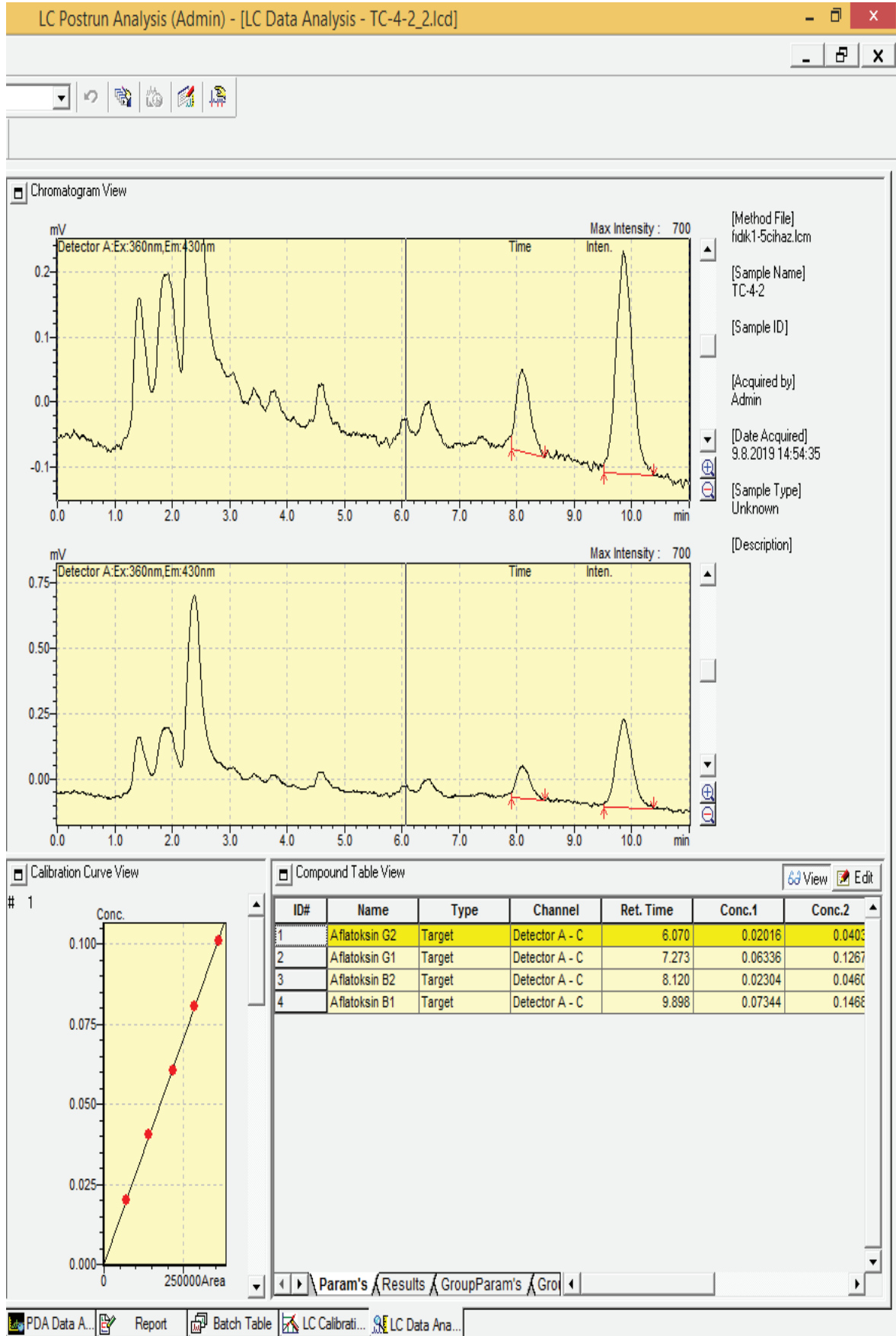
Ek Şekil 7. 8. TC-3-2 numunesi kromatogramı



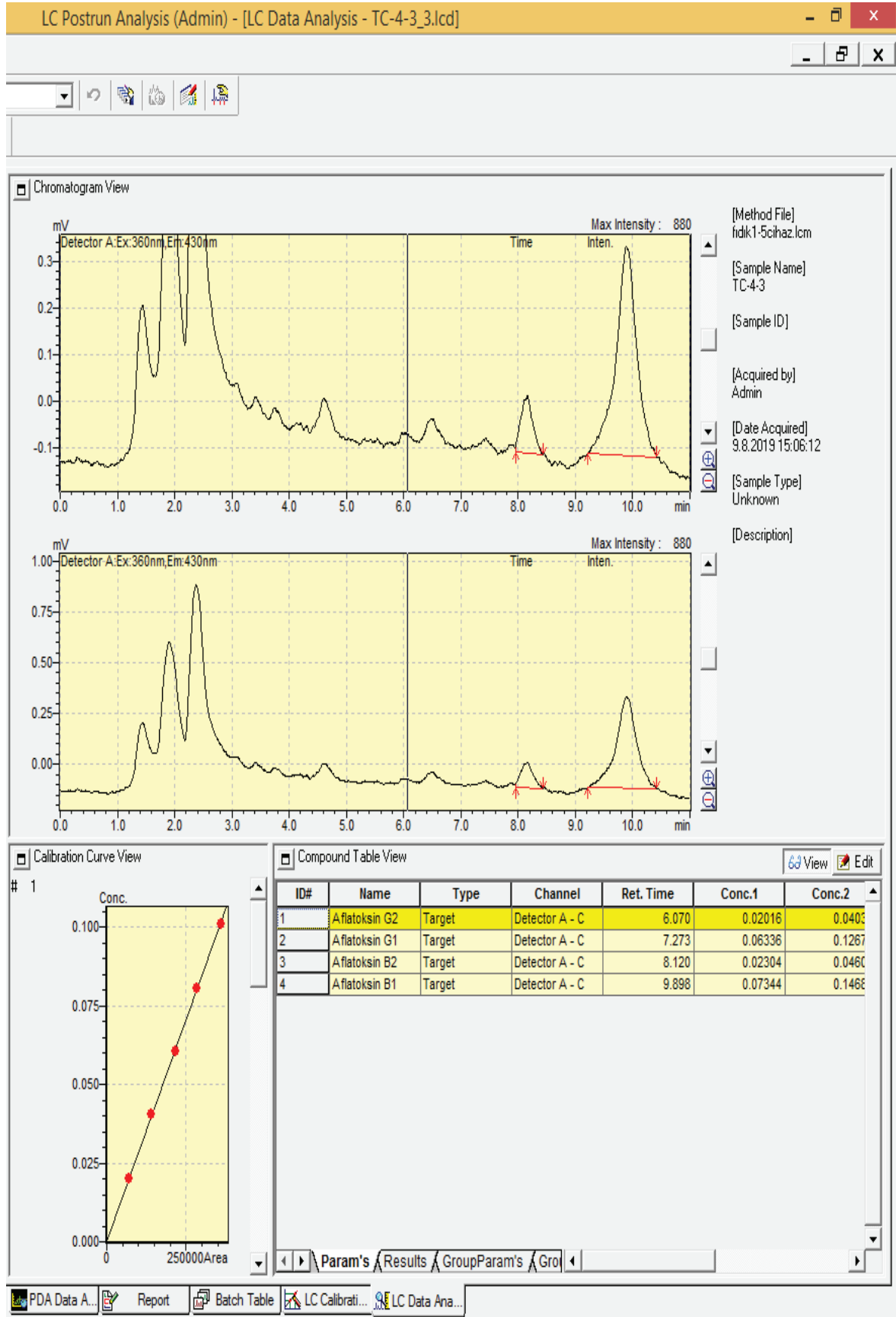
Ek Şekil 7.9. TC-3-3 numunesi kromatogramı



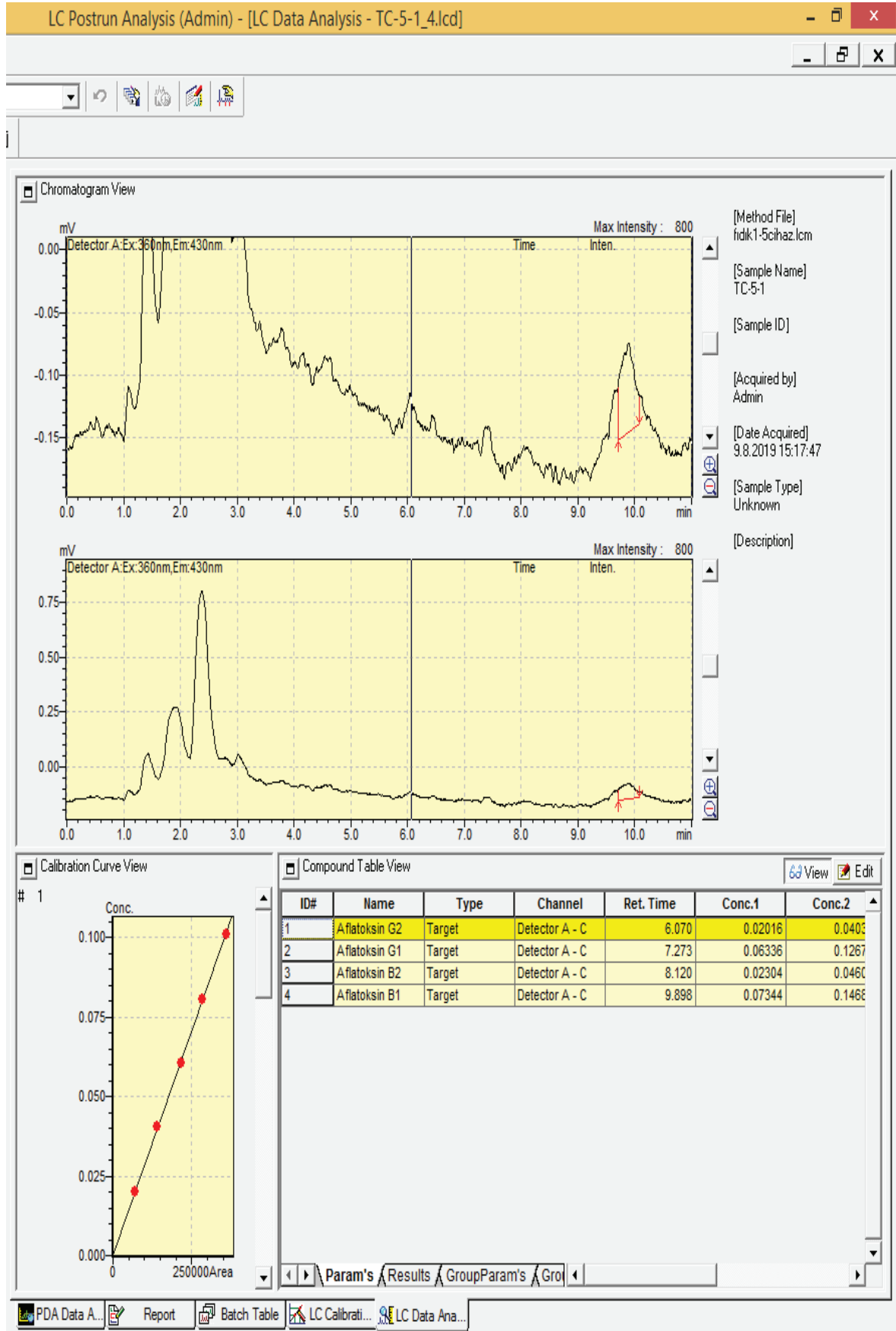
Ek Şekil 7.10. TC-4-1 numunesi kromatogramı



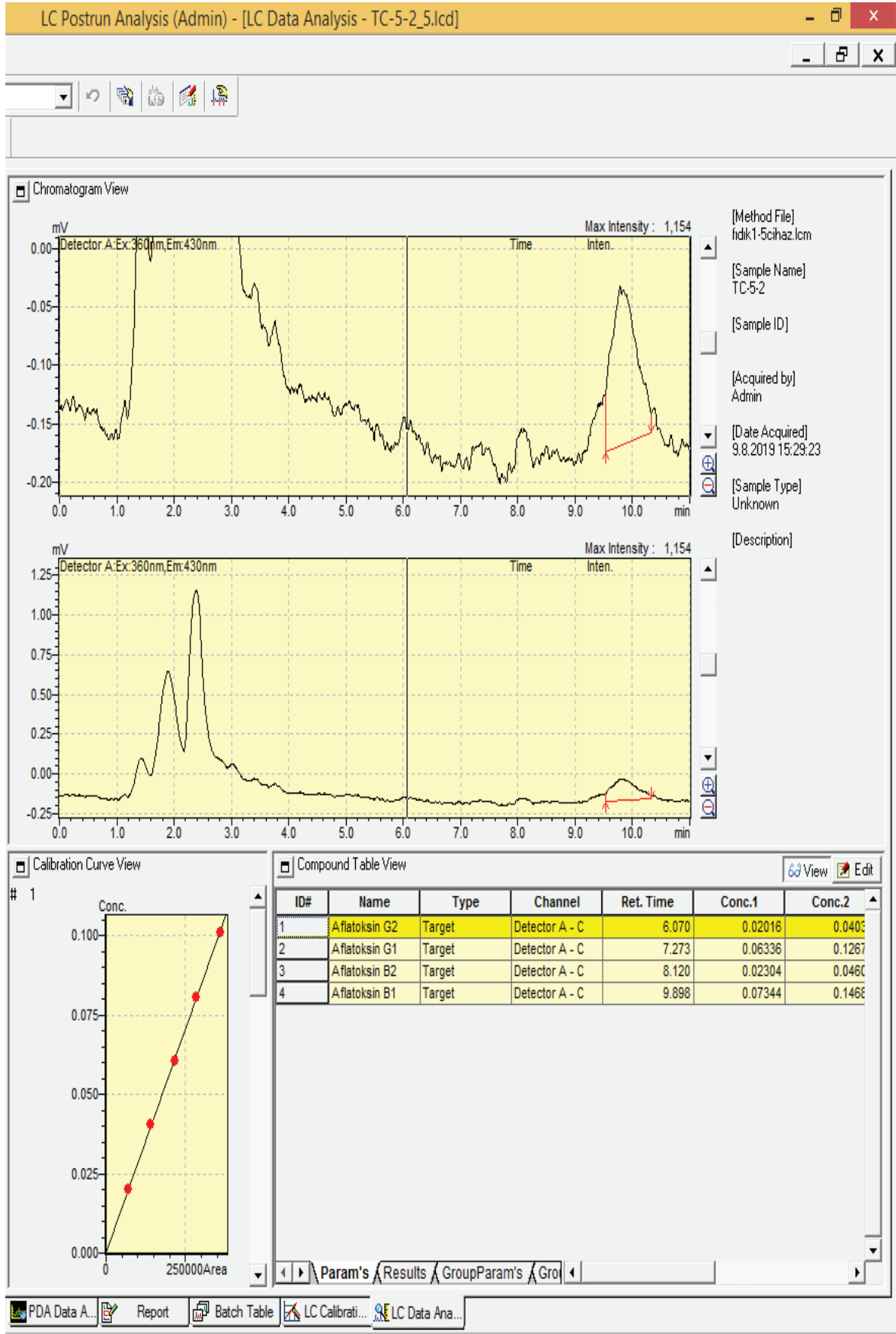
Ek Şekil 7.11. TC-4-2 numunesi kromatogramı



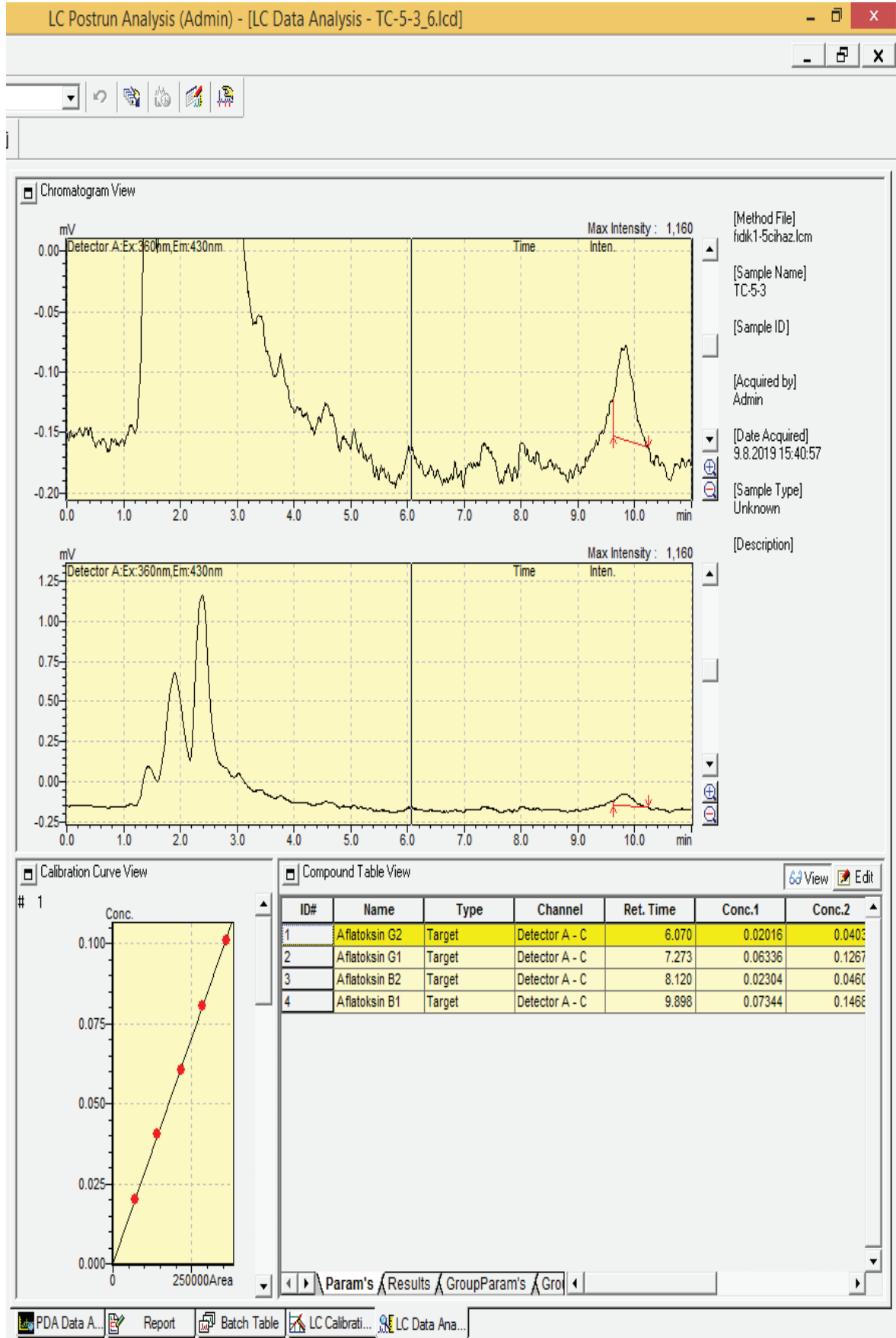
Ek Şekil 7.12. TC-4-3 numunesi kromatogramı



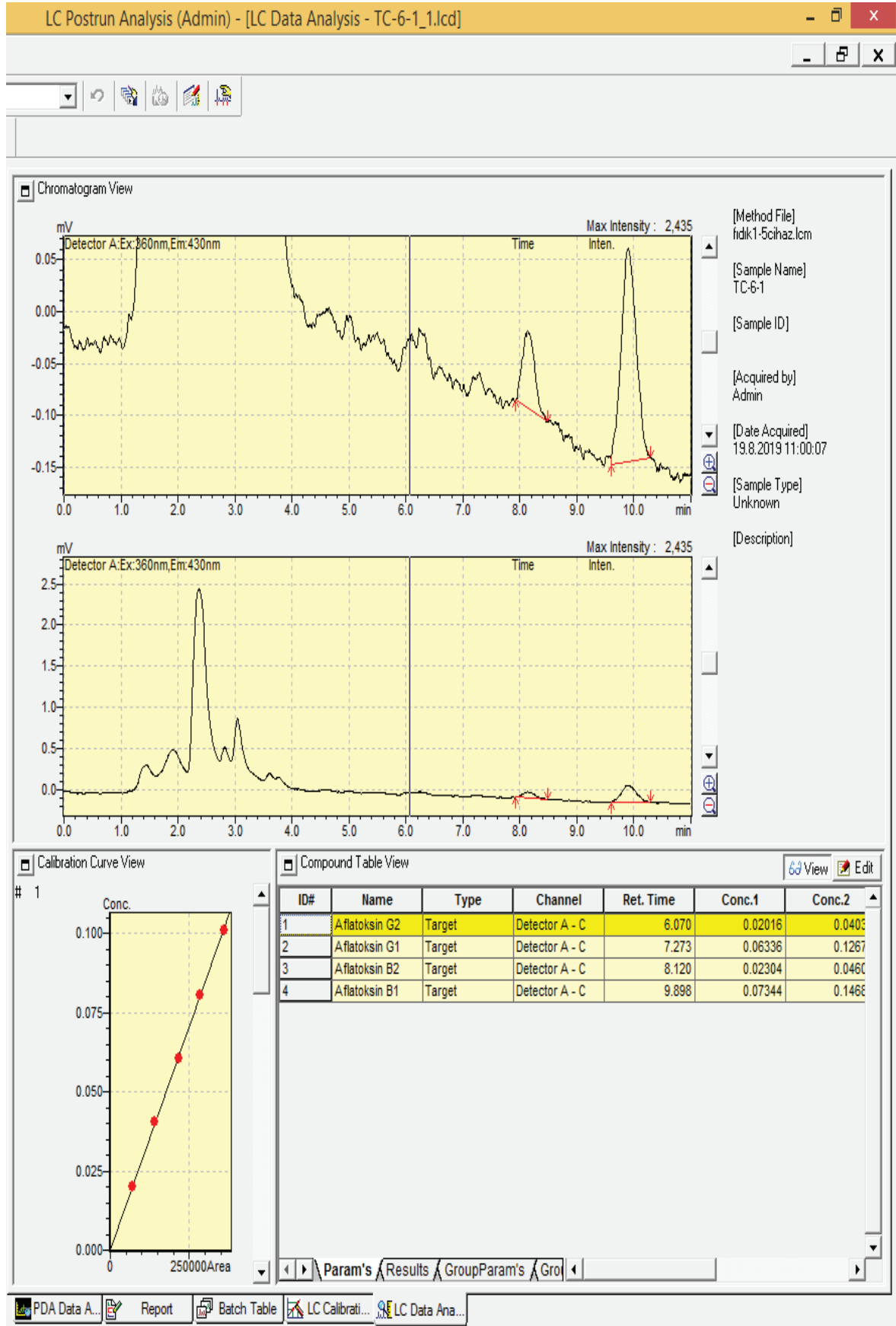
Ek Şekil 7.13. TC-5-1 numunesi kromatogramı



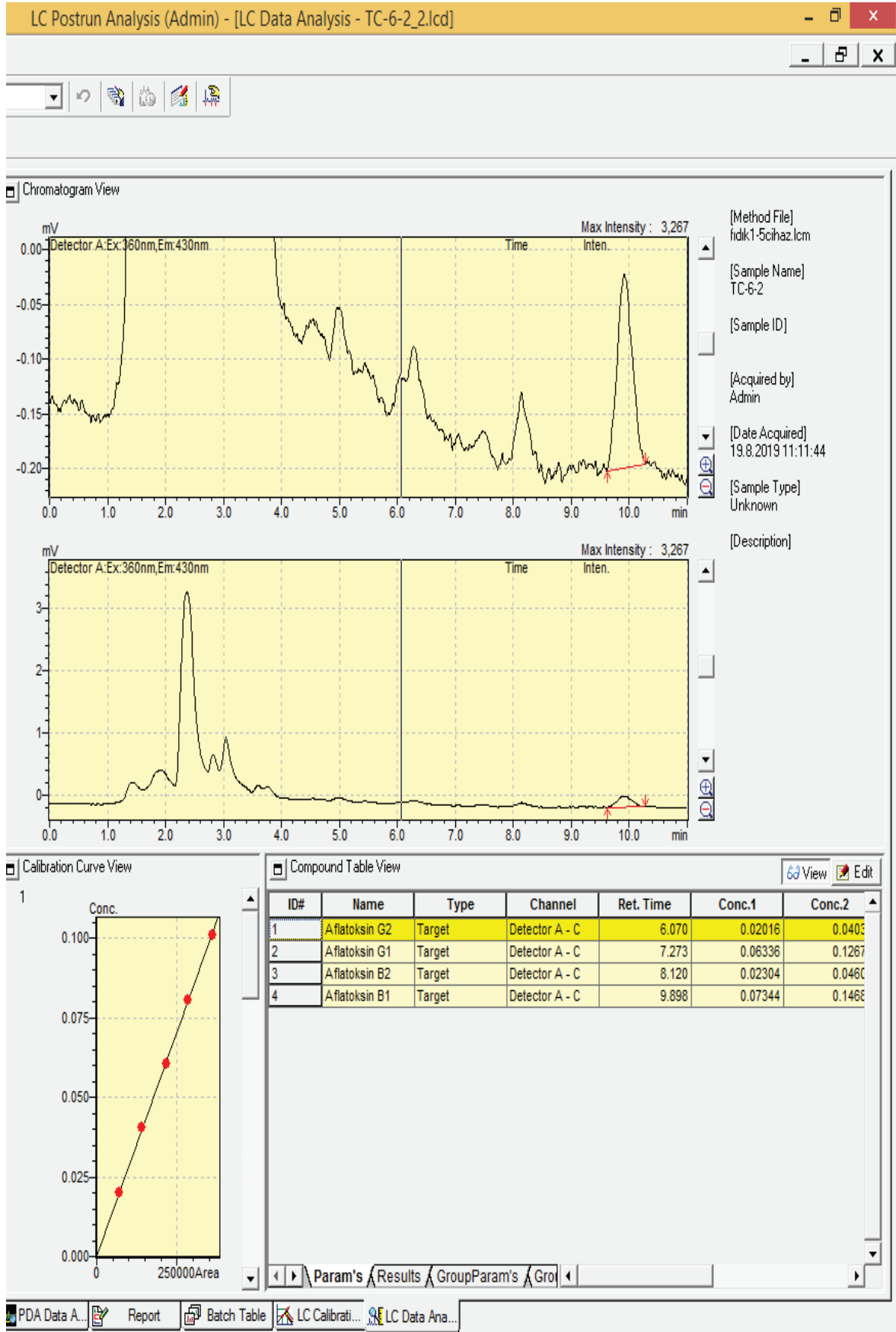
Ek Şekil 7.14. TC-5-2 numunesi kromatogramı



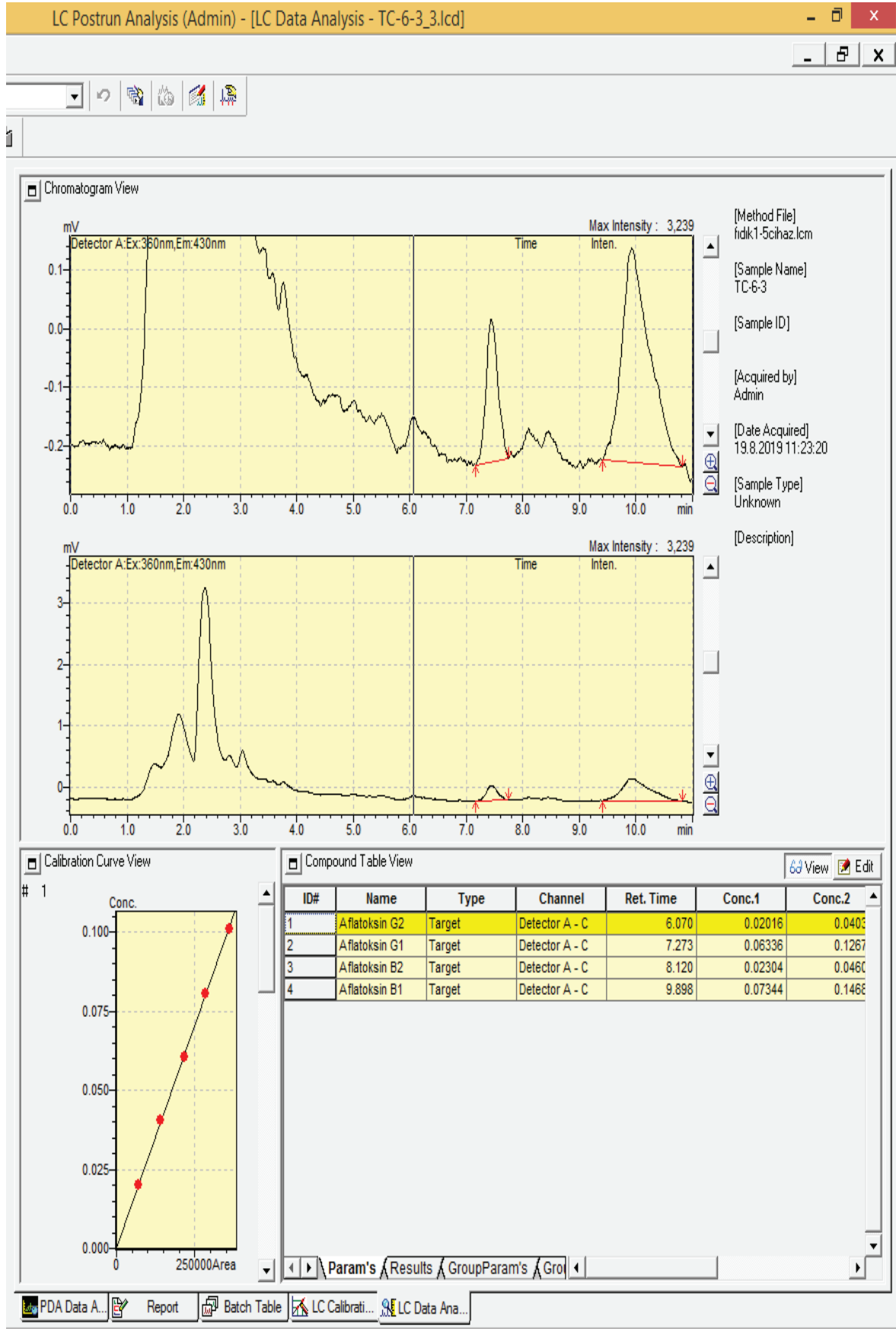
Ek Şekil 7.15. TC-5-3 numunesi kromatogramı



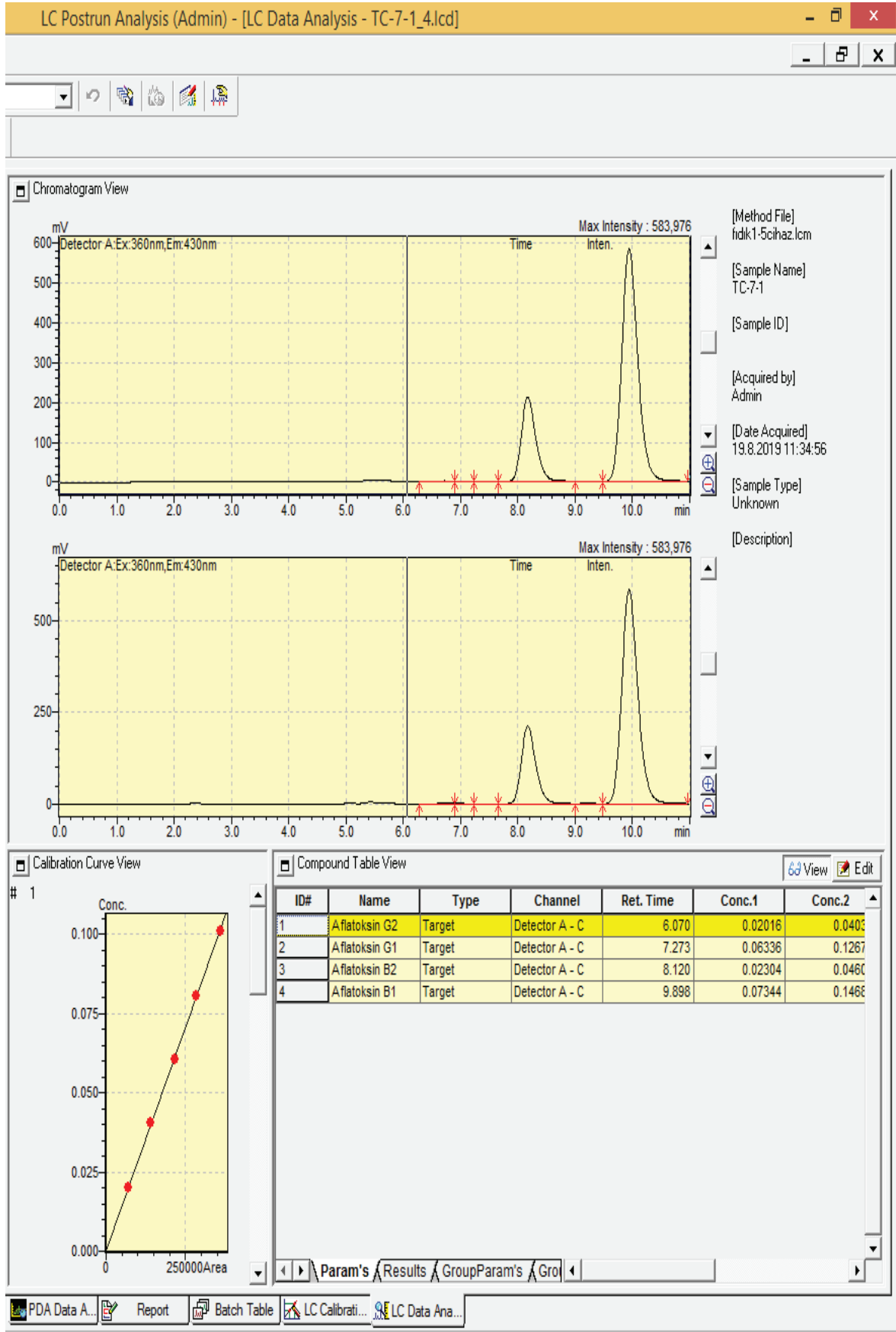
Ek Şekil 7.16. TC-6-1 numunesi kromatogramı



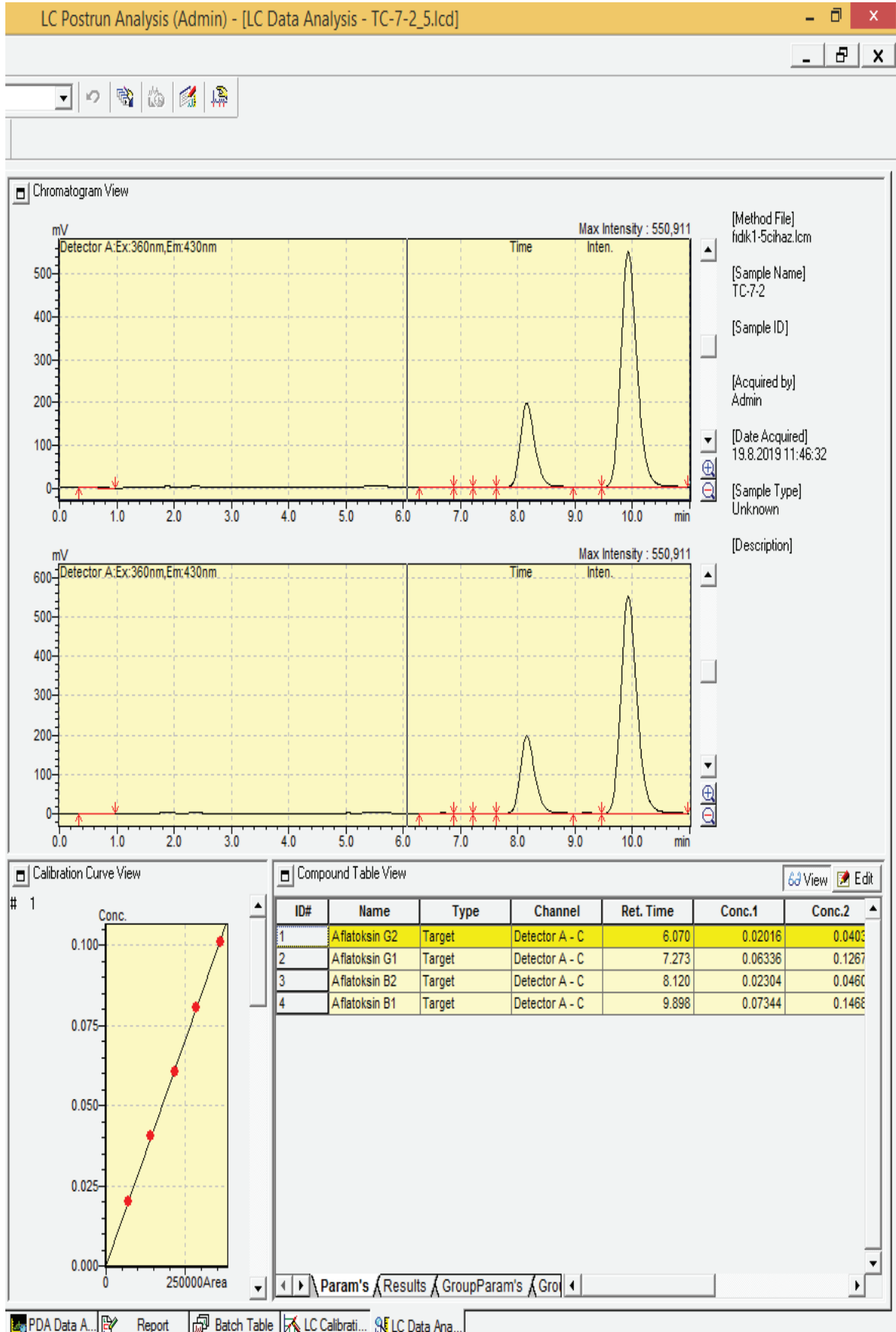
Ek Şekil 7.17. TC-6-2 numunesi kromatogramı



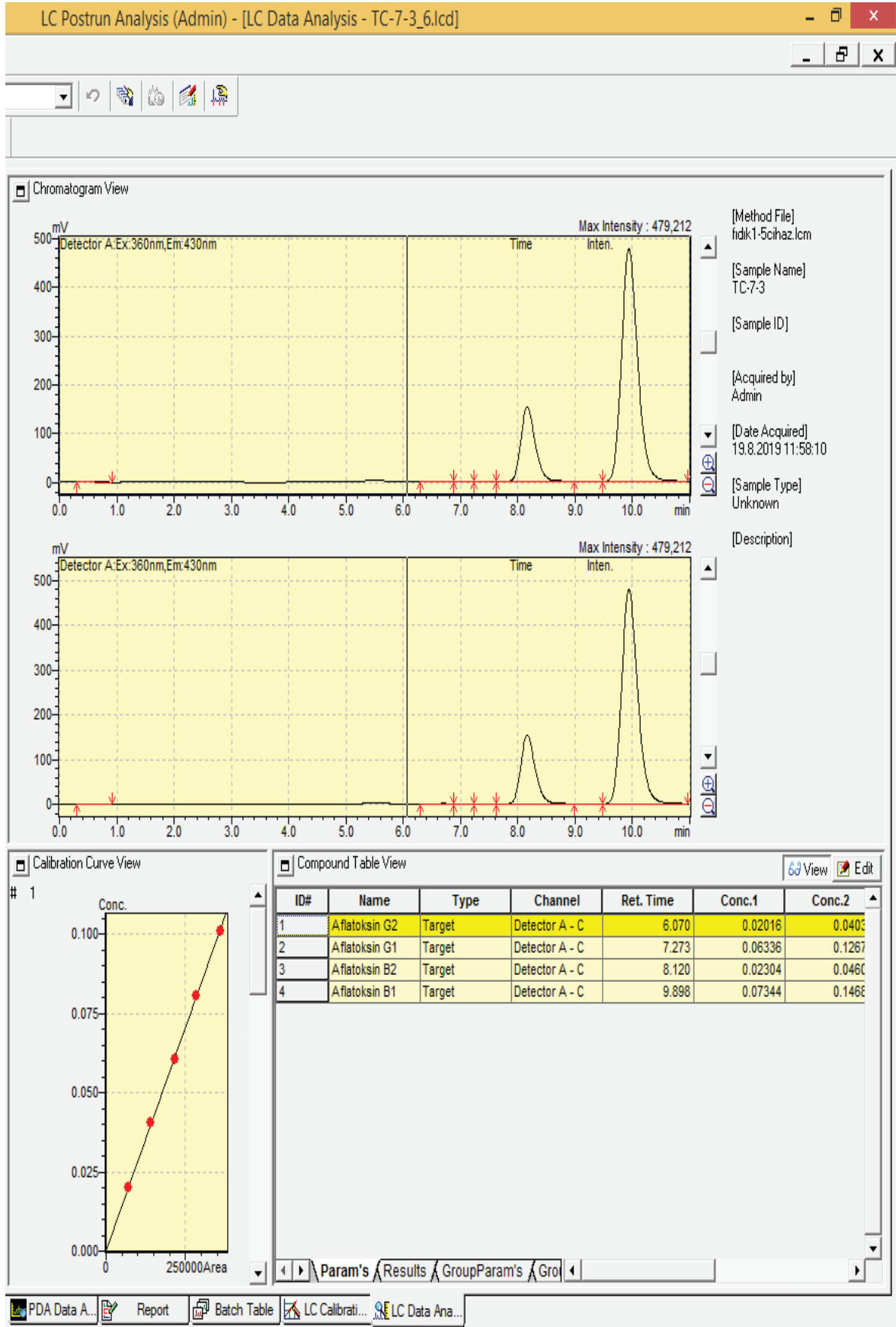
Ek Şekil 7.18. TC-6-3 numunesi kromatogramı



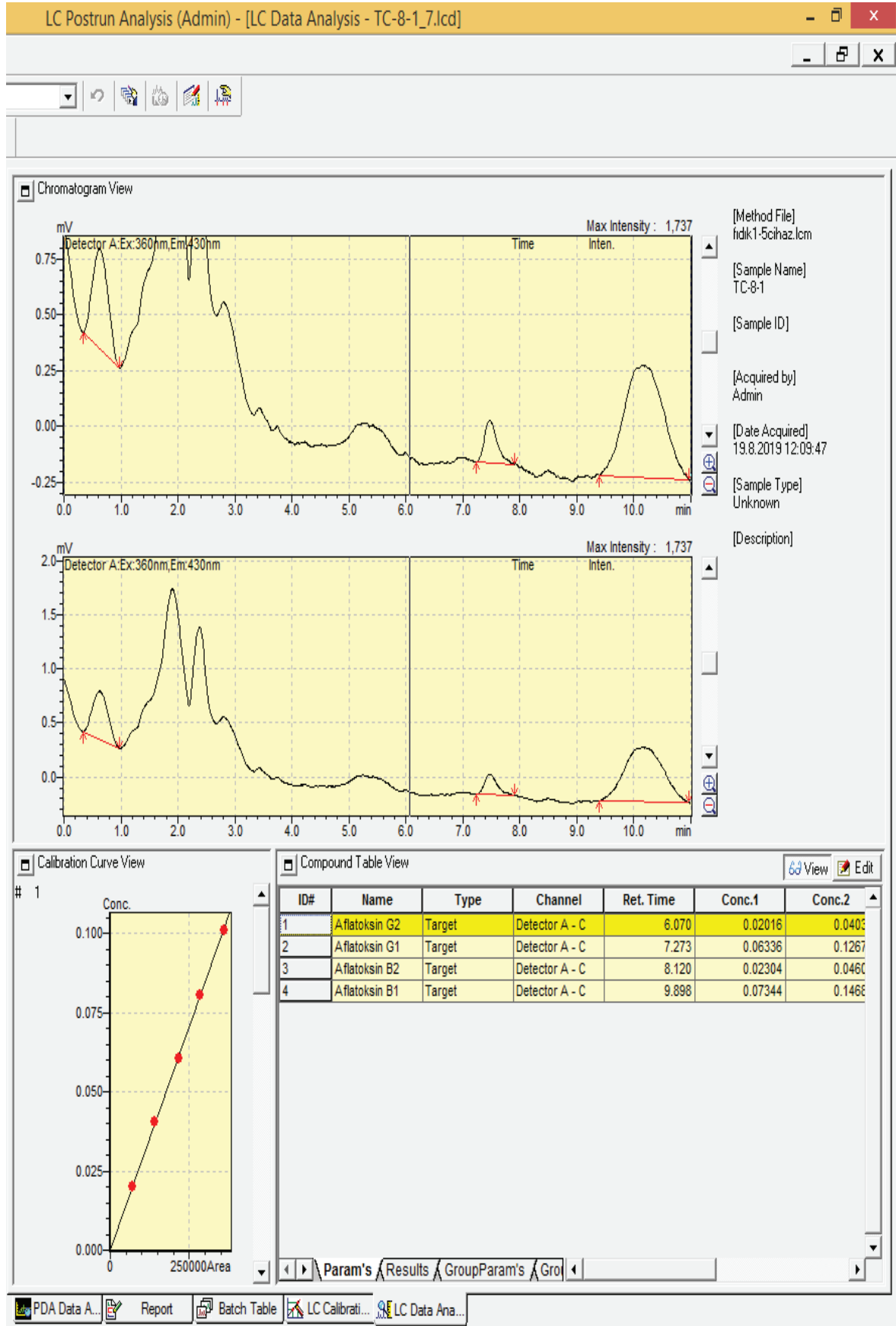
Ek Şekil 7. 19. TC-7-1 numunesi kromatogramı



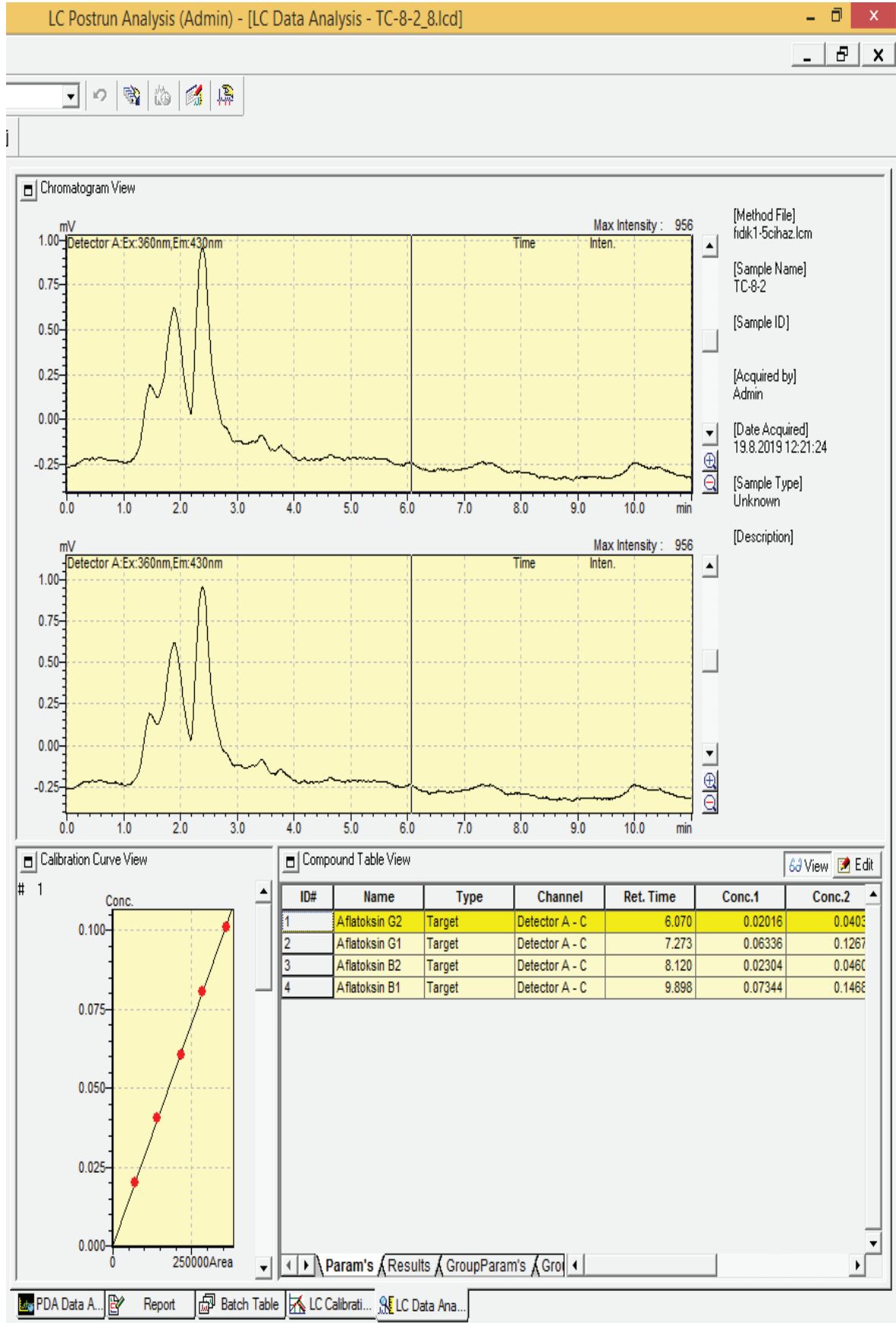
Ek Şekil 7.20. TC-7-2 numunesi kromatogramı



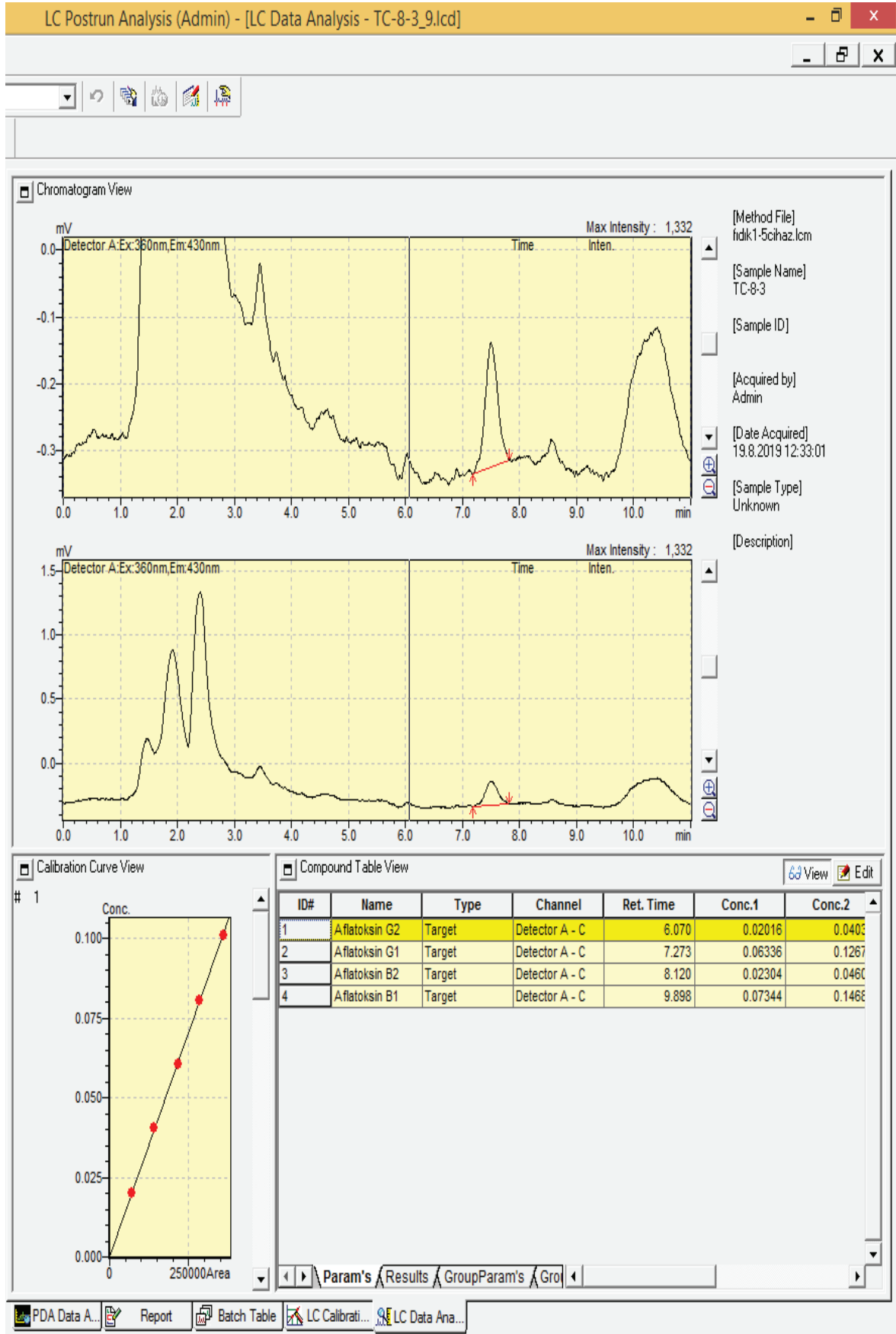
Ek Şekil 7.21. TC-7-3 numunesi kromatogramı



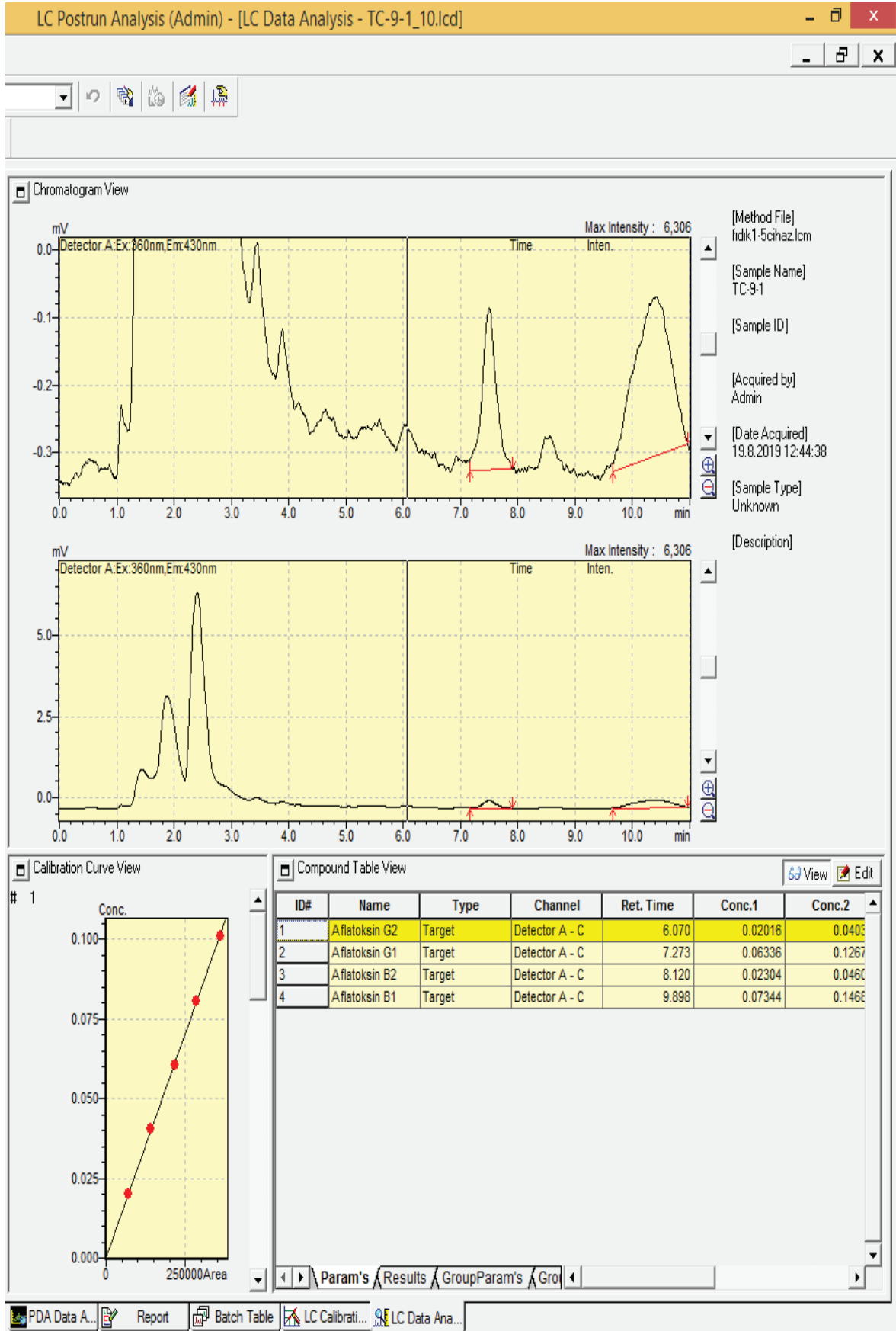
Ek Şekil 7.22. TC-8-1 numunesi kromatogramı



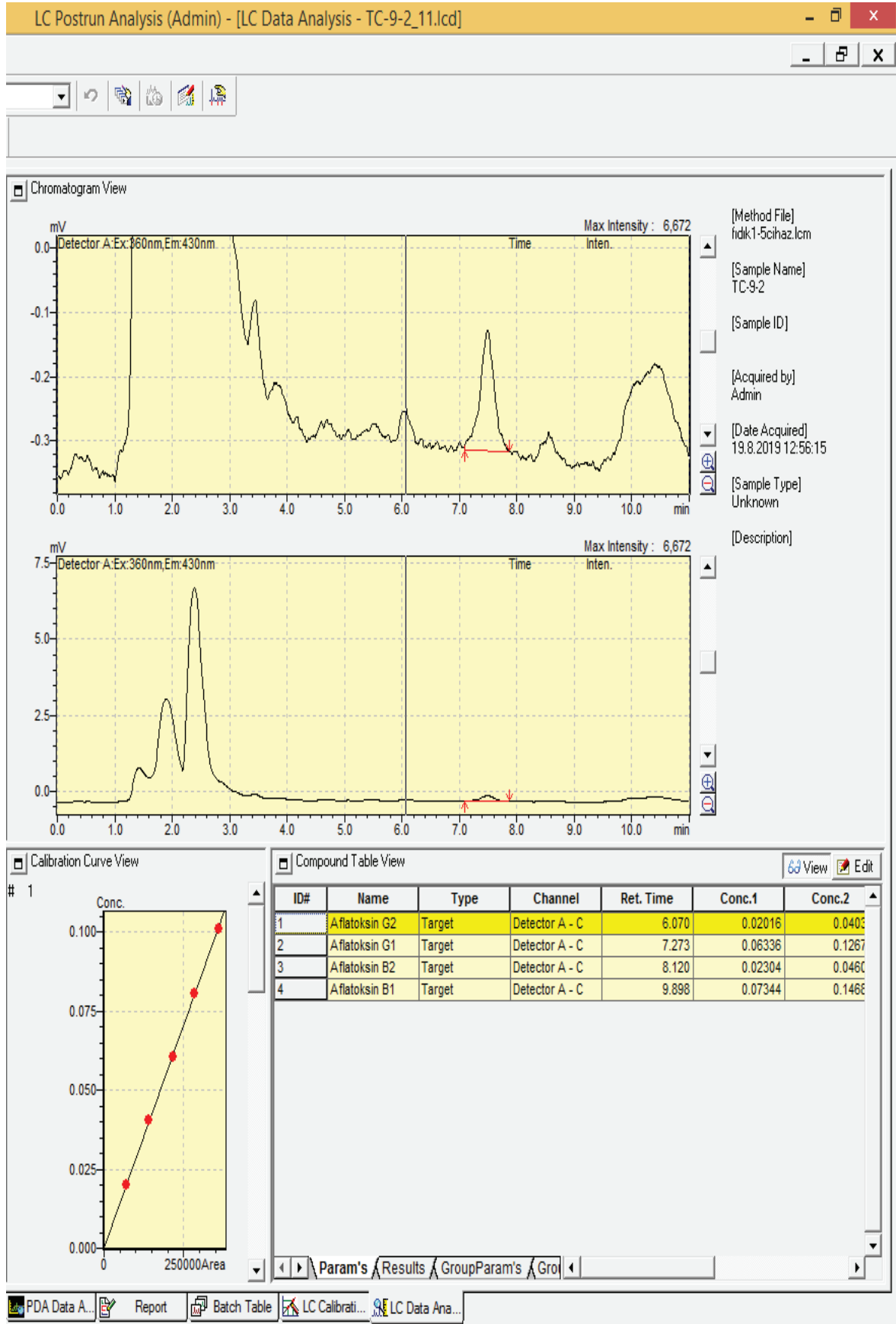
Ek Şekil 7.23. TC-8-2 numunesi kromatogramı



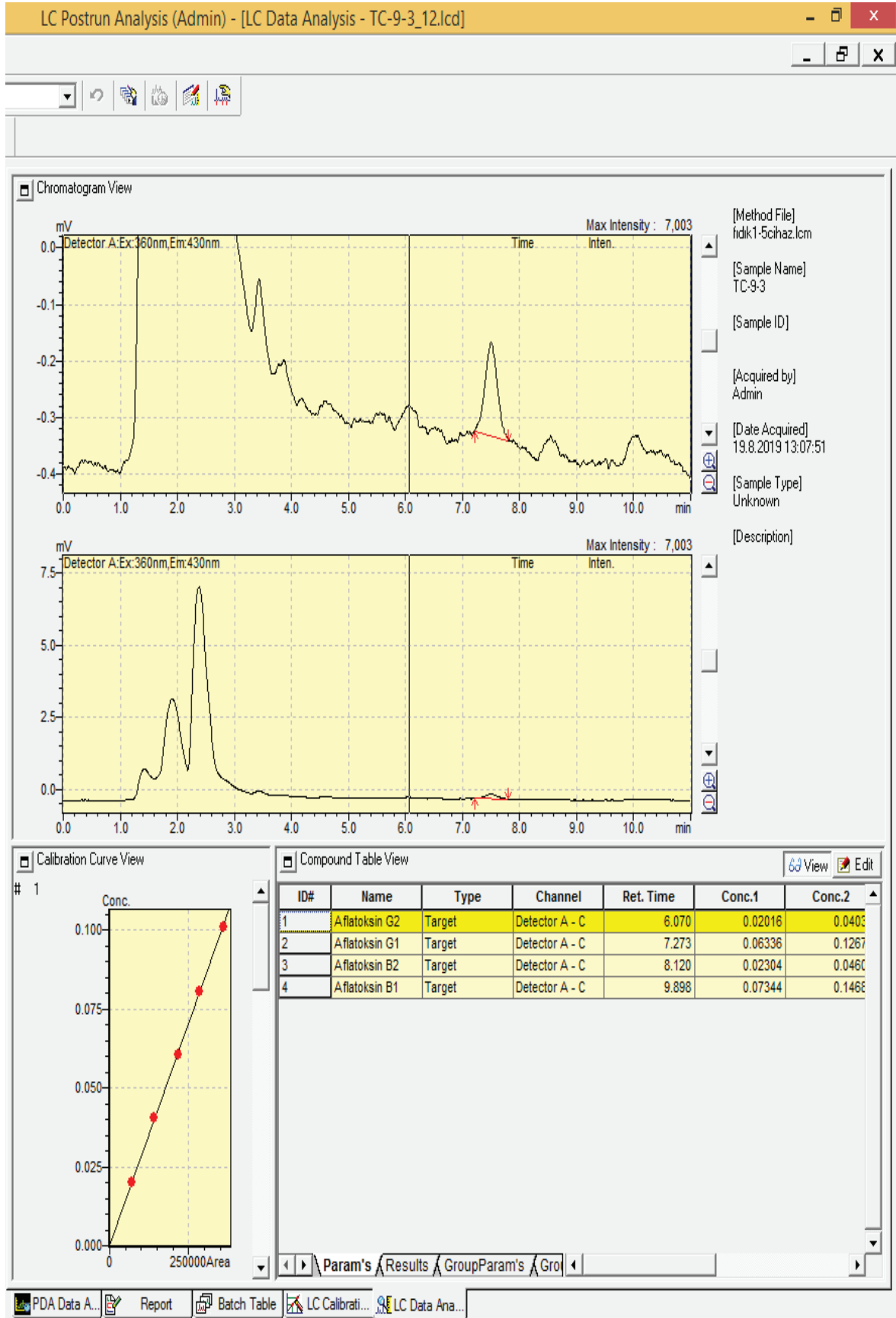
Ek Şekil 7.24. TC-8-3 numunesi kromatogramı



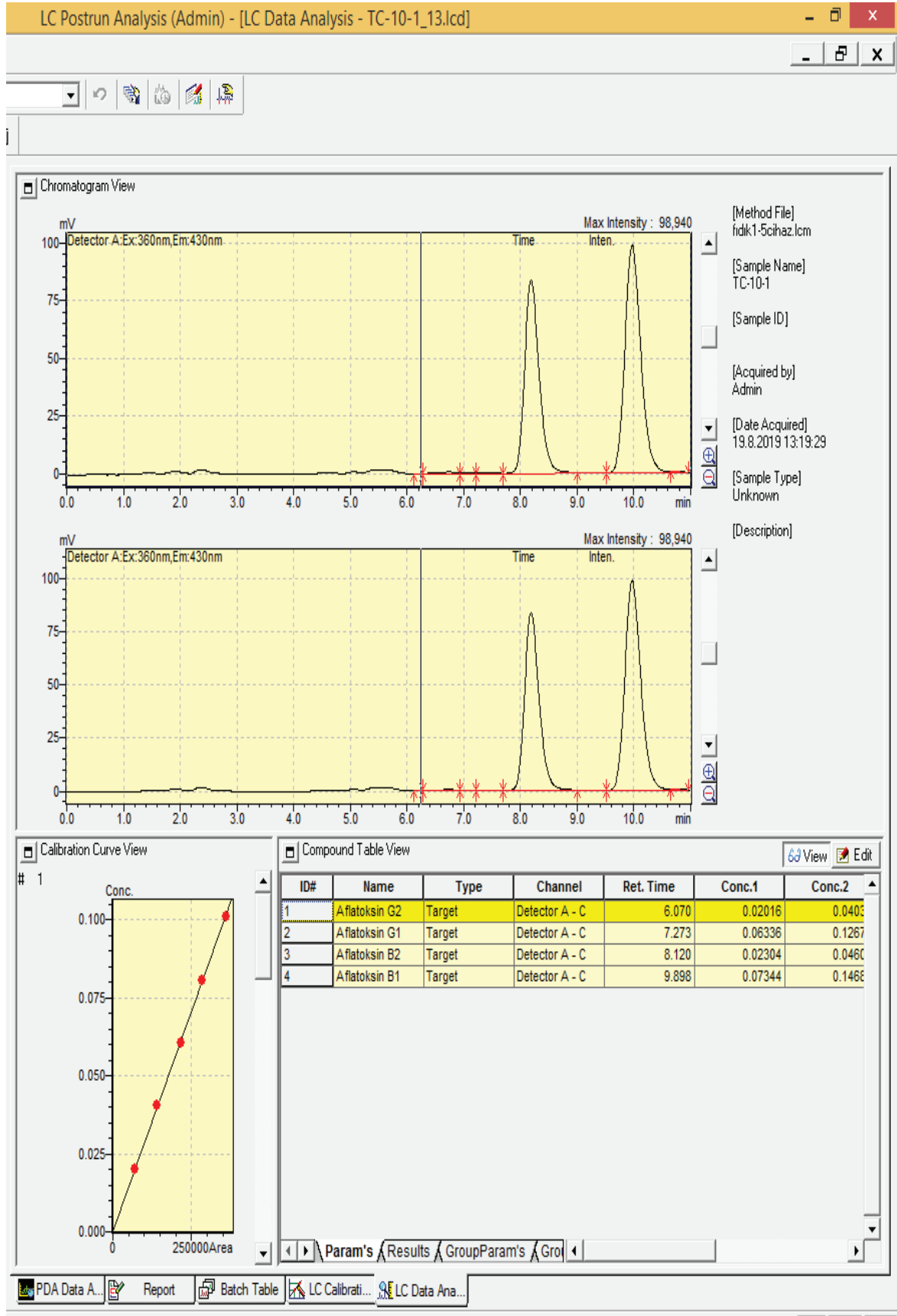
Ek Şekil 7.25. TC-9-1 numunesi kromatogramı



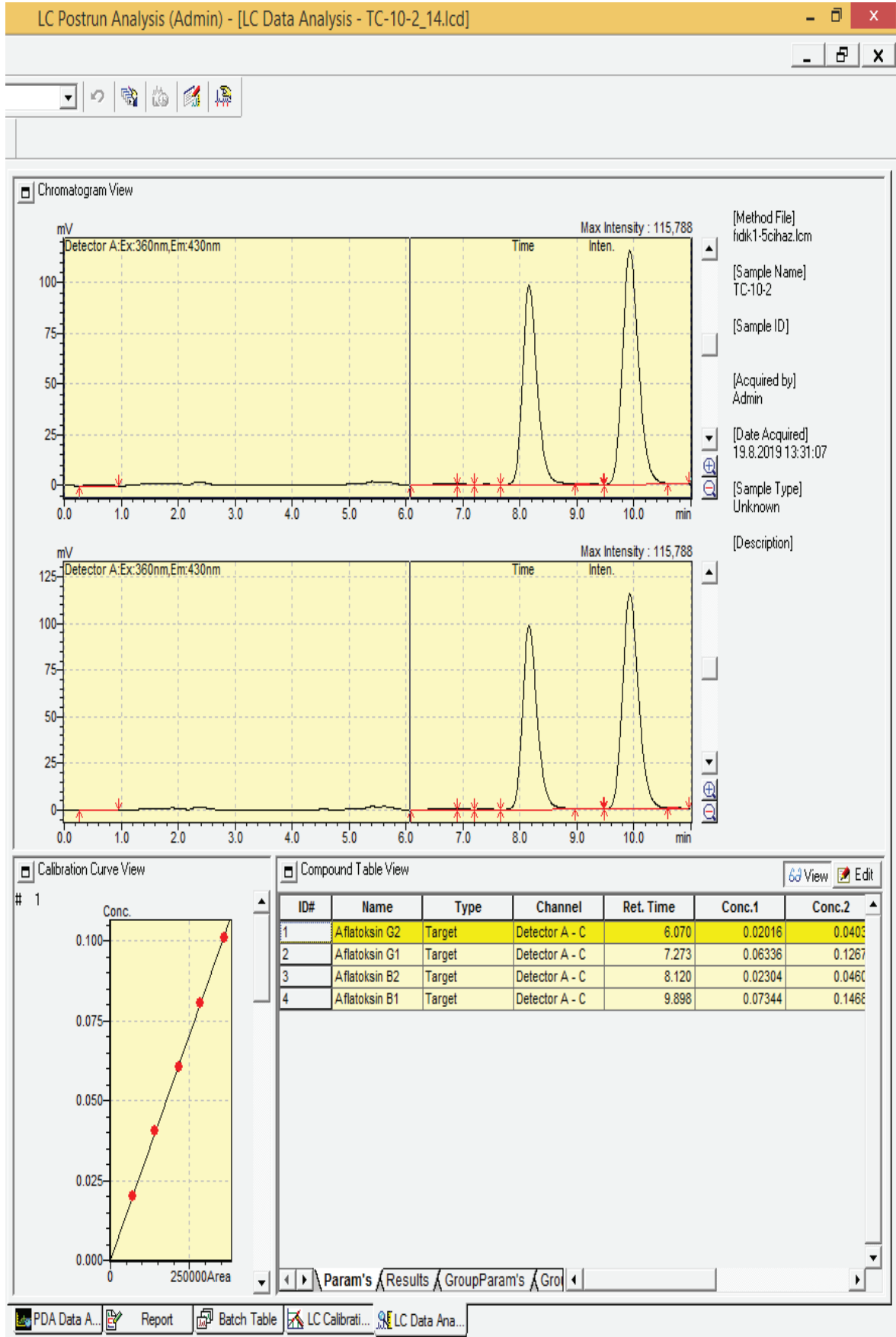
Ek Şekil 7.26. TC-9-2 numunesi kromatogramı



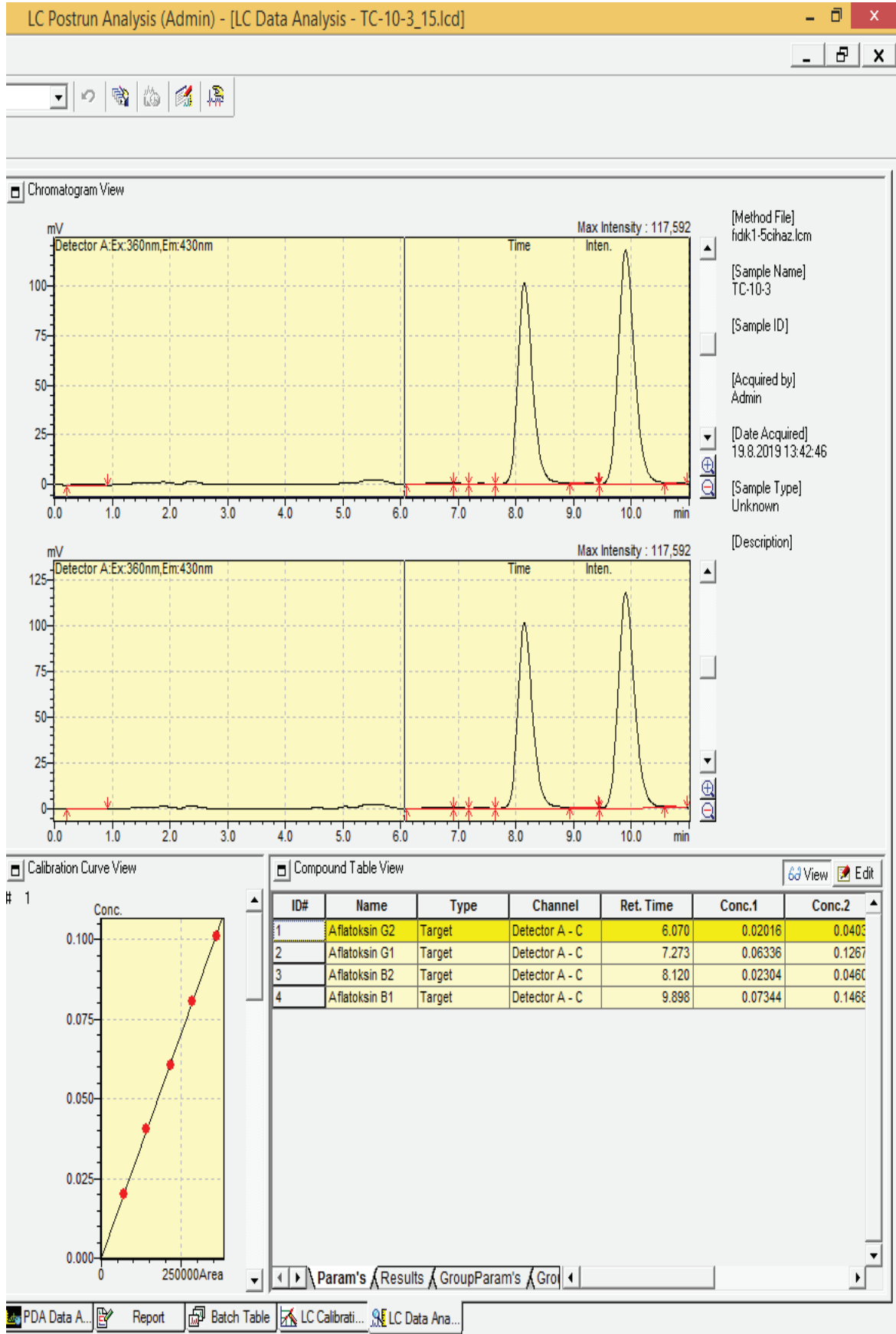
Ek Şekil 7.27. TC-9-3 numunesi kromatogramı



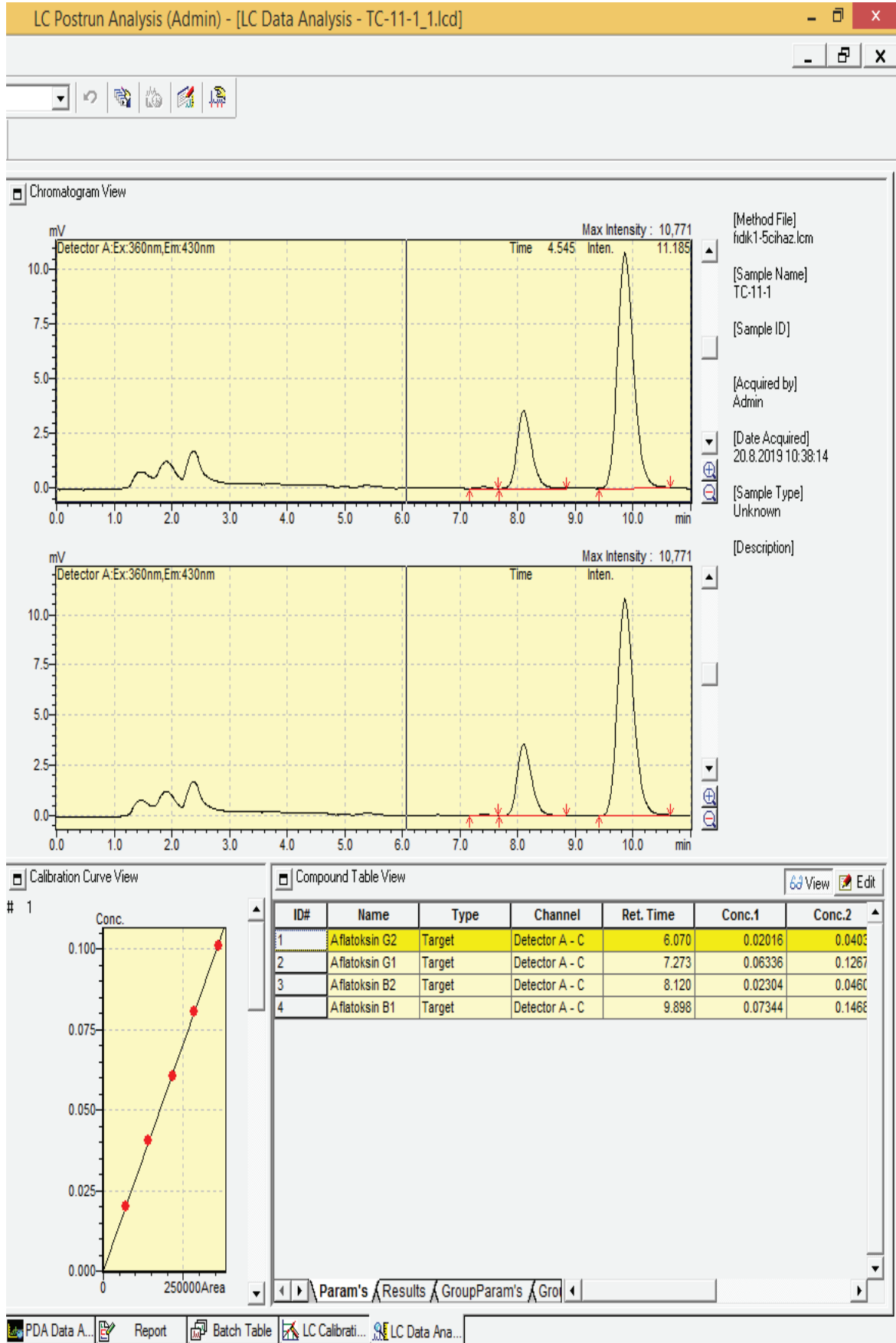
Ek Şekil 7.28. TC-10-1 numunesi kromatogramı



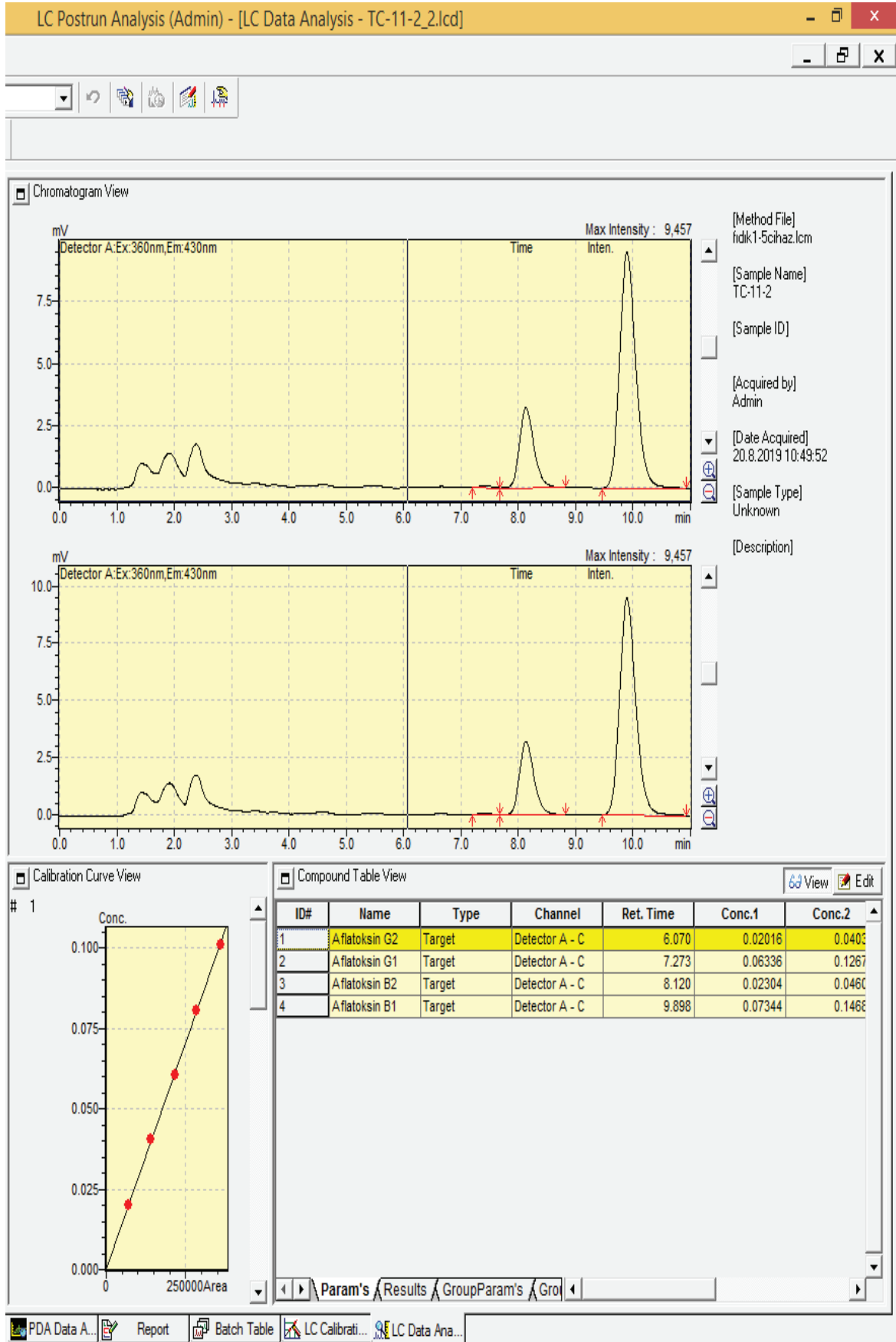
Ek Şekil 7.29. TC-10-2 numunesi kromatogramı



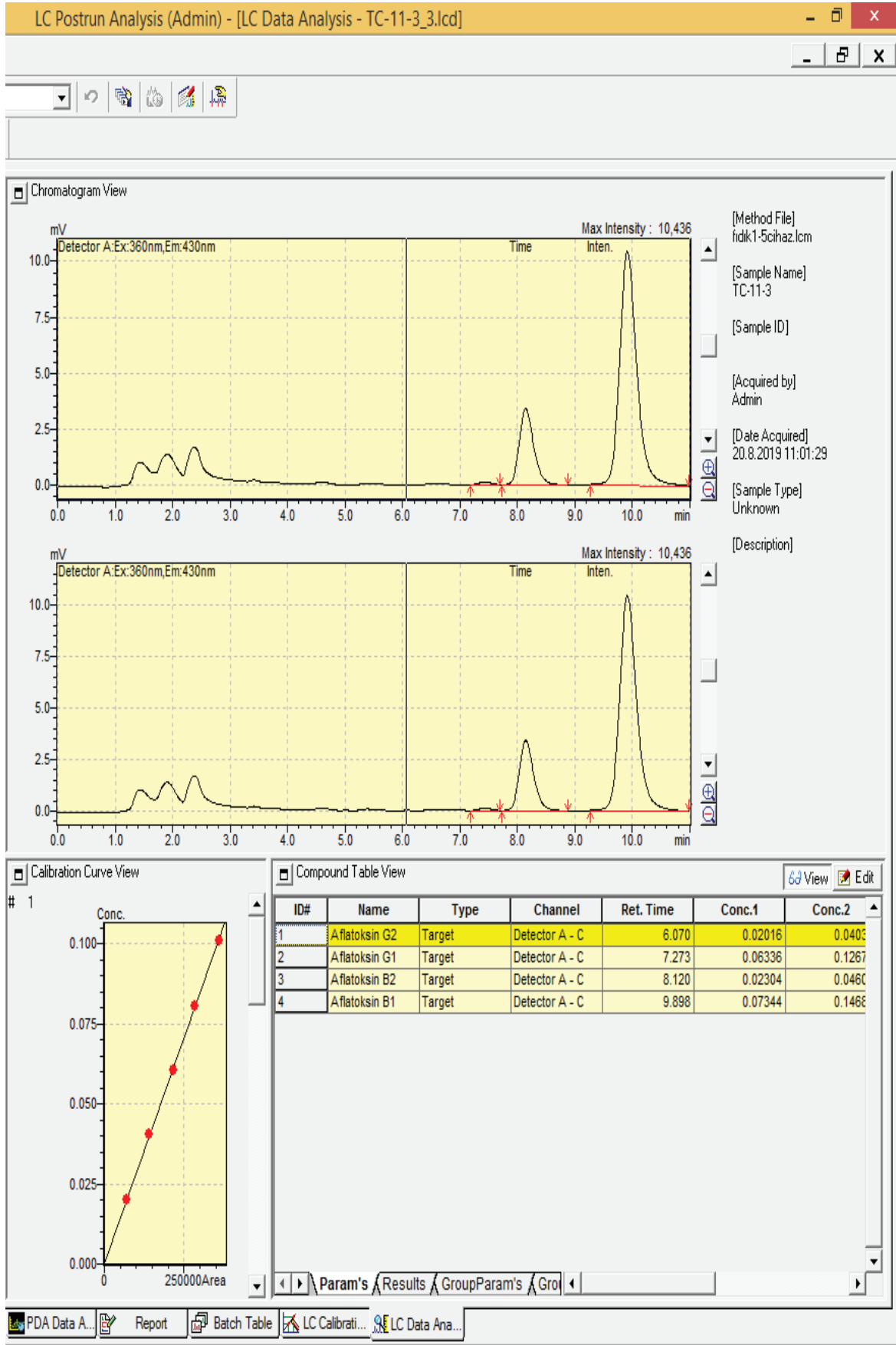
Ek Şekil 7.30. TC-10-3 numunesi kromatogramı



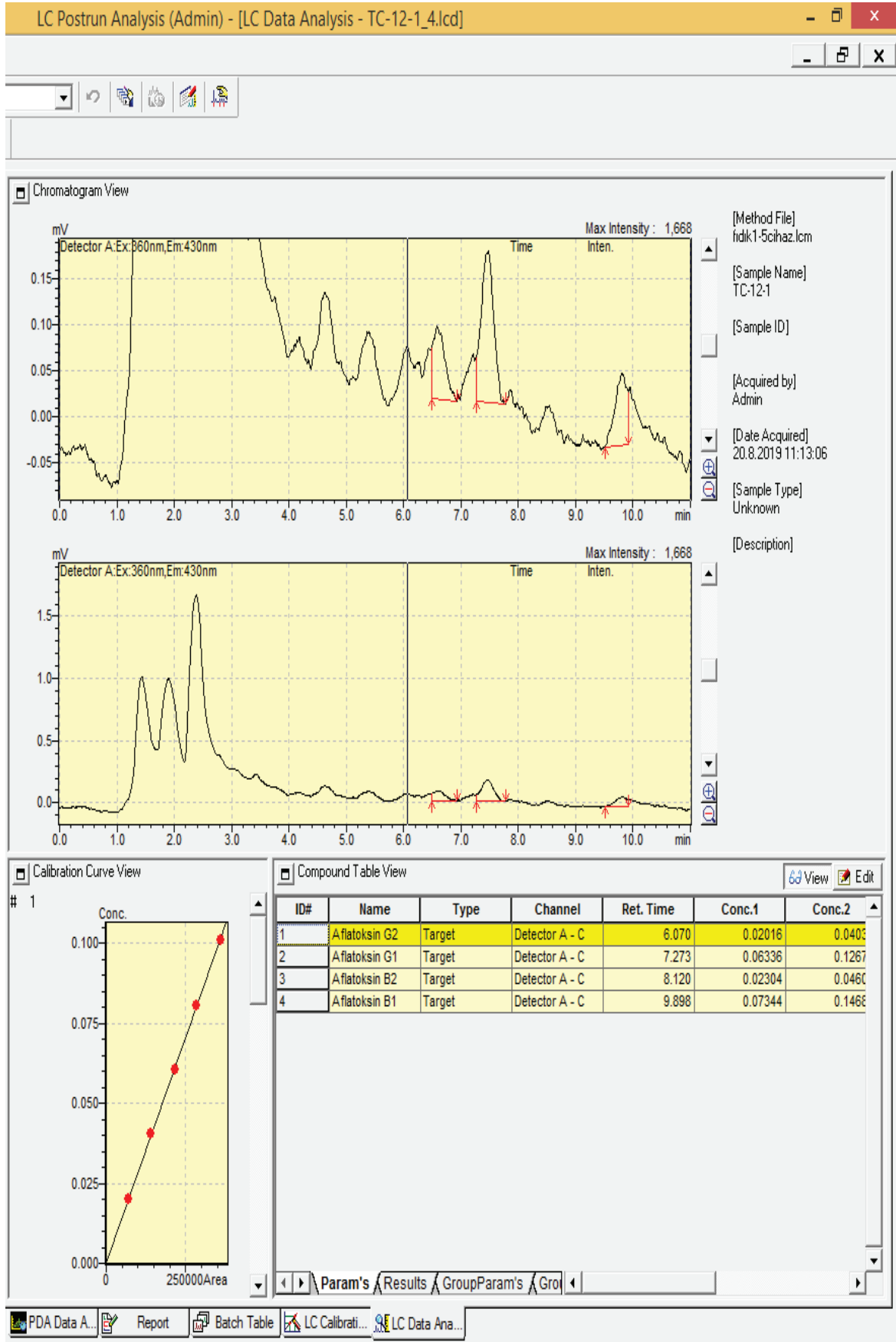
Ek Şekil 7.31. TC-11-1 numunesi kromatogramı



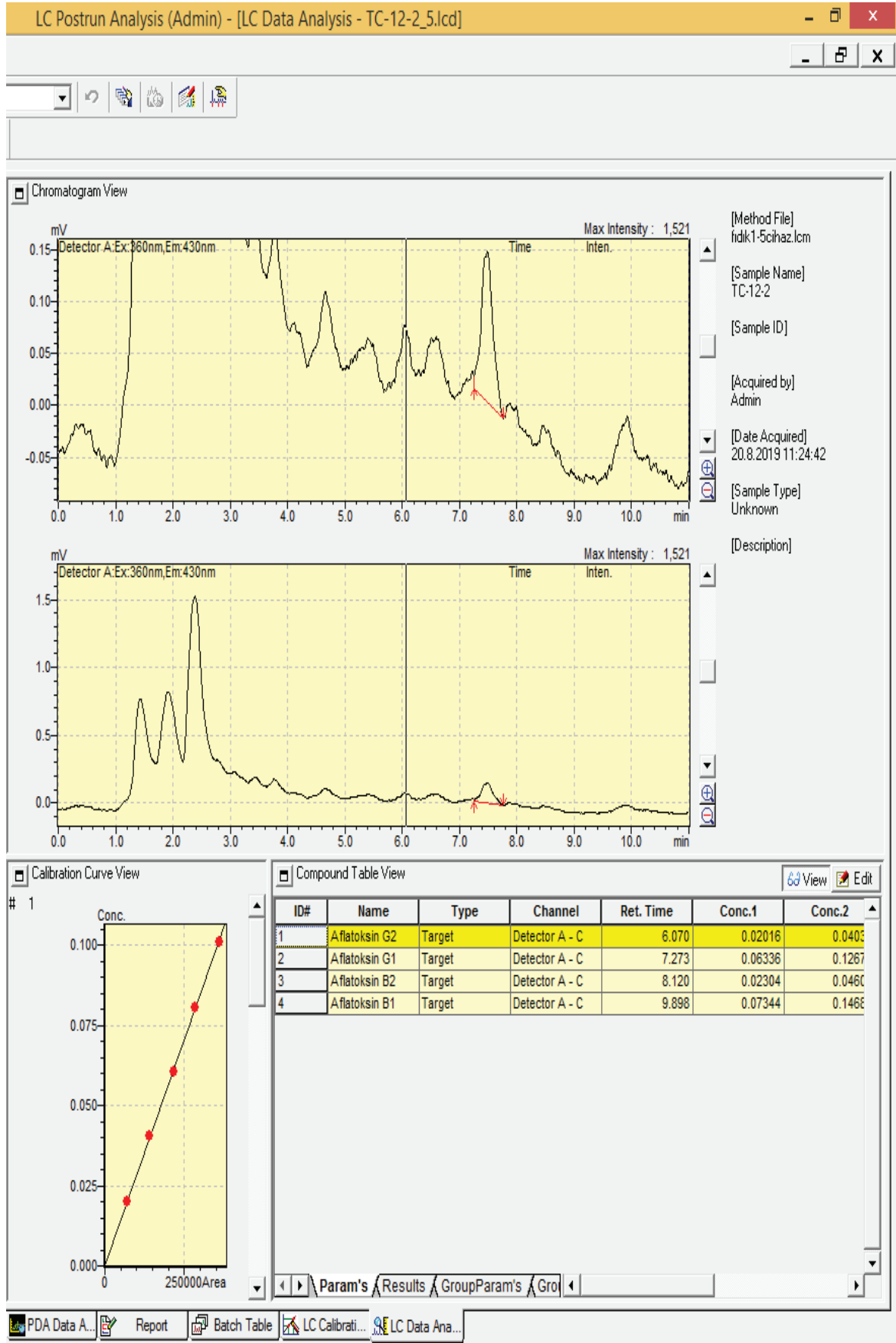
Ek Şekil 7.32. TC-11-2 numunesi kromatogramı



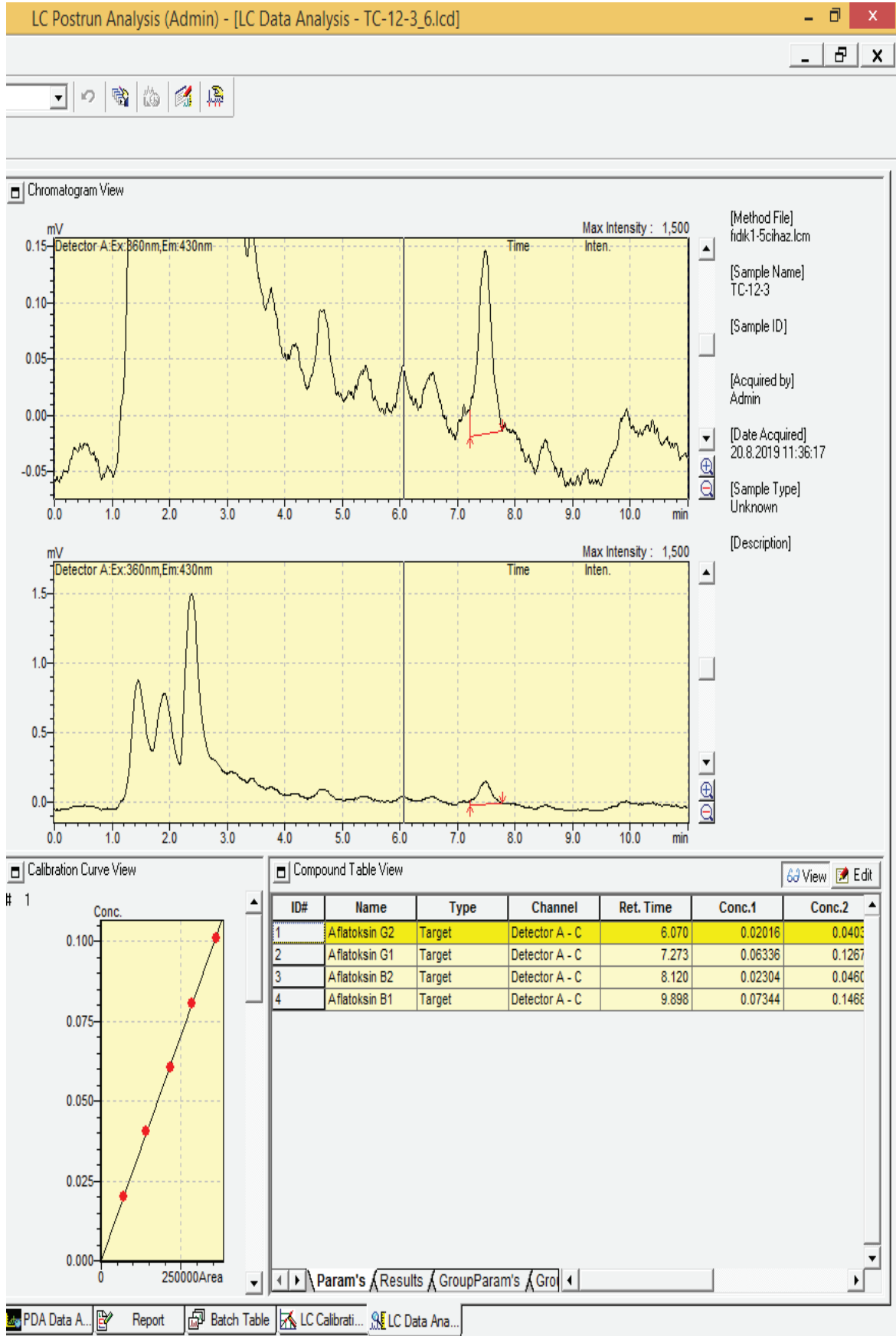
Ek Şekil 7.33. TC-11-3 numunesi kromatogramı



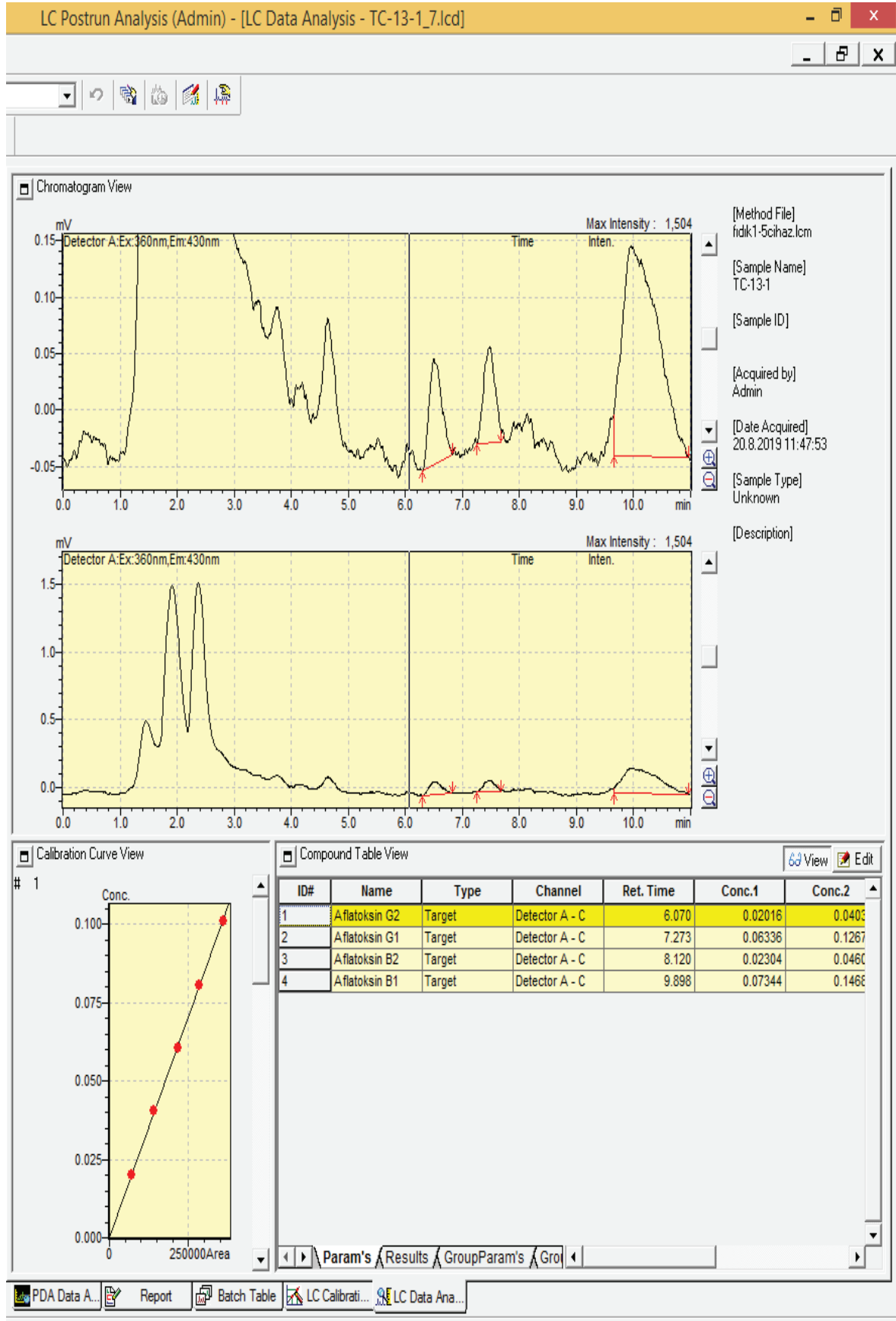
Ek Şekil 7.34. TC-12-1 numunesi kromatogramı



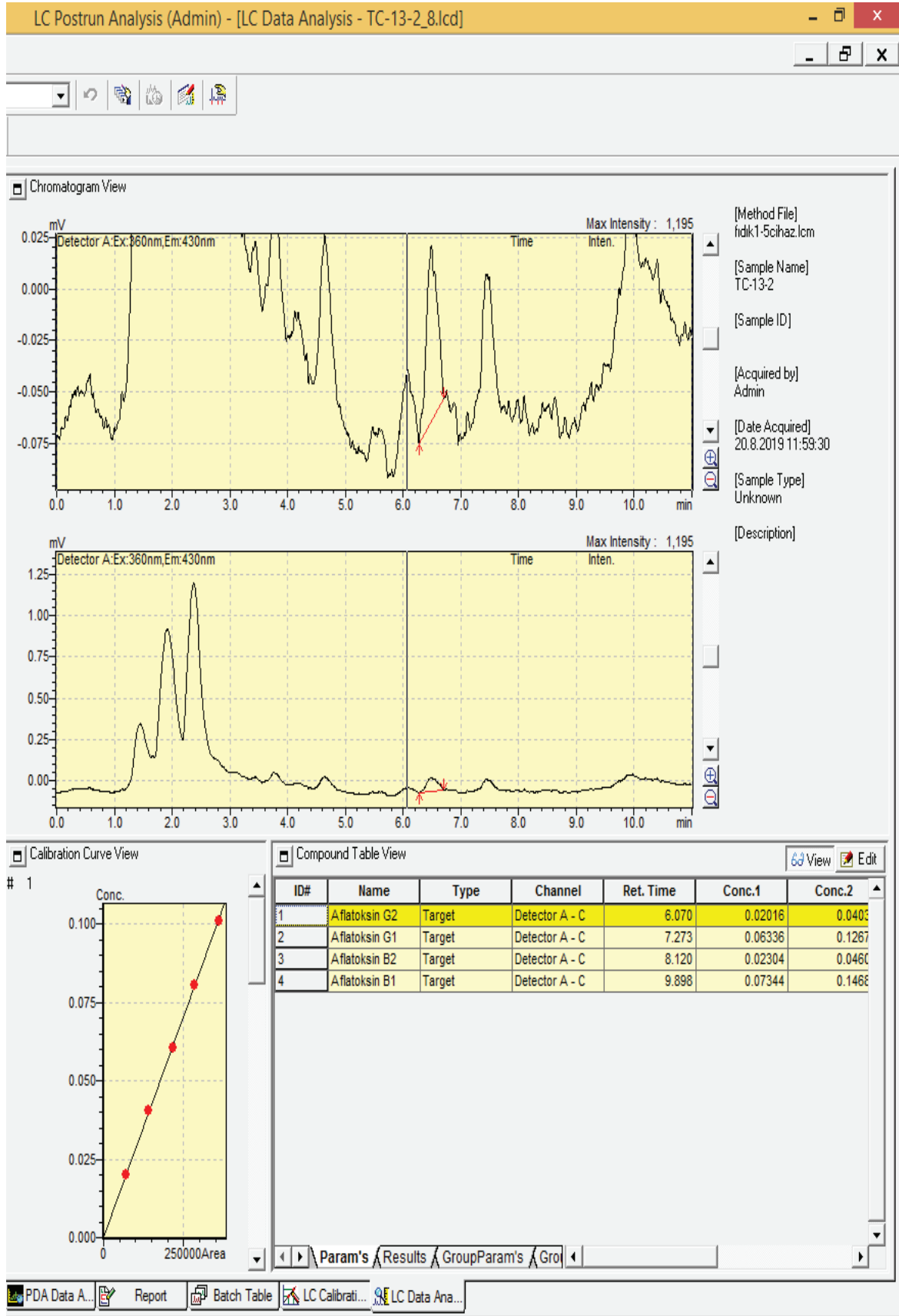
Ek Şekil 7.35. TC-12-2 numunesi kromatogramı



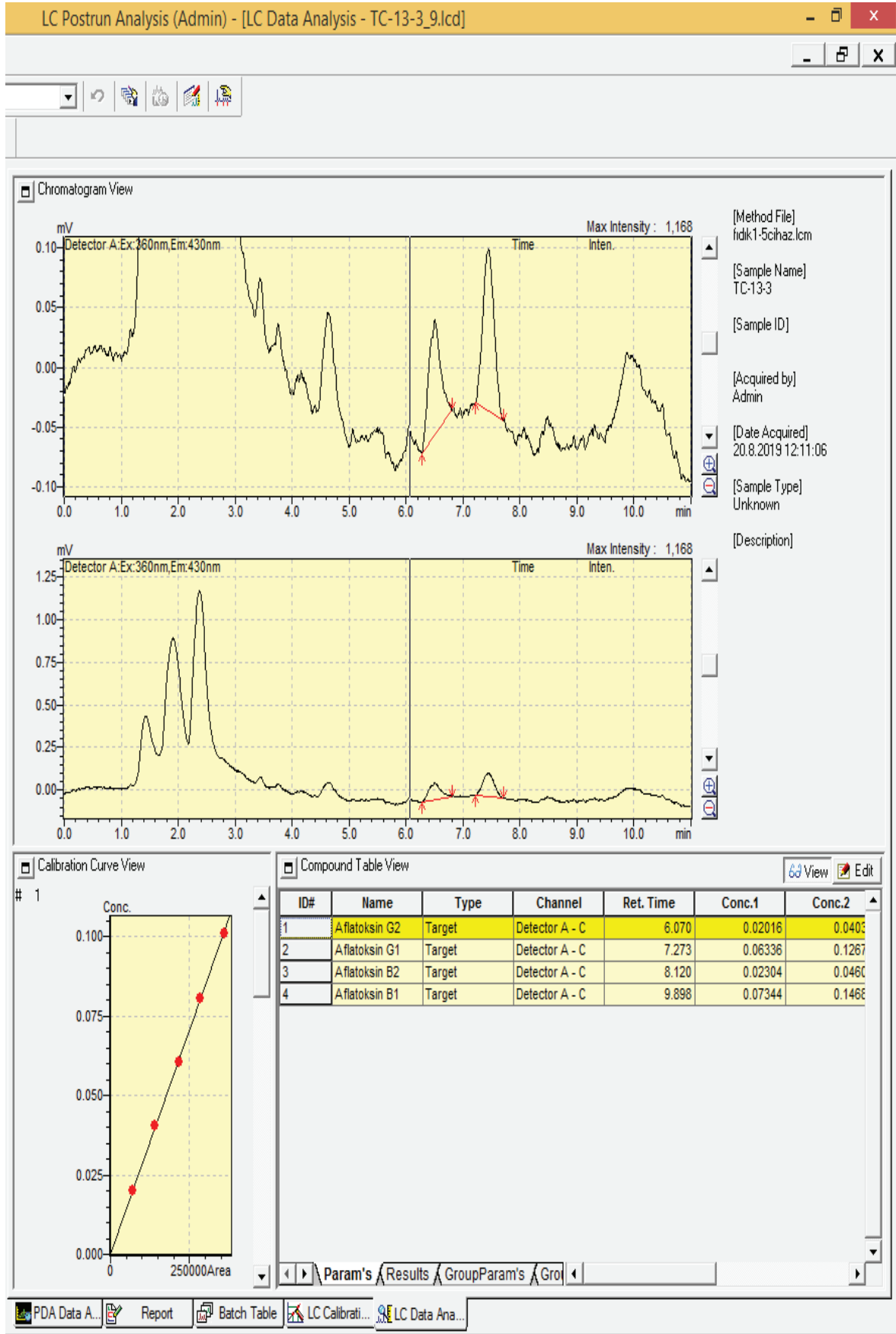
Ek Şekil 7.36. TC-12-3 numunesi kromatogramı



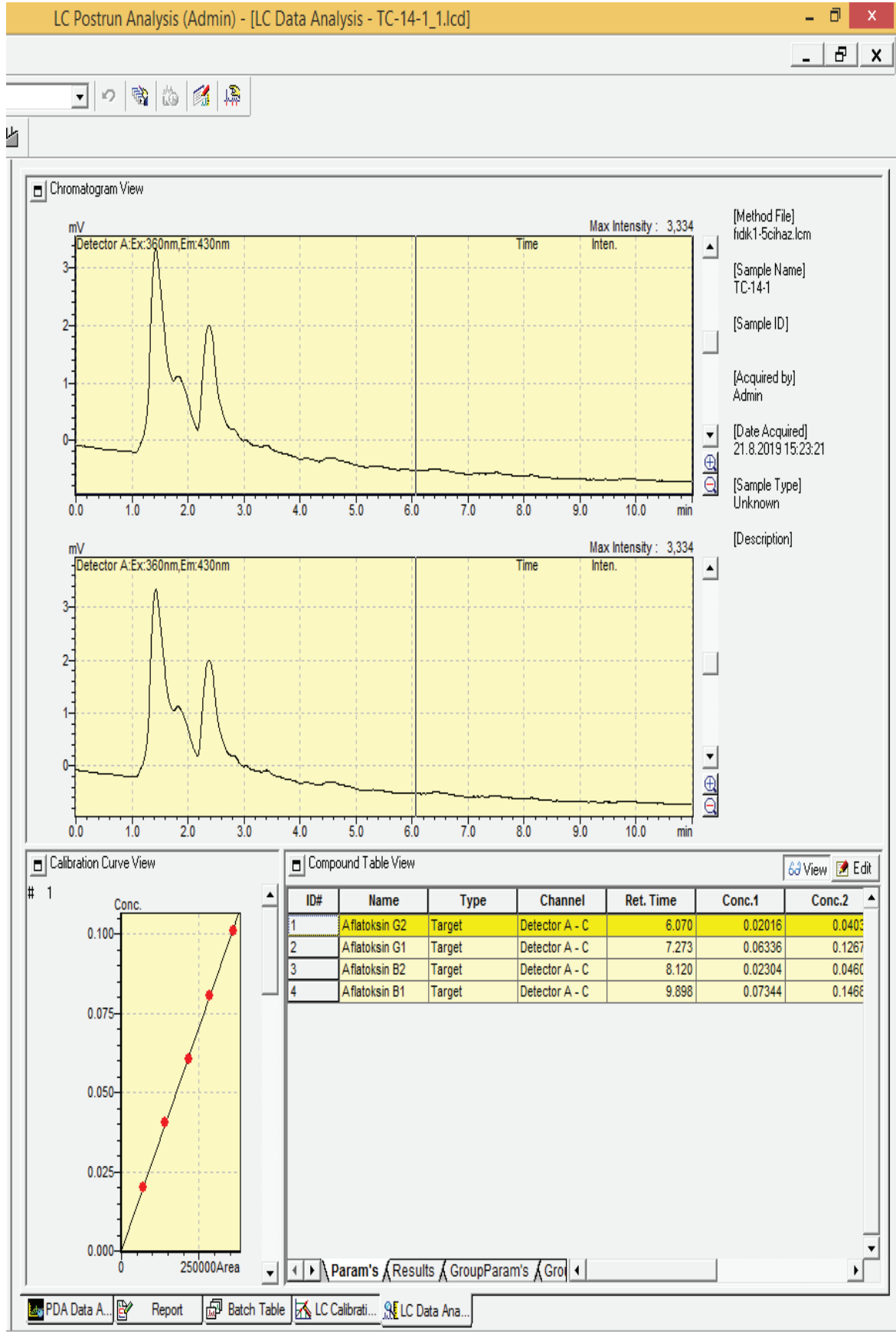
Ek Şekil 7.37. TC-13-1 numunesi kromatogramı



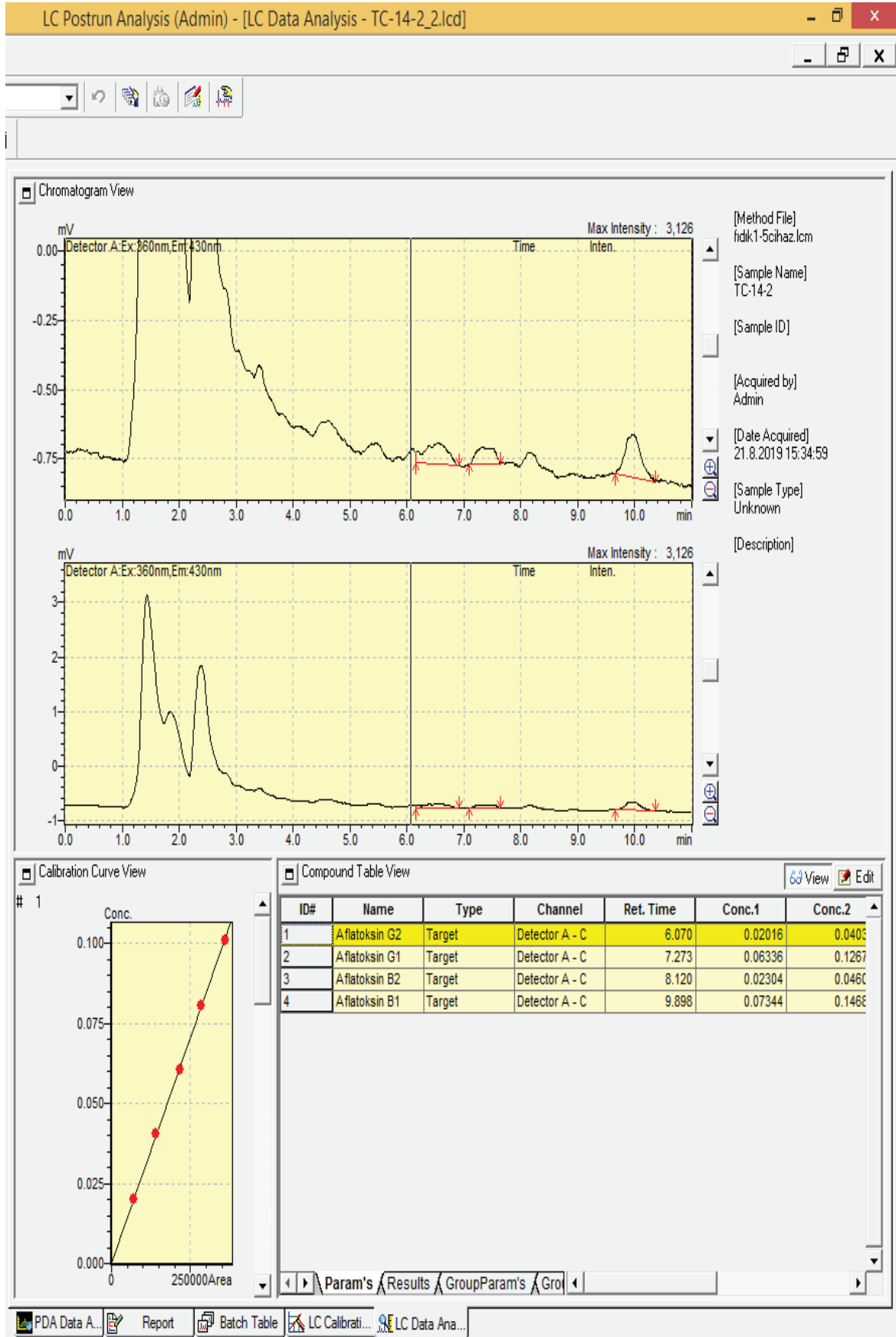
Ek Şekil 7.38. TC-13-2 numunesi kromatogramı



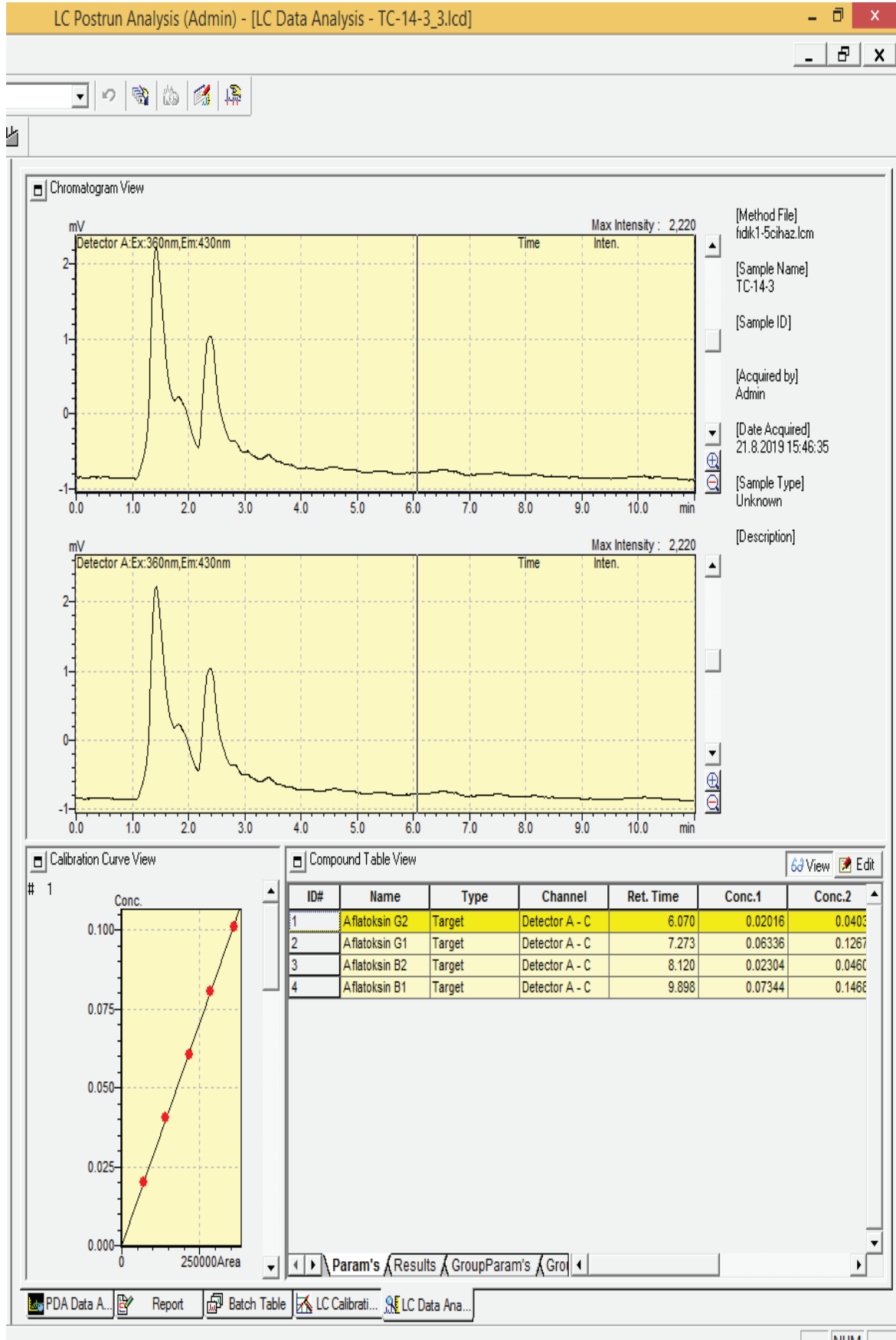
Ek Şekil 7.39. TC-13-3 numunesi kromatogramı



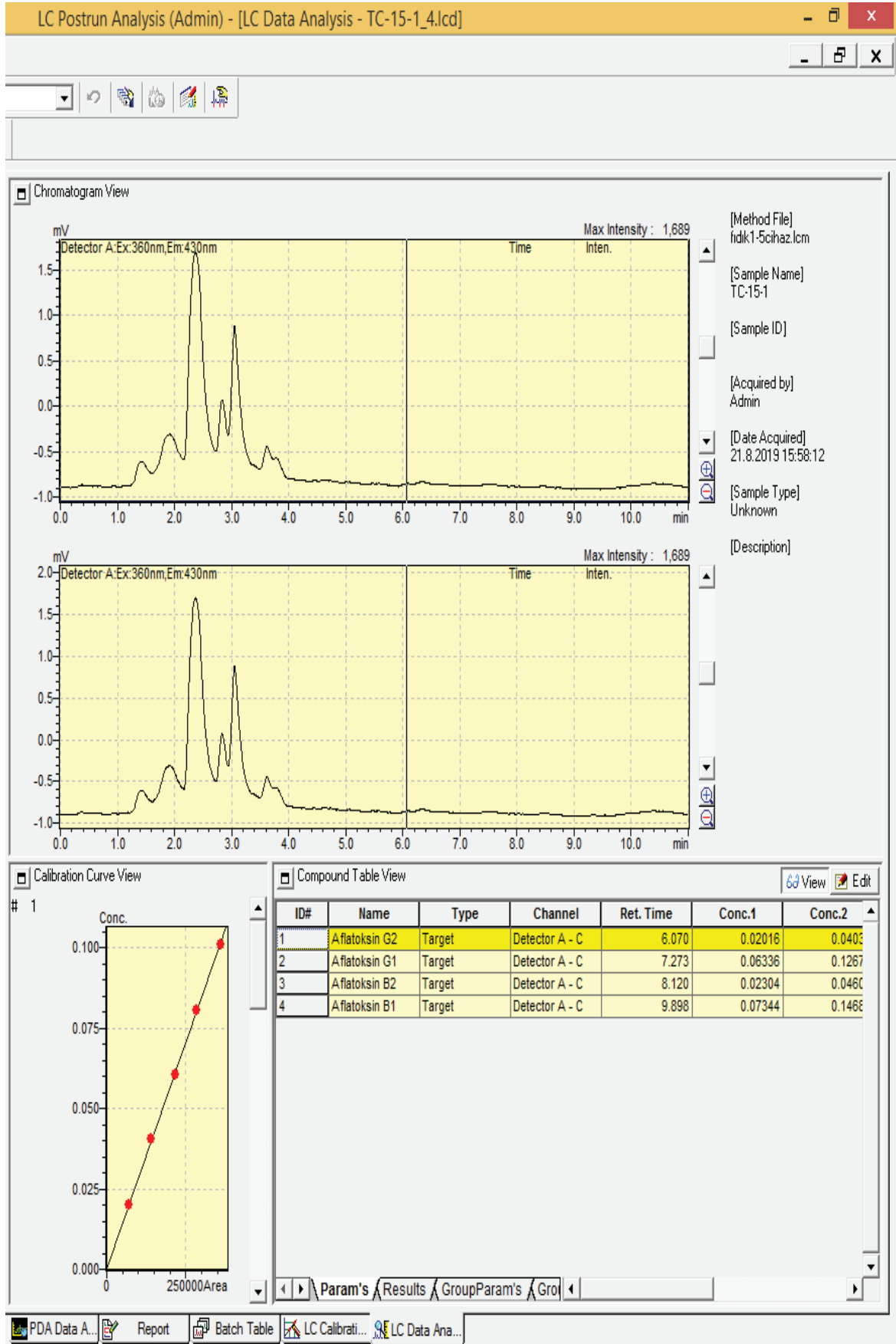
Ek Şekil 7.40. TC-14-1 numunesi kromatogramı



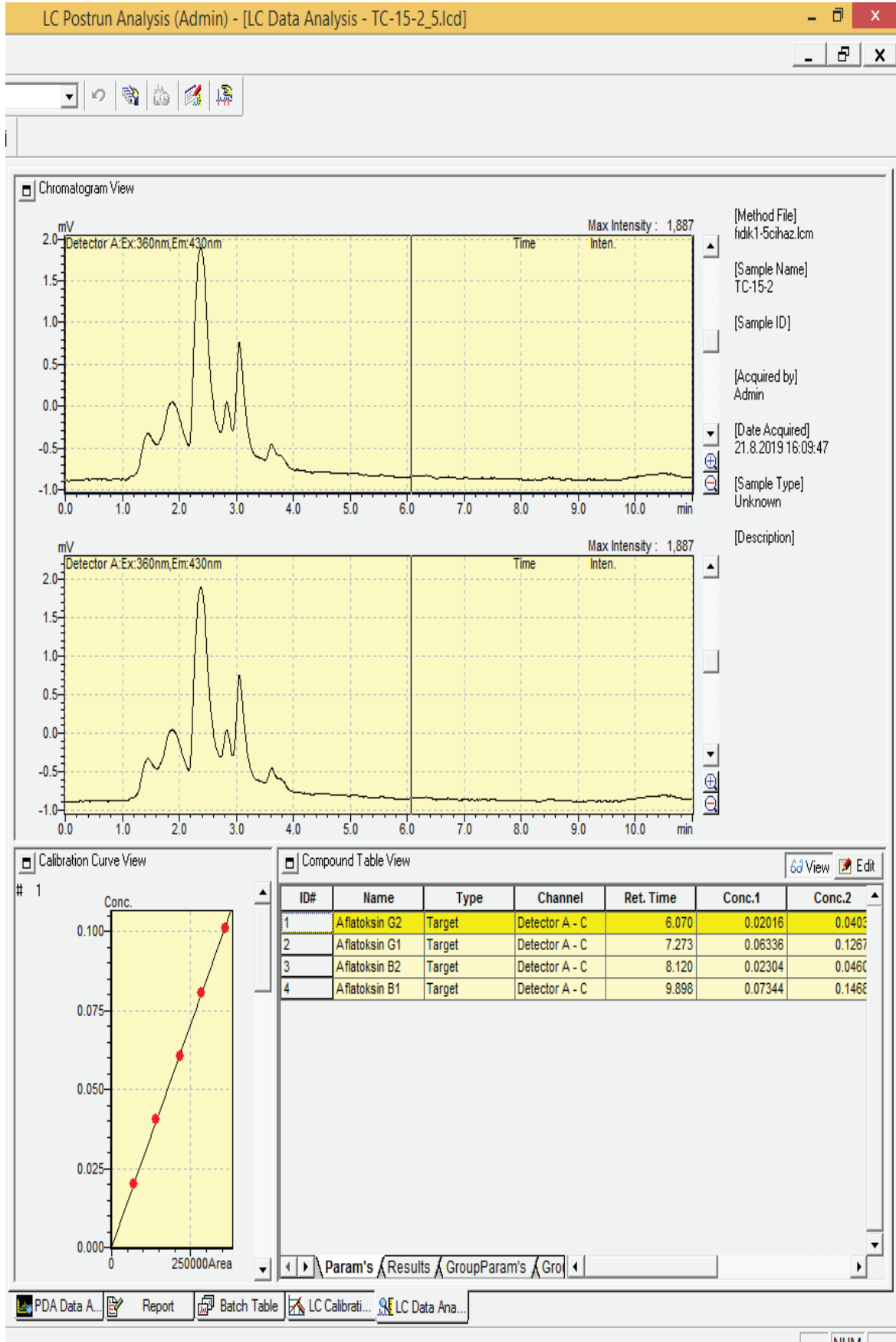
Ek Şekil 7.41. TC-14-2 numunesi kromatogramı



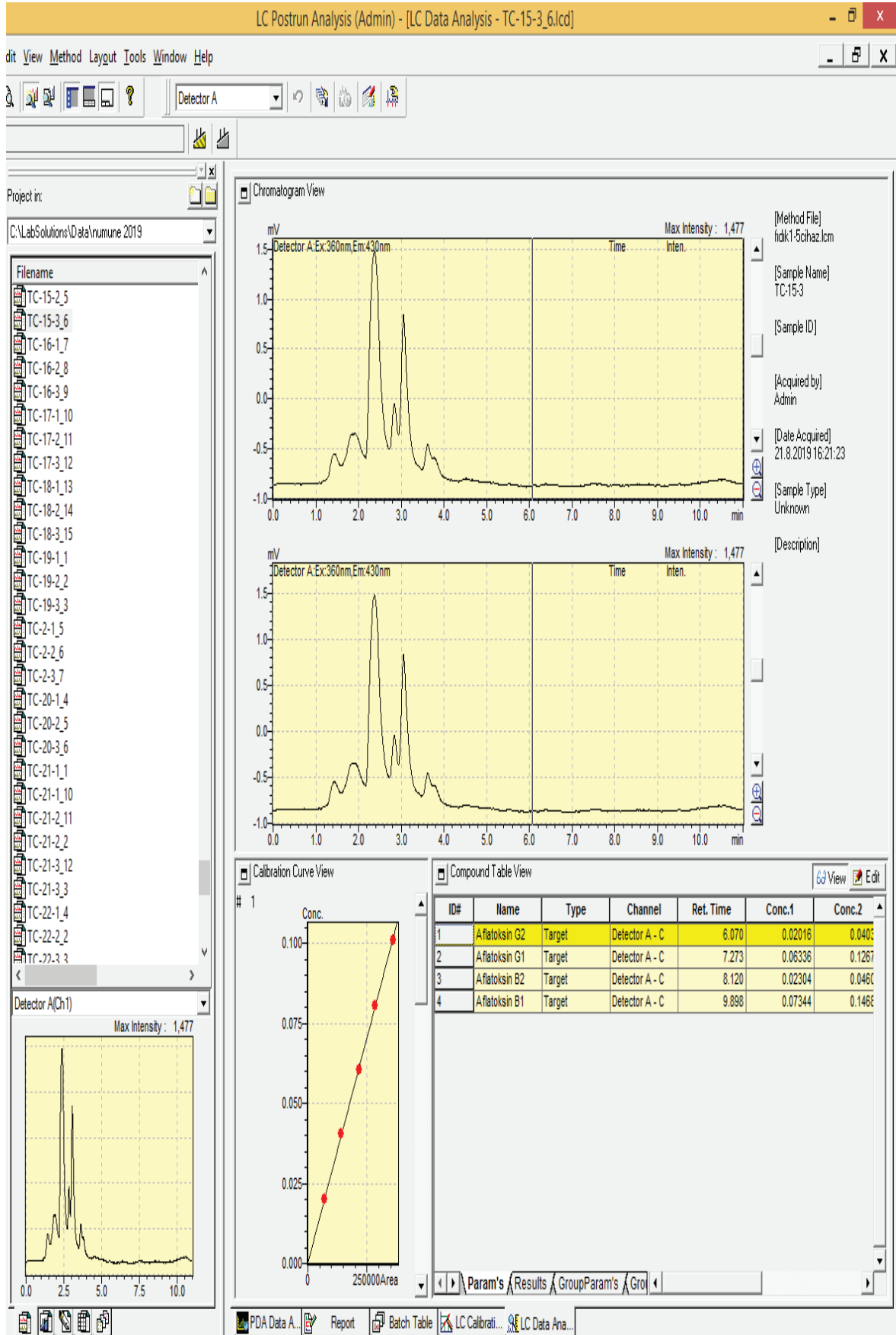
Ek Şekil 7.42. TC-14-3 numunesi kromatogramı



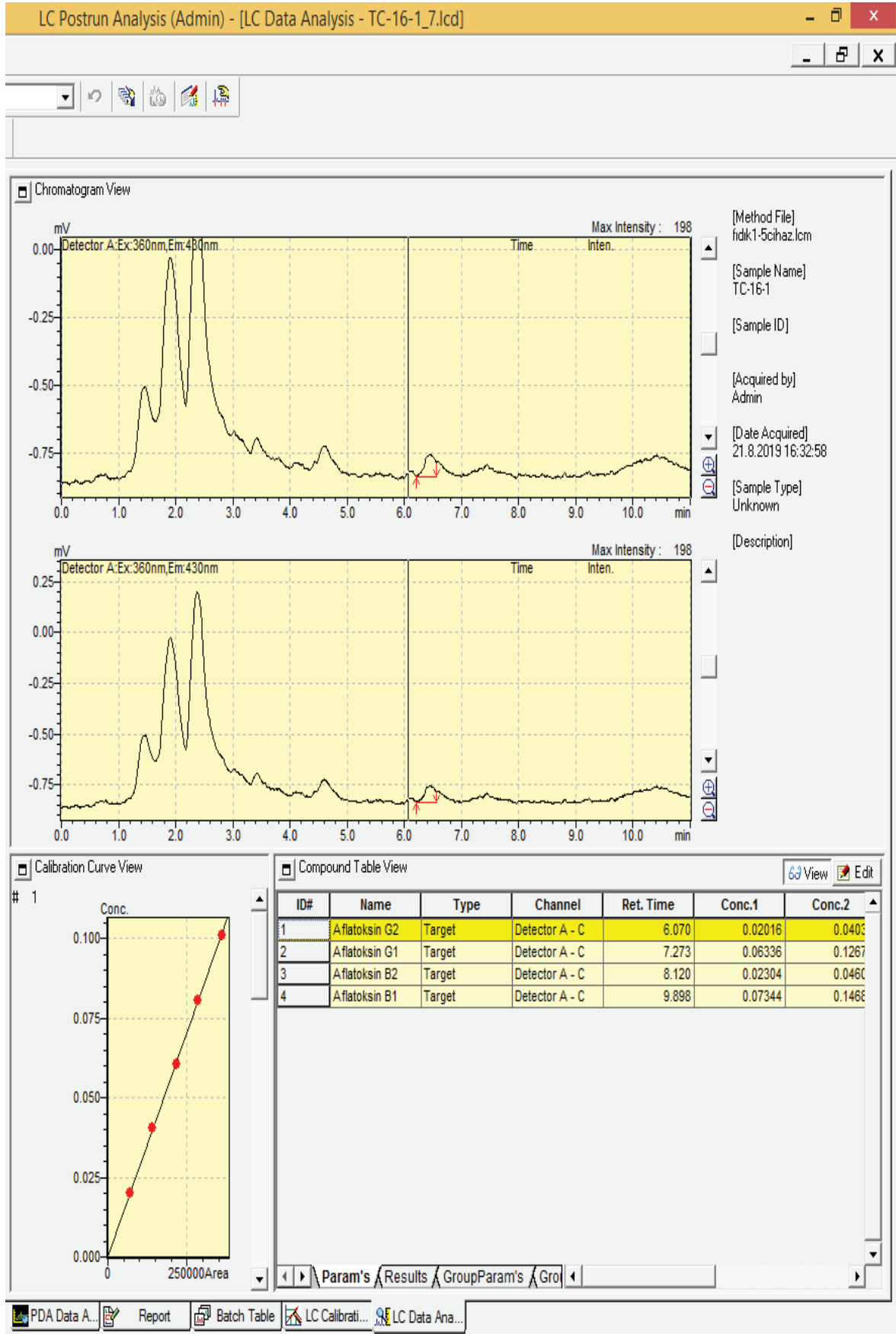
Ek Şekil 7.43. TC-15-1 numunesi kromatogramı



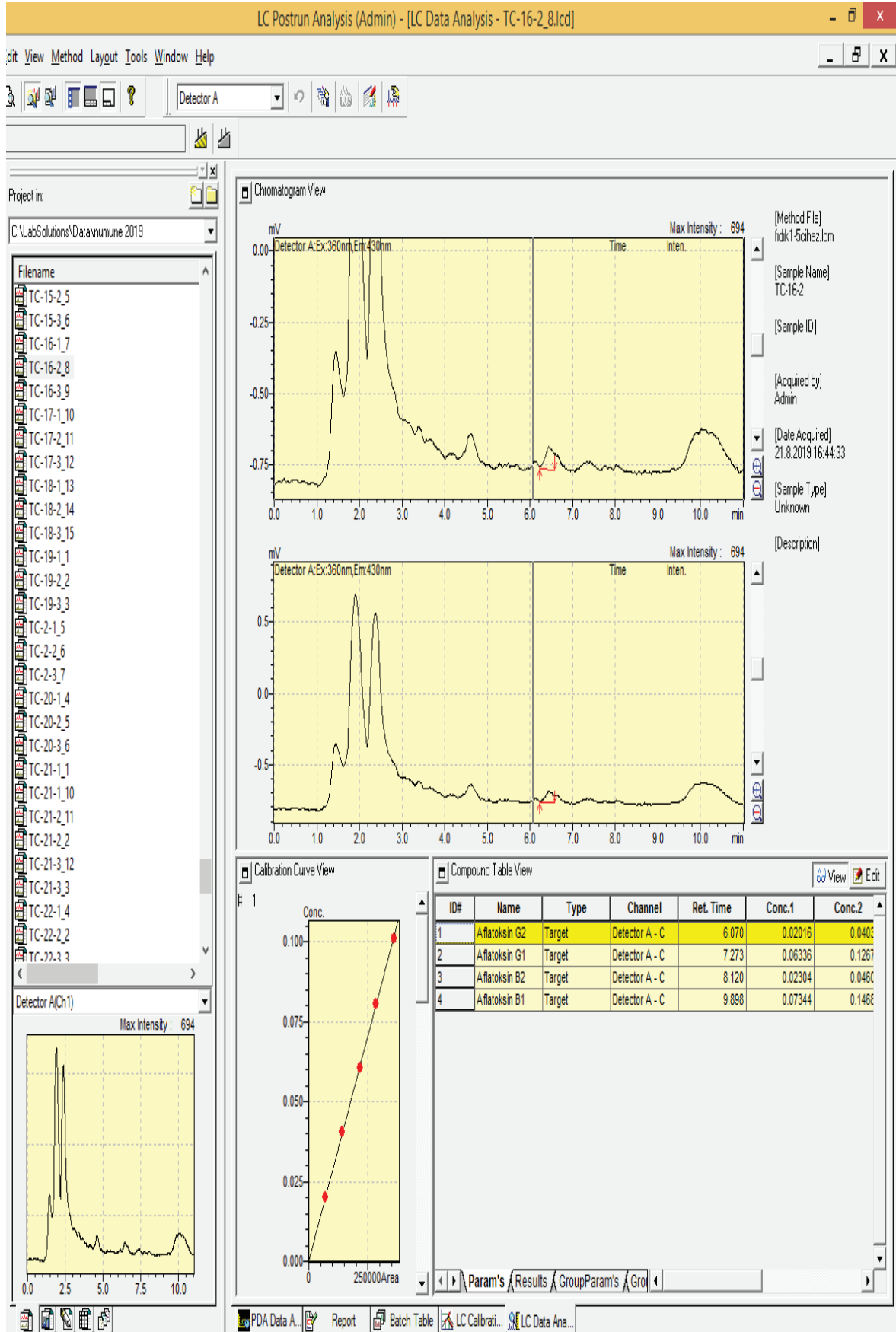
Ek Şekil 7.44. TC-15-2 numunesi kromatogramı



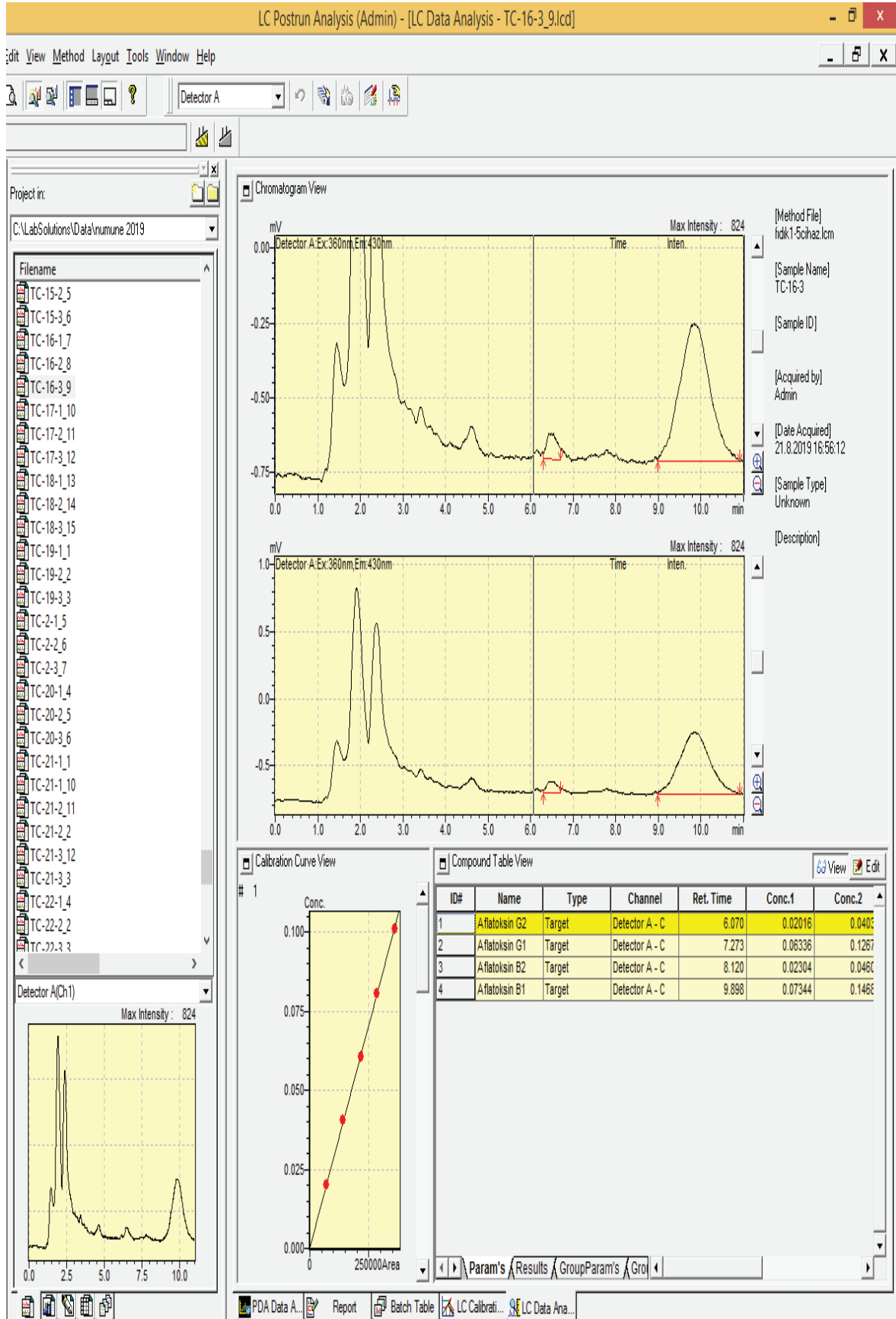
Ek Şekil 7.45. TC-15-3 numunesi kromatogramı



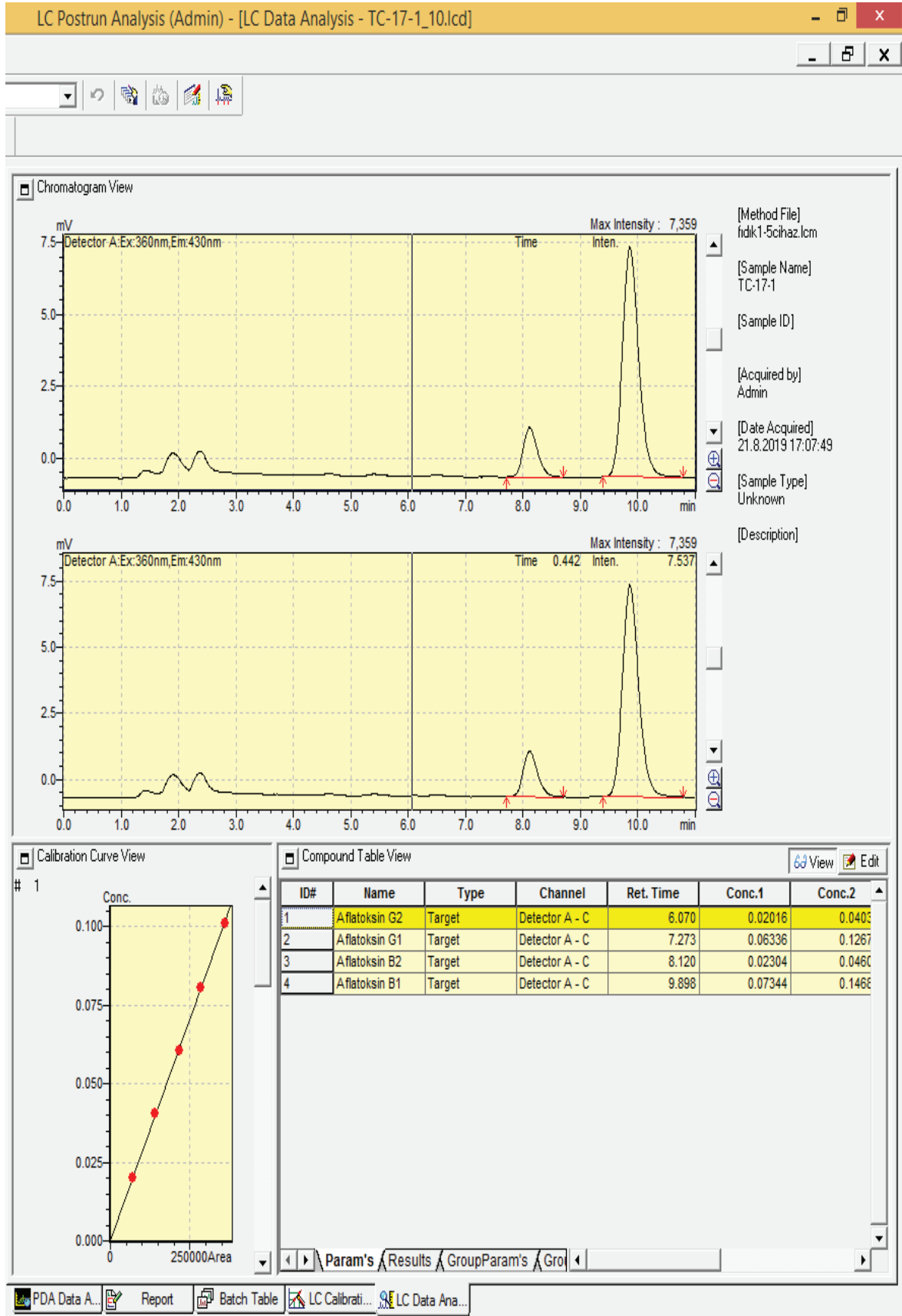
Ek Şekil 7.46. TC-16-1 numunesi kromatogramı



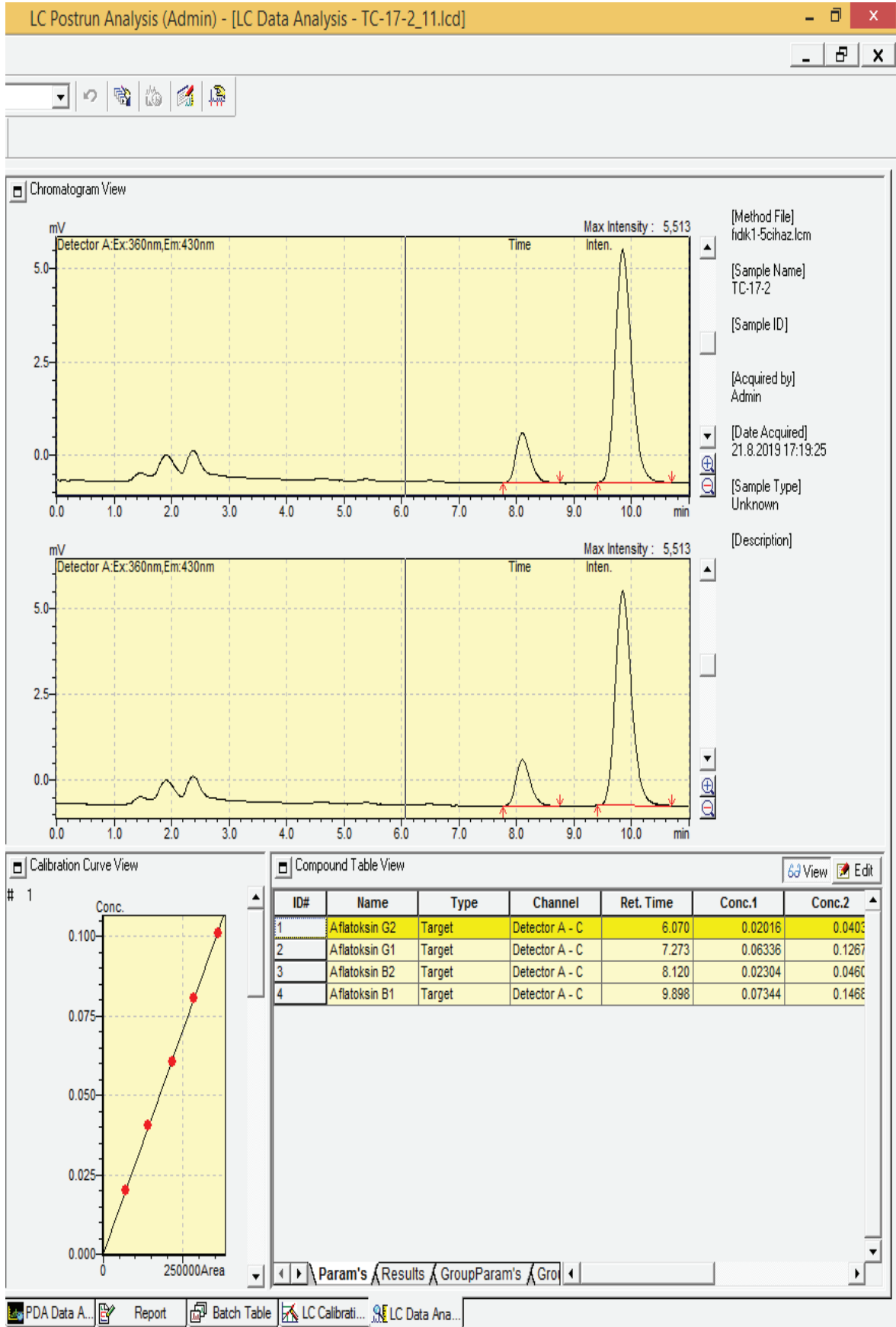
Ek Şekil 7.47. TC-16-2 numunesi kromatogramı



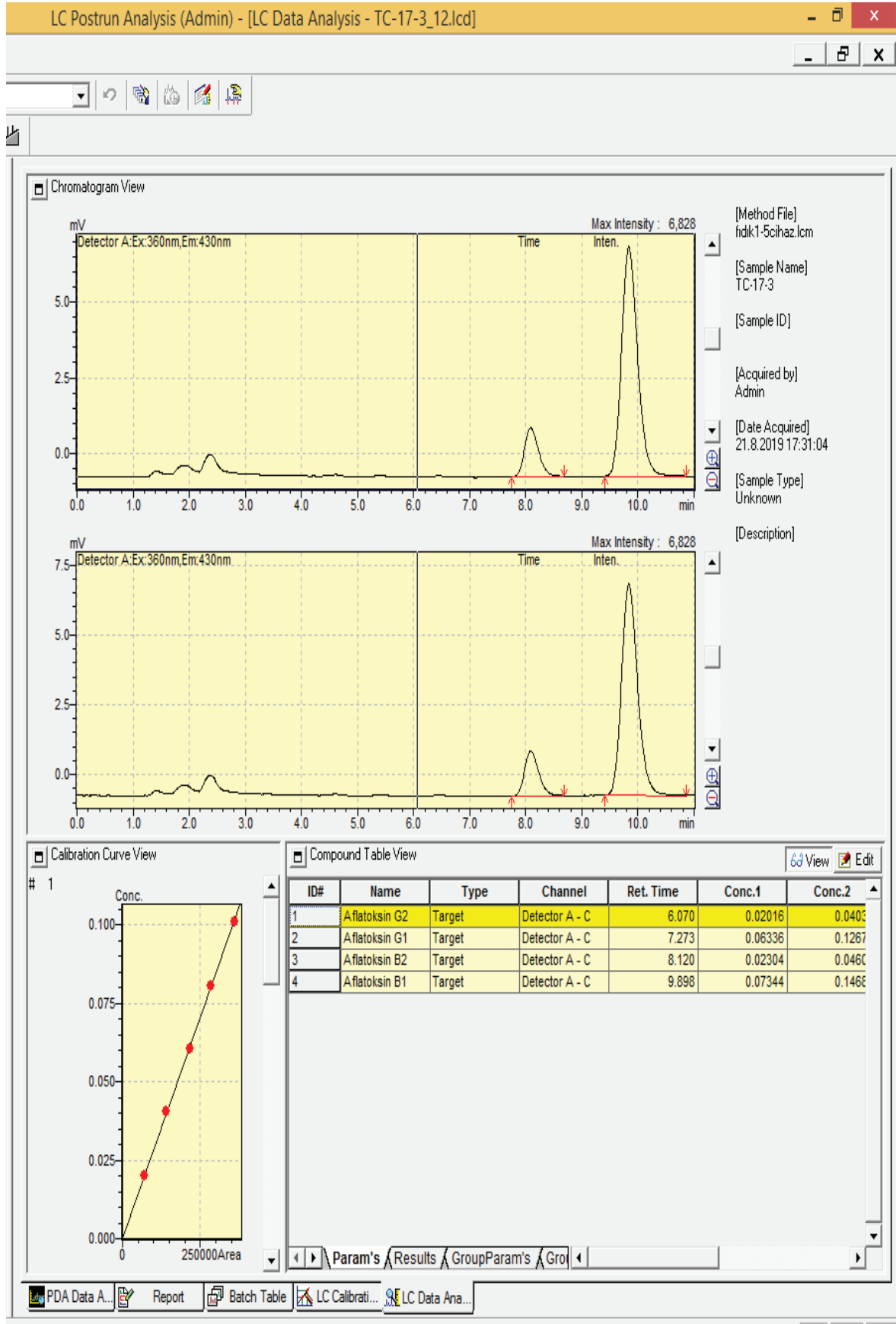
Ek Şekil 7.48. TC-16-3 numunesi kromatogramı



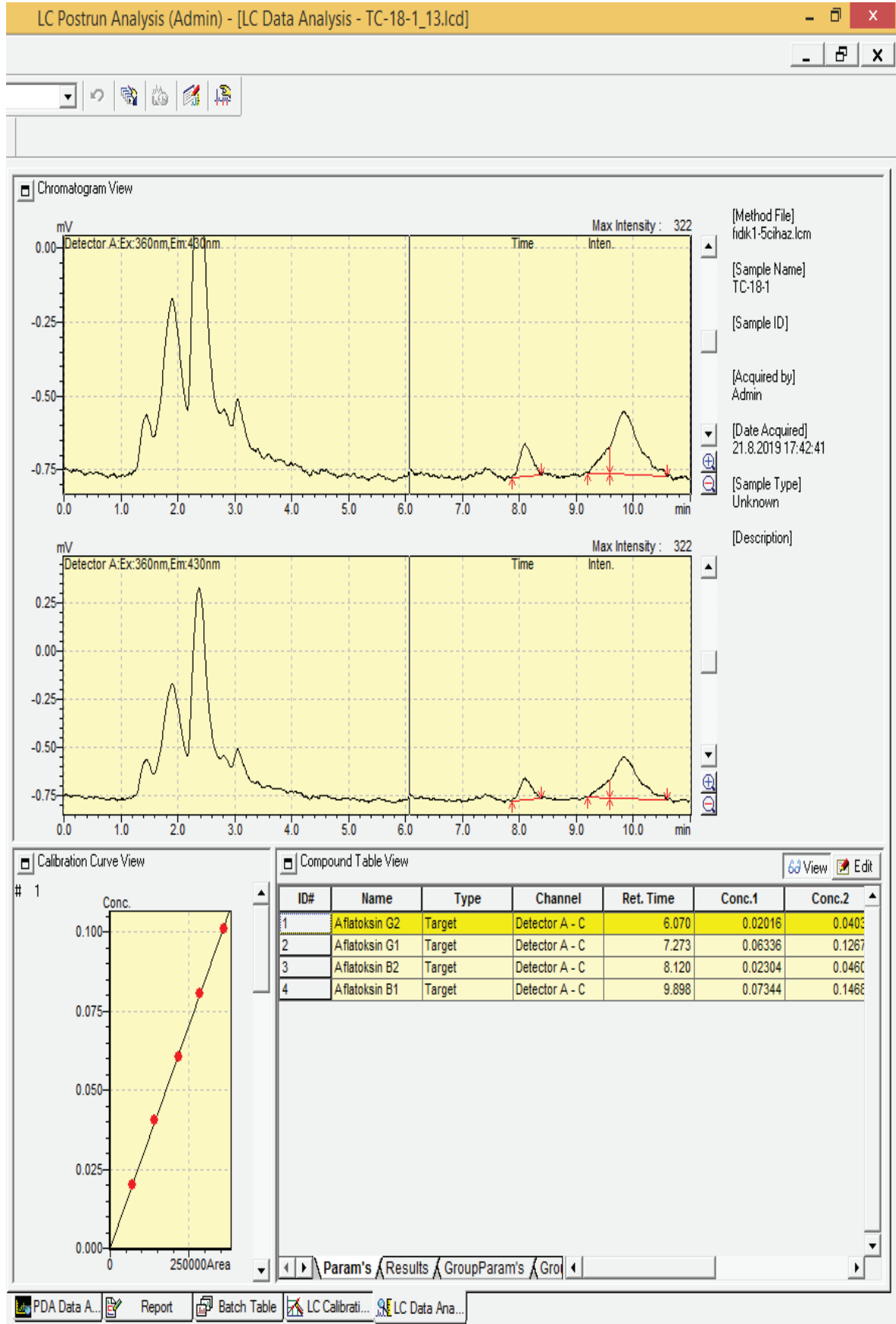
Ek Şekil 7.49. TC-17-1 numunesi kromatogramı



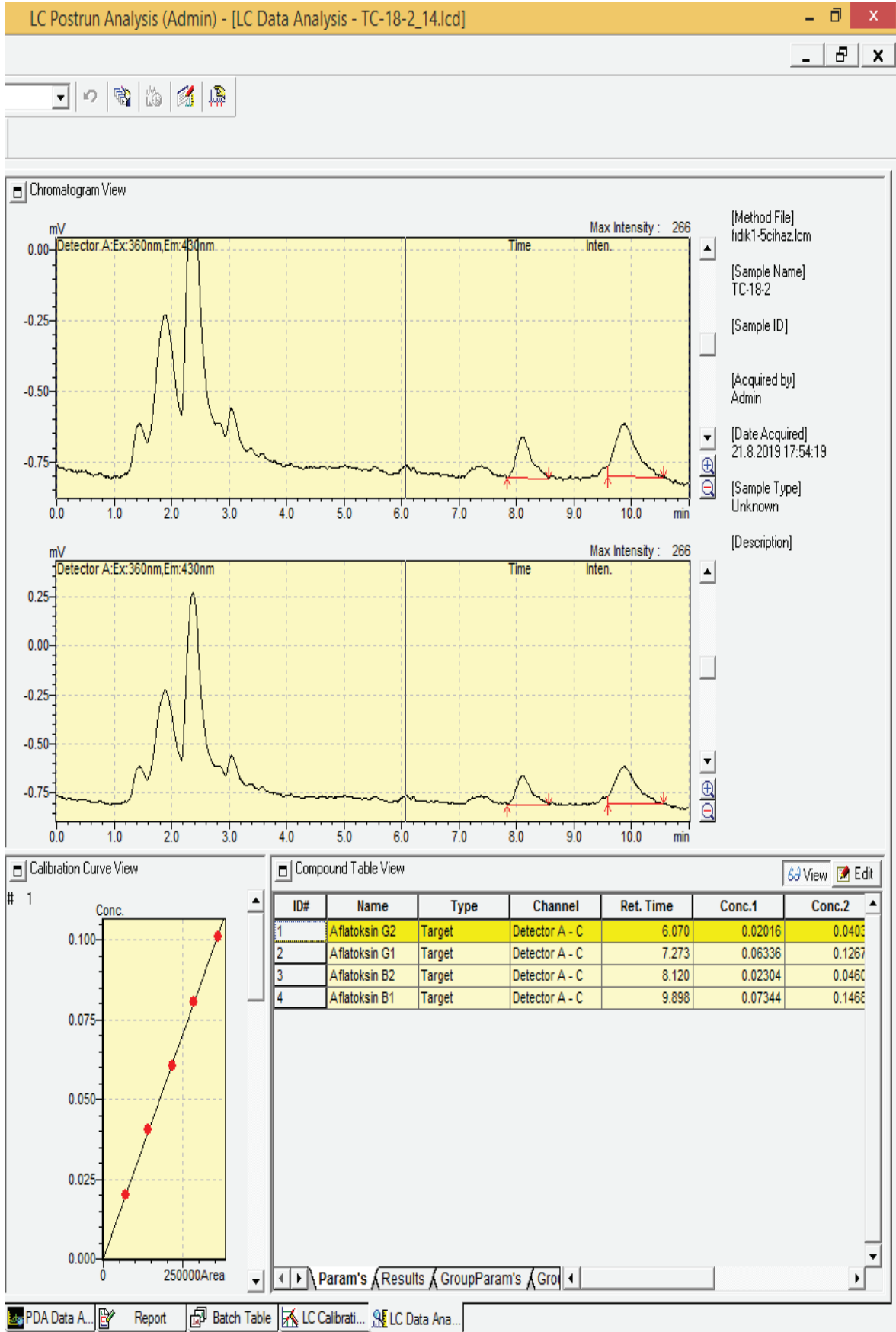
Ek Şekil 7.50. TC-17-2 numunesi kromatogramı



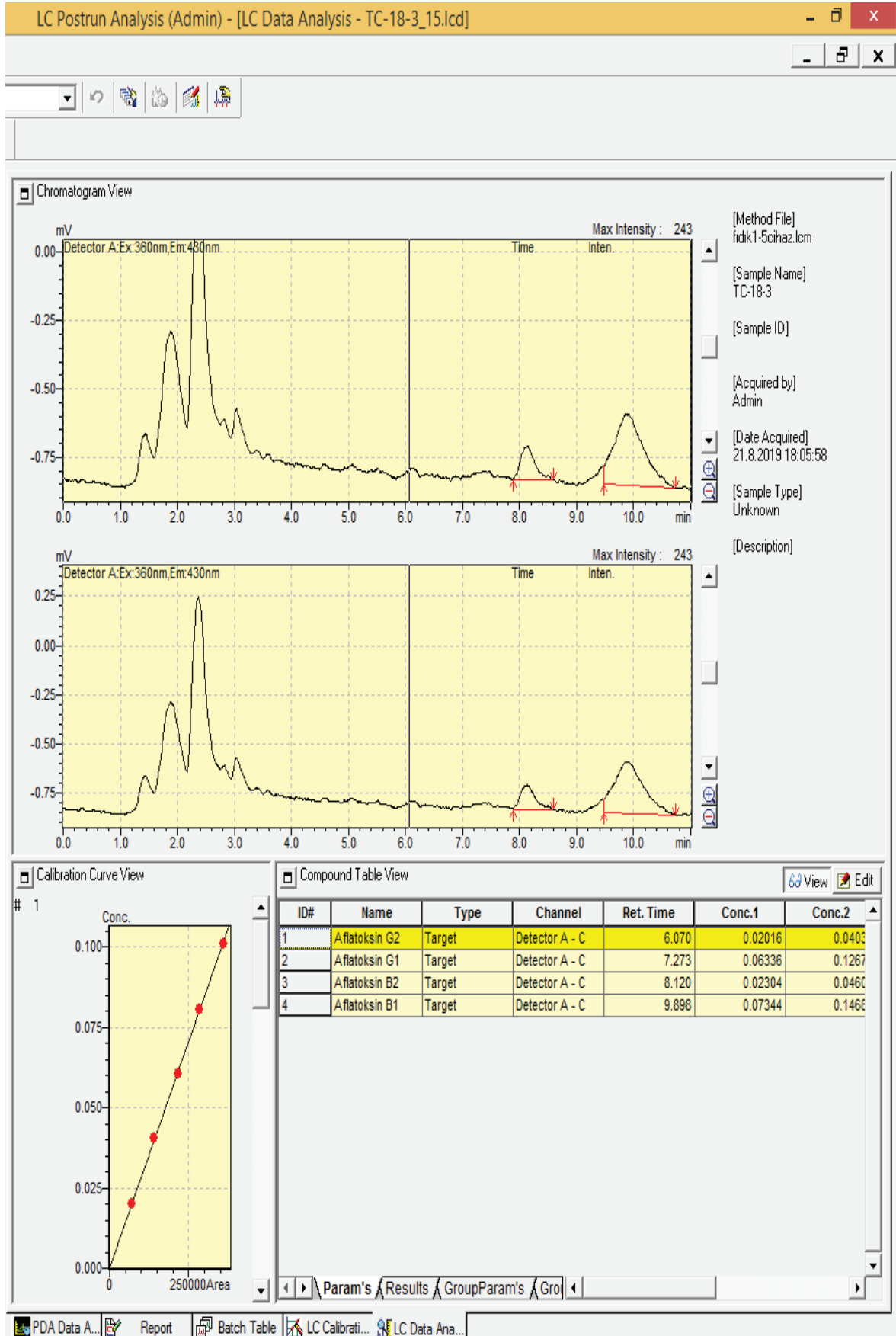
Ek Şekil 7.51. TC-17-3 numunesi kromatogramı



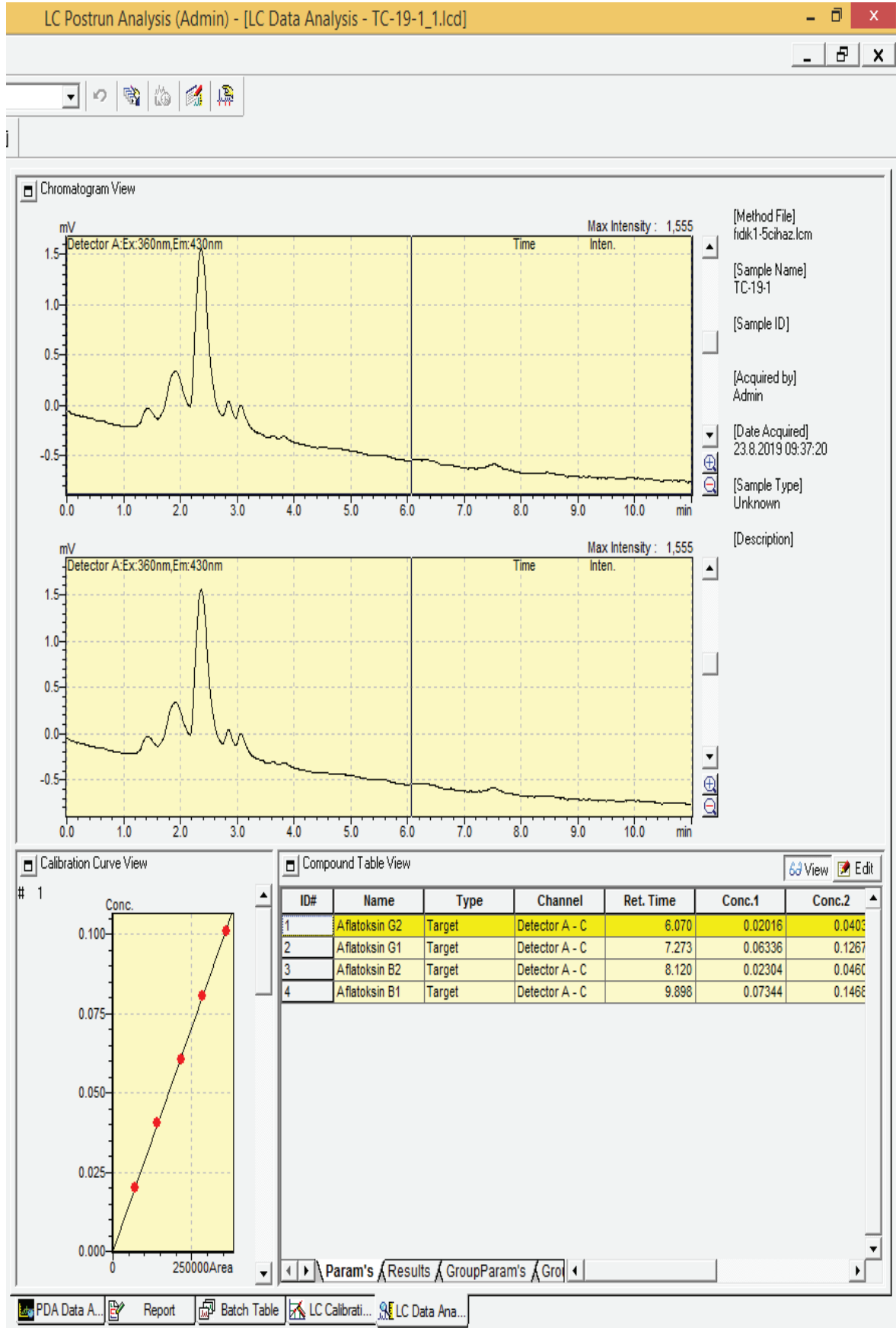
Ek Şekil 7.52. TC-18-1 numunesi kromatogramı



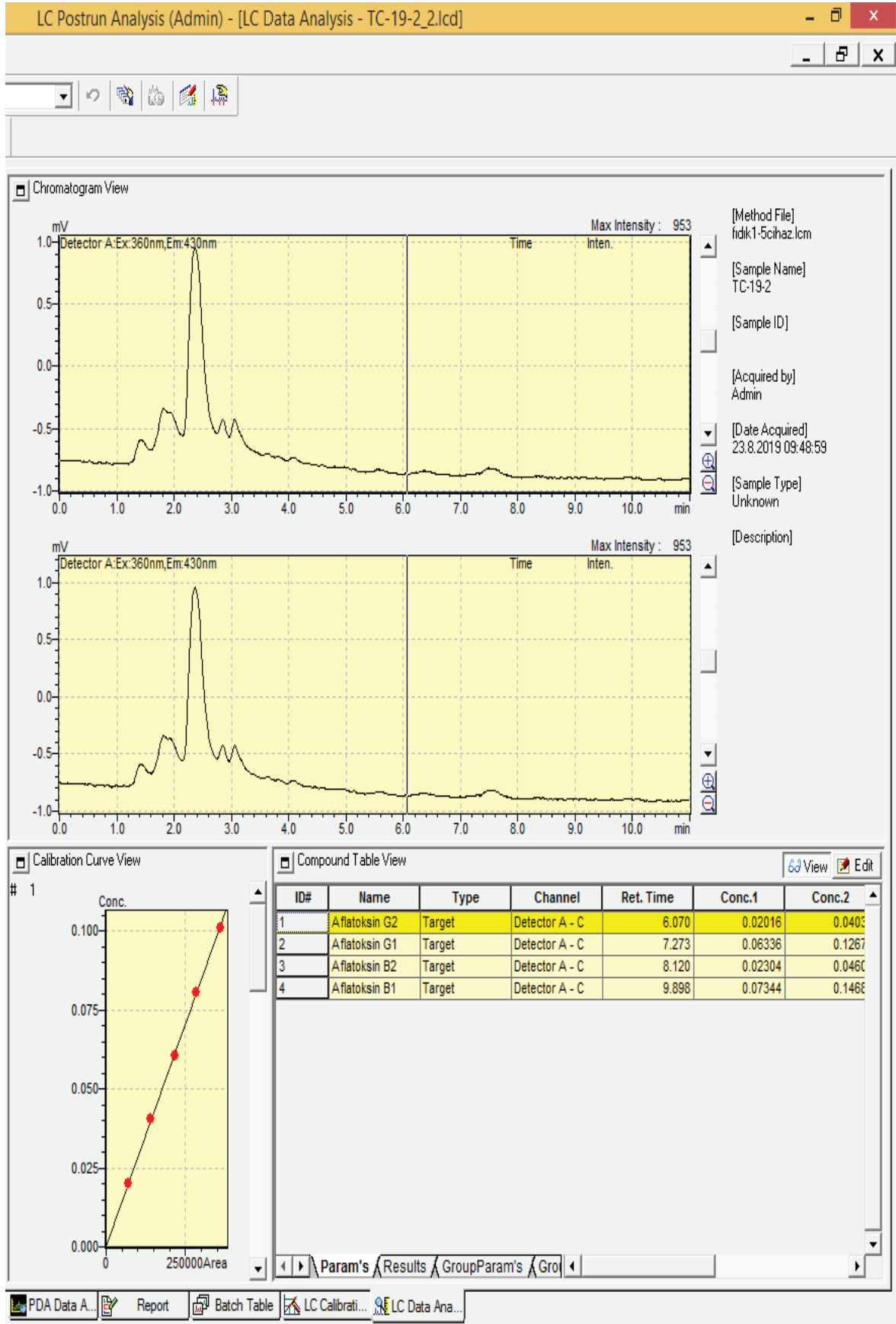
Ek Şekil 7.53. TC-18-2 numunesi kromatogramı



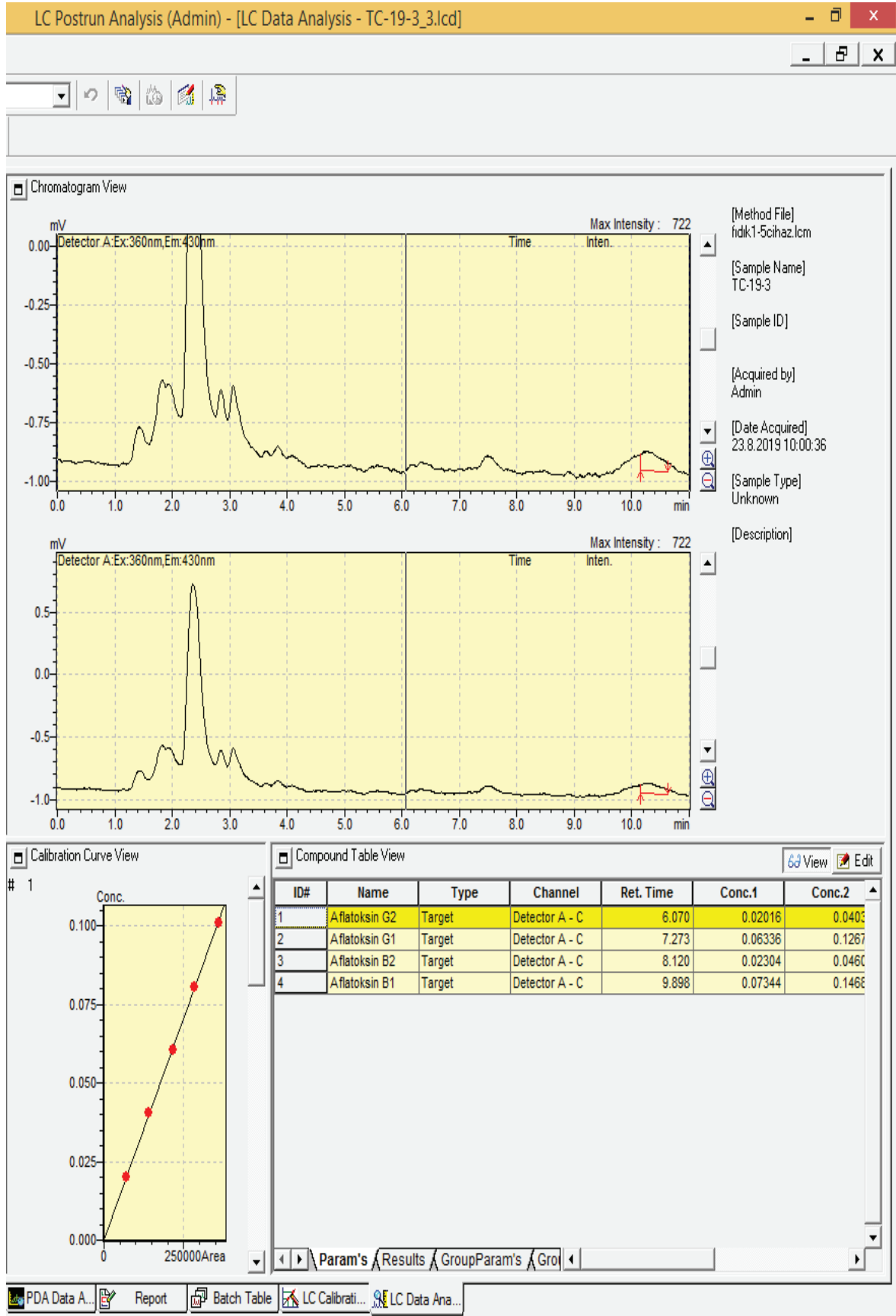
Ek Şekil 7.54. TC-18-3 numunesi kromatogramı



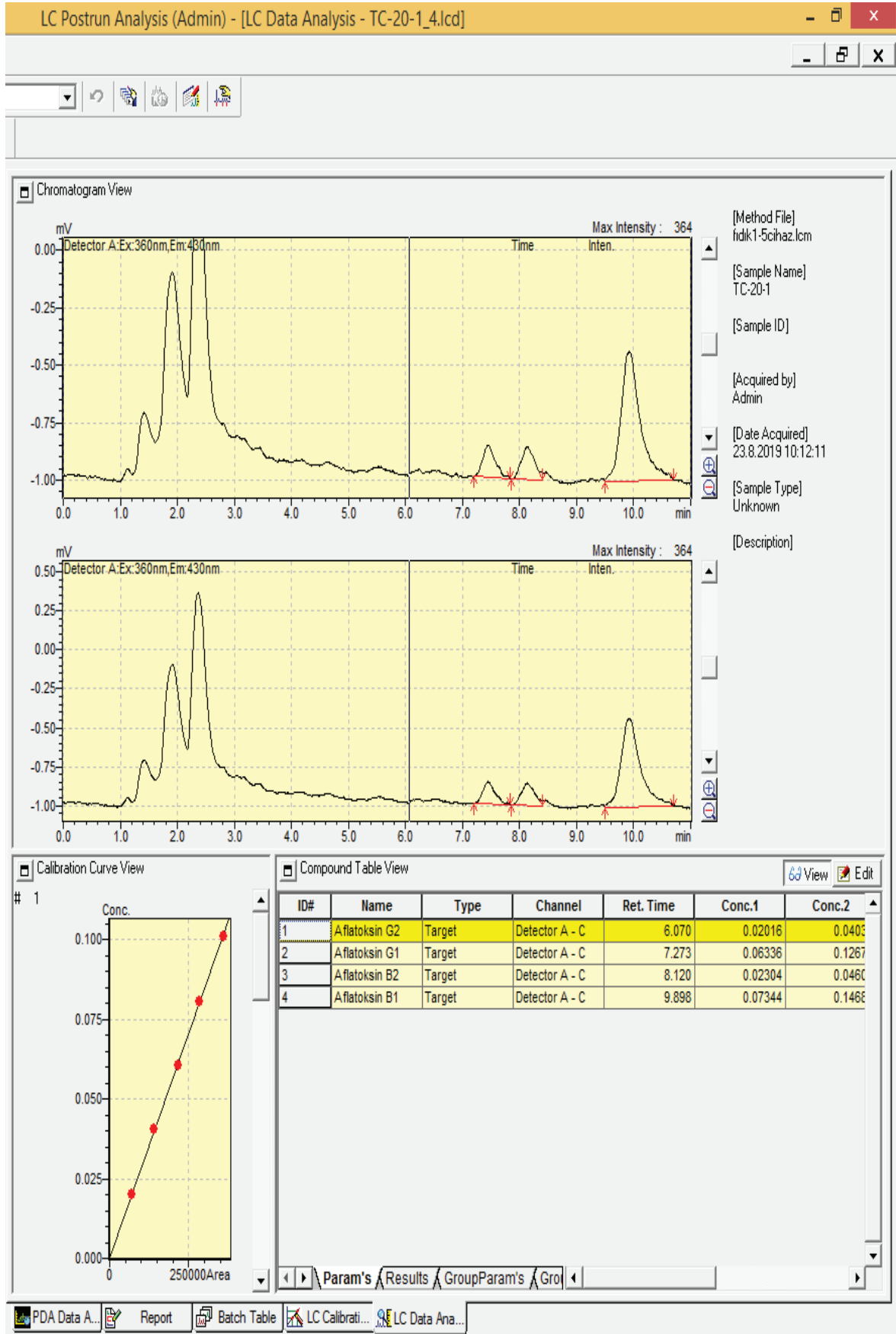
Ek Şekil 7.55. TC-19-1 numunesi kromatogramı



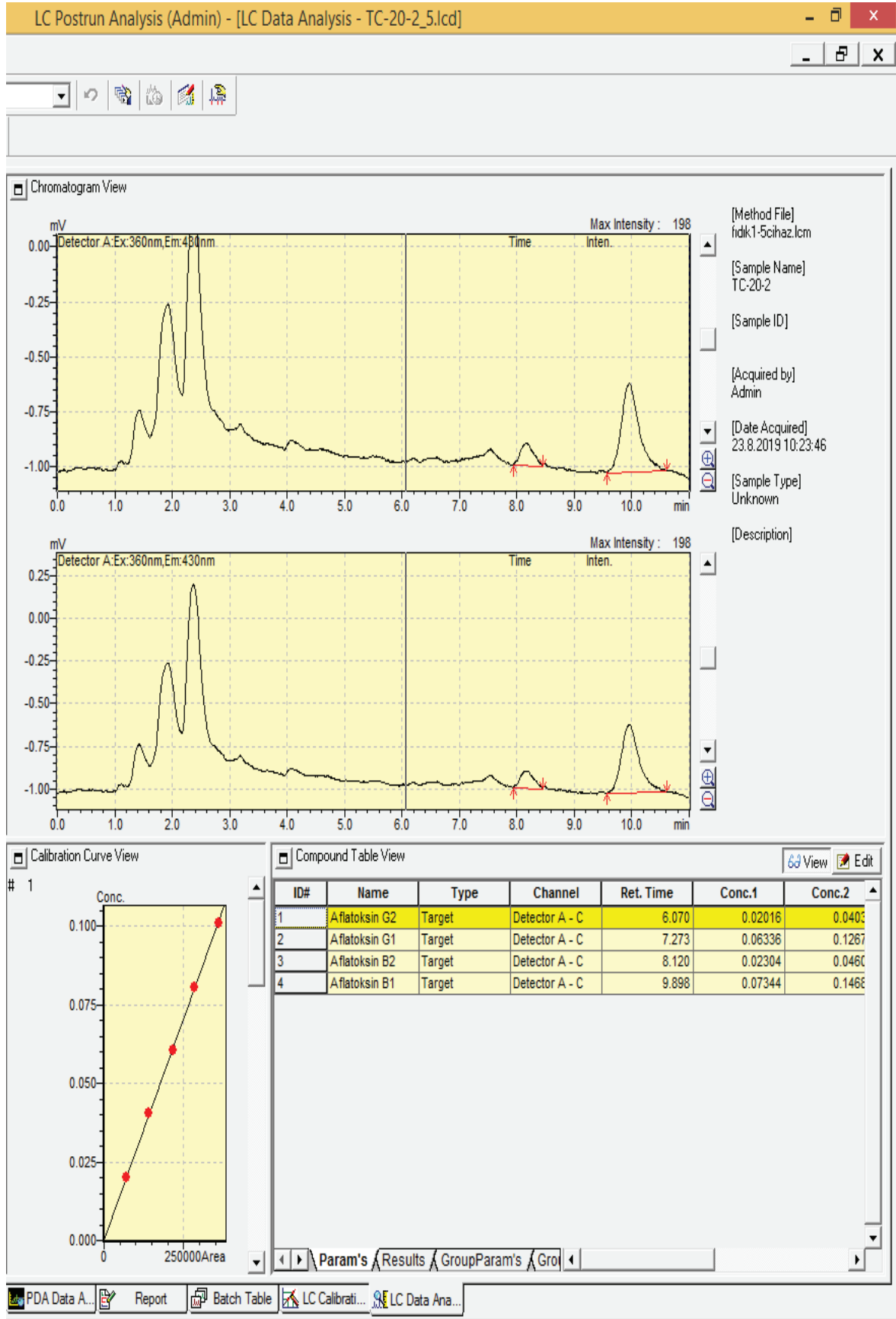
Ek Şekil 7.56. TC-19-2 numunesi kromatogramı



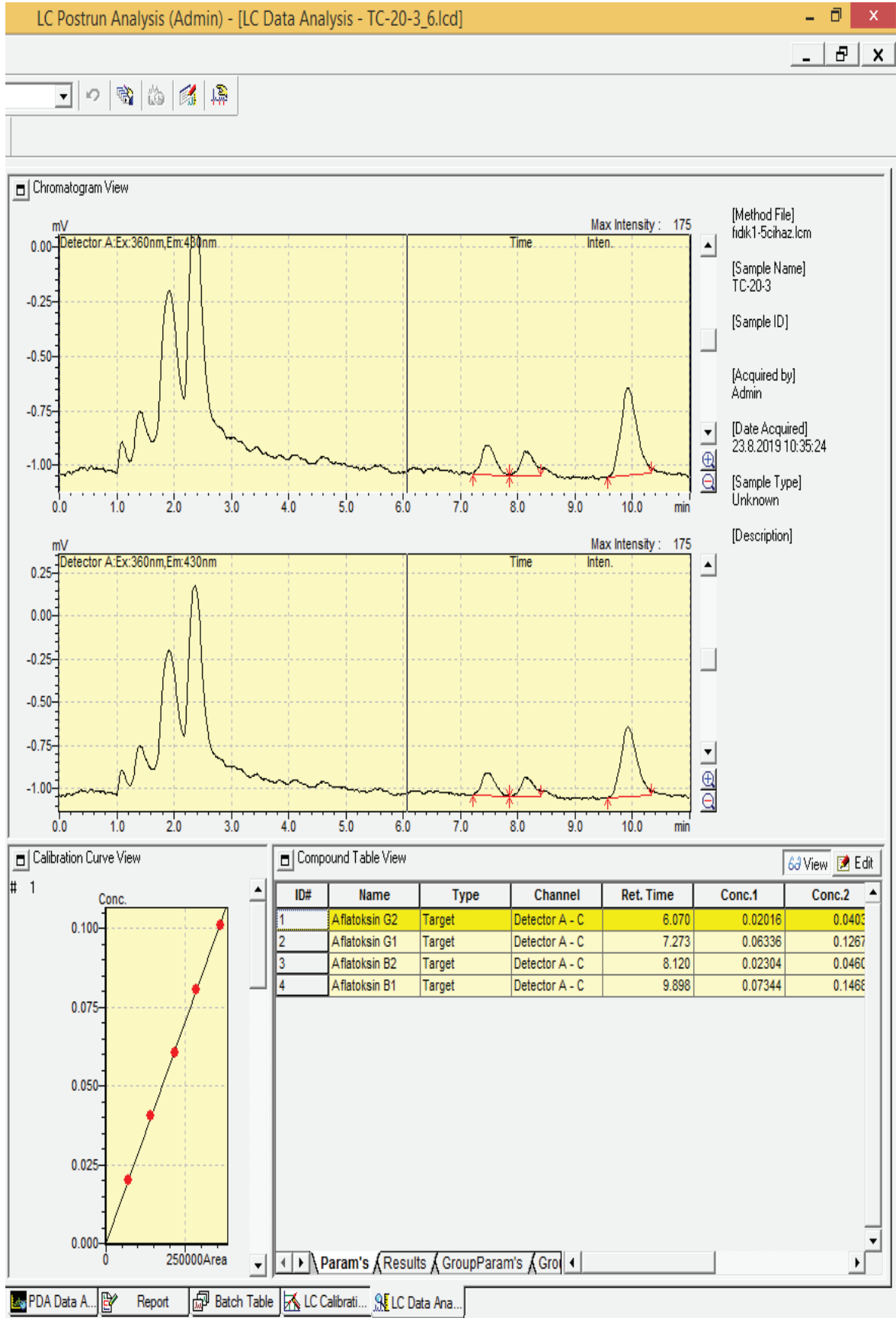
Ek Şekil 6 57. TC-19-3 numunesi kromatogramı



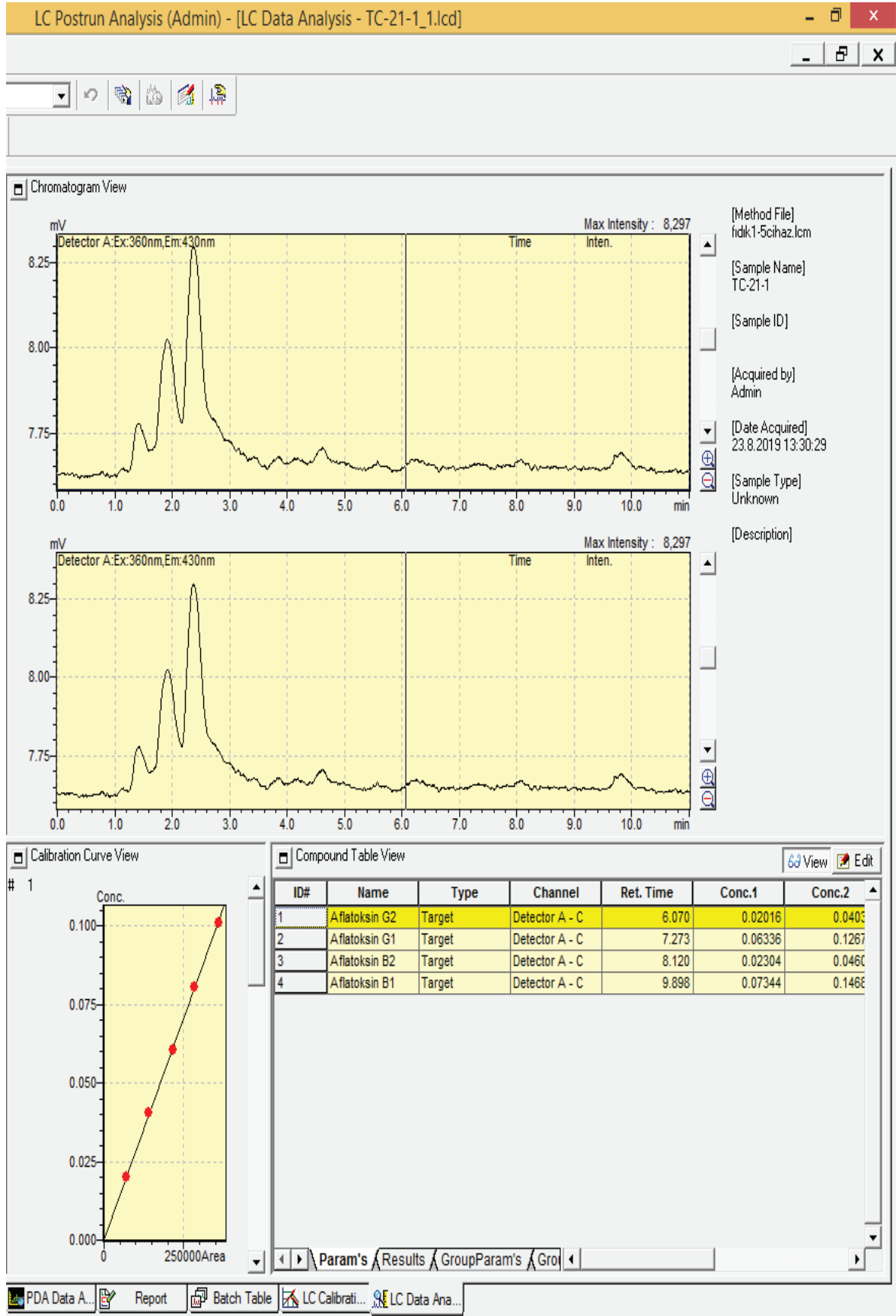
Ek Şekil 7.58. TC-20-1 numunesi kromatogramı



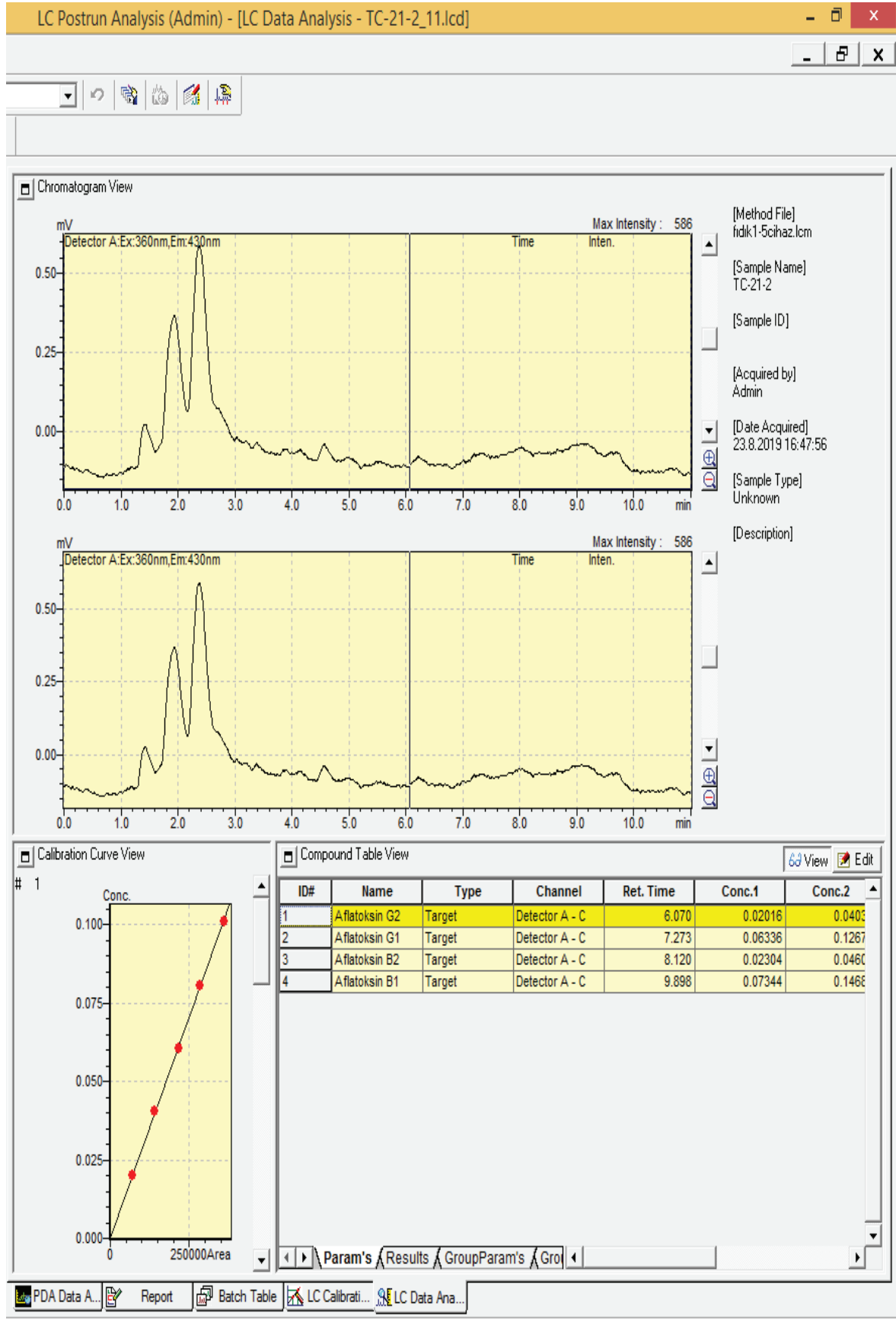
Ek Şekil 7. 59. TC-20-2 numunesi kromatogramı



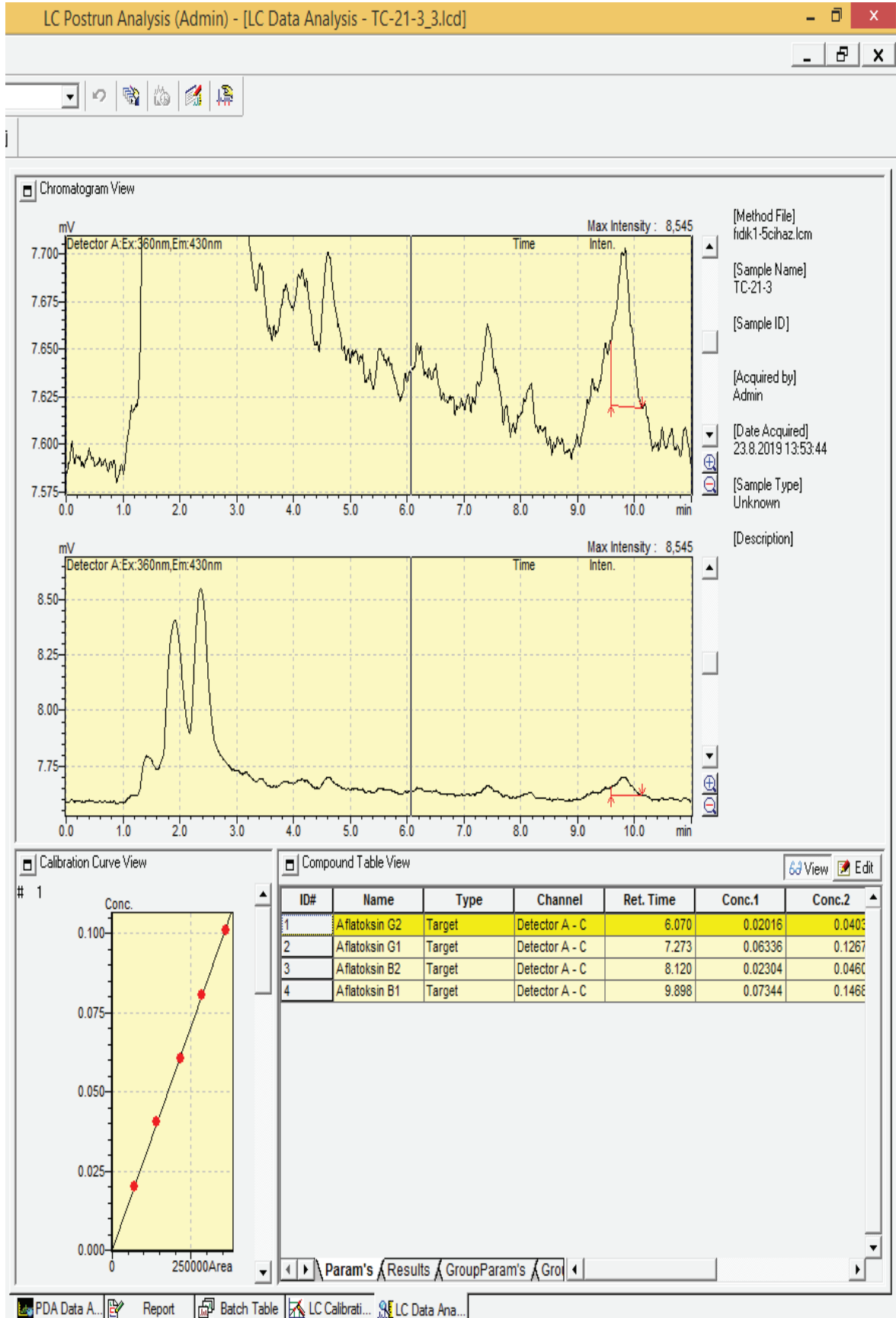
Ek Şekil 7.60. TC-20-3 numunesi kromatogramı



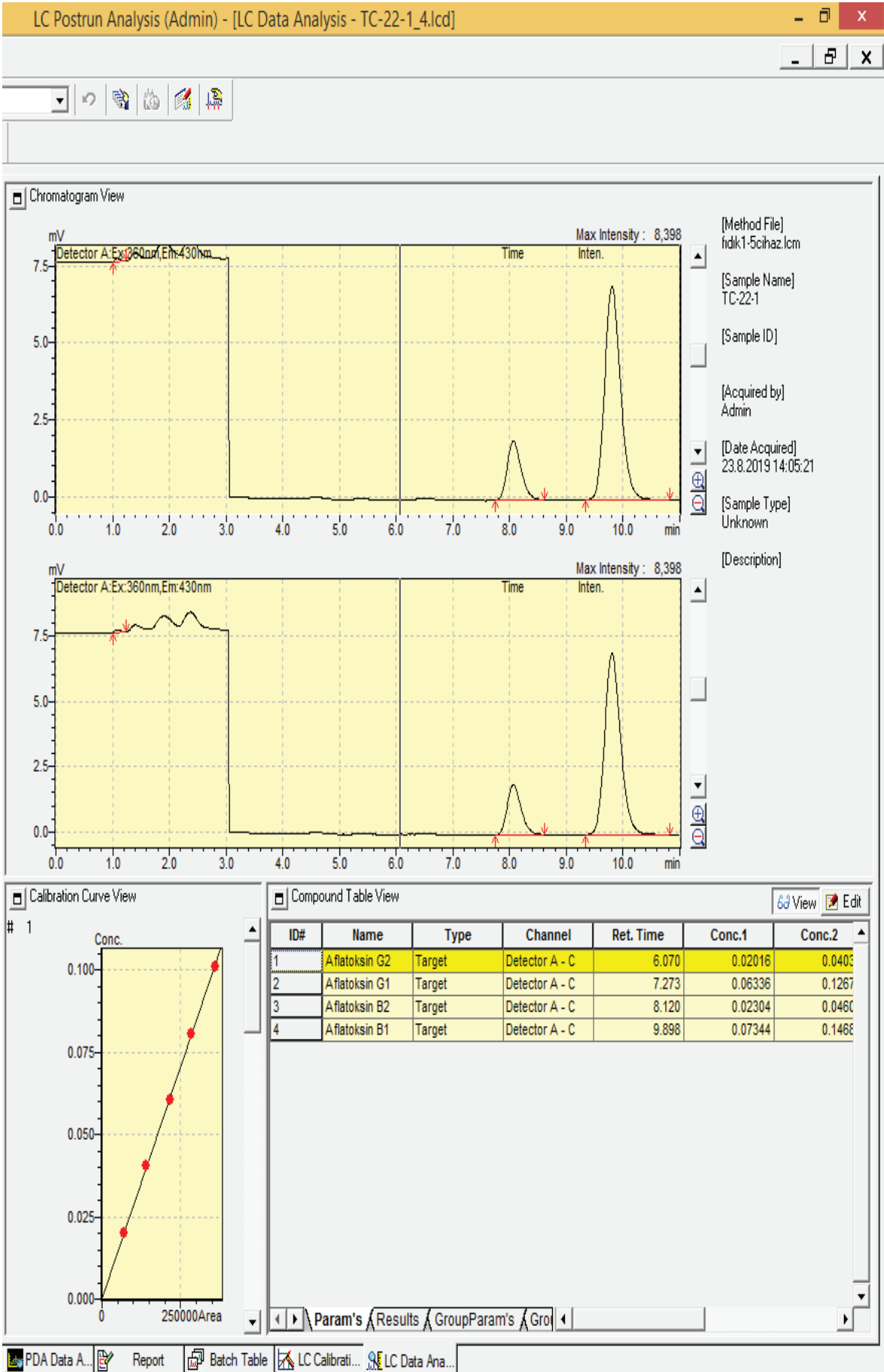
Ek Şekil 7.61. TC-21-1 numunesi kromatogramı



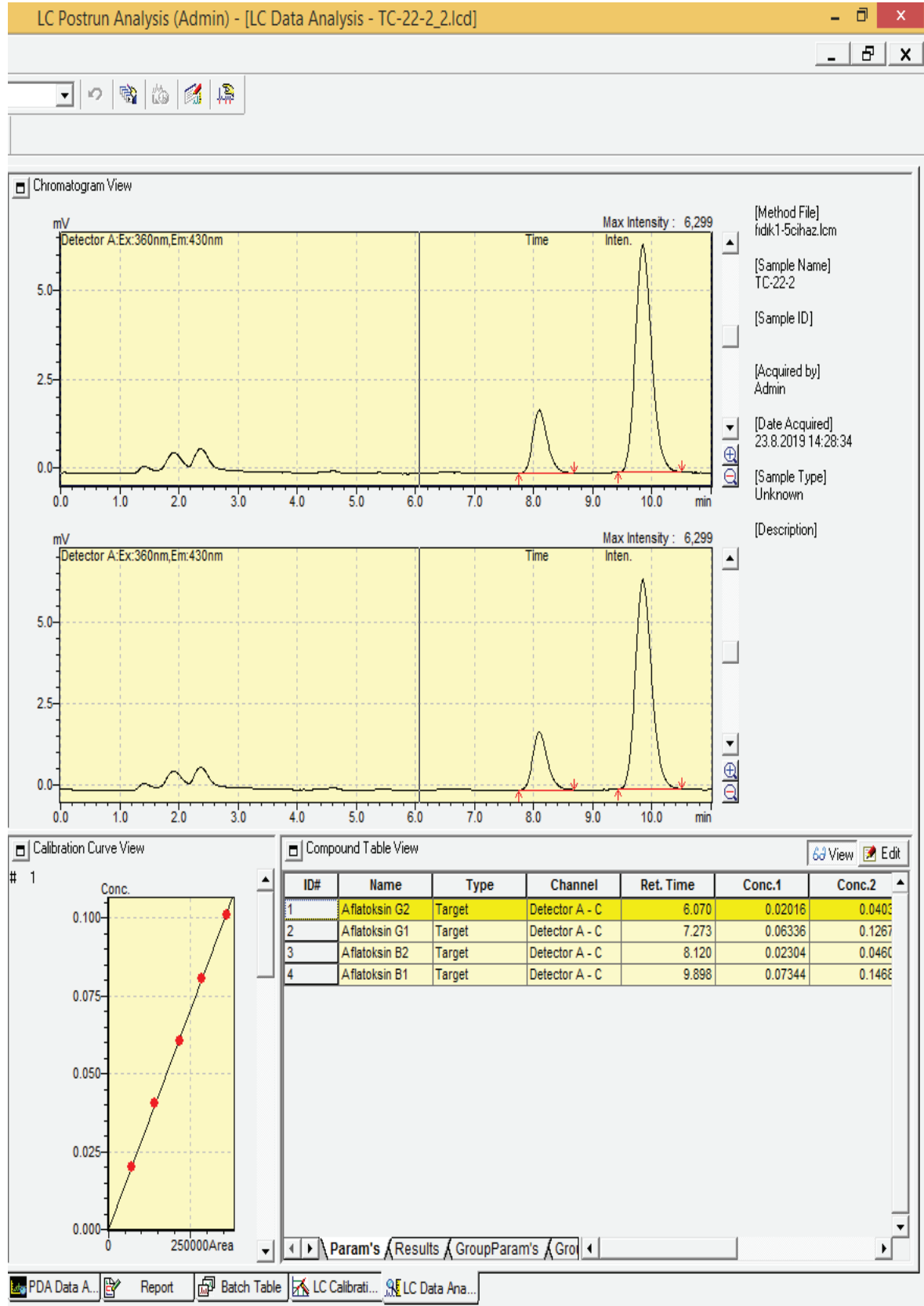
Ek Şekil 7. 62. TC-21-2 numunesi kromatogramı



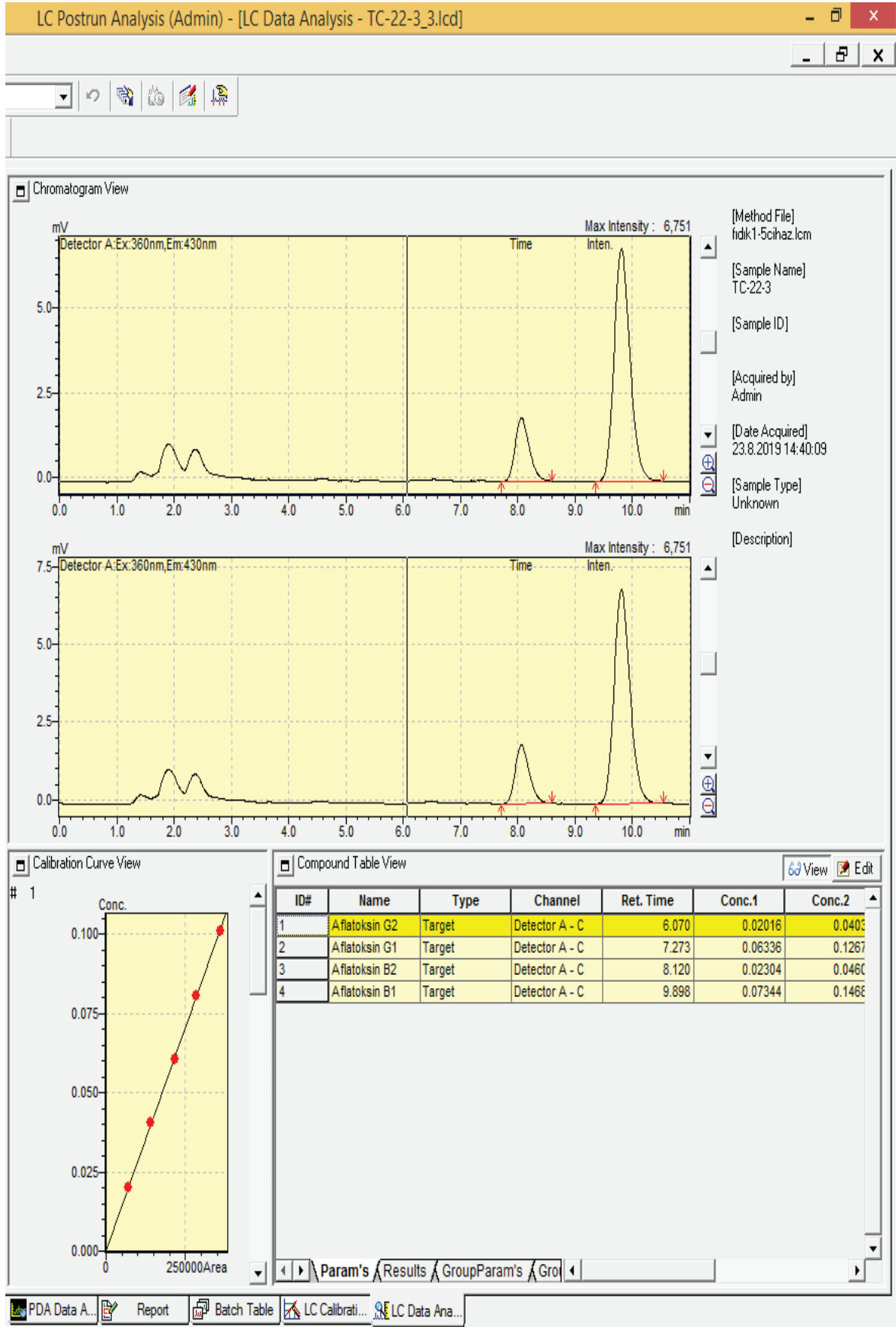
Ek Şekil 7.63. TC-21-3 numunesi kromatogramı



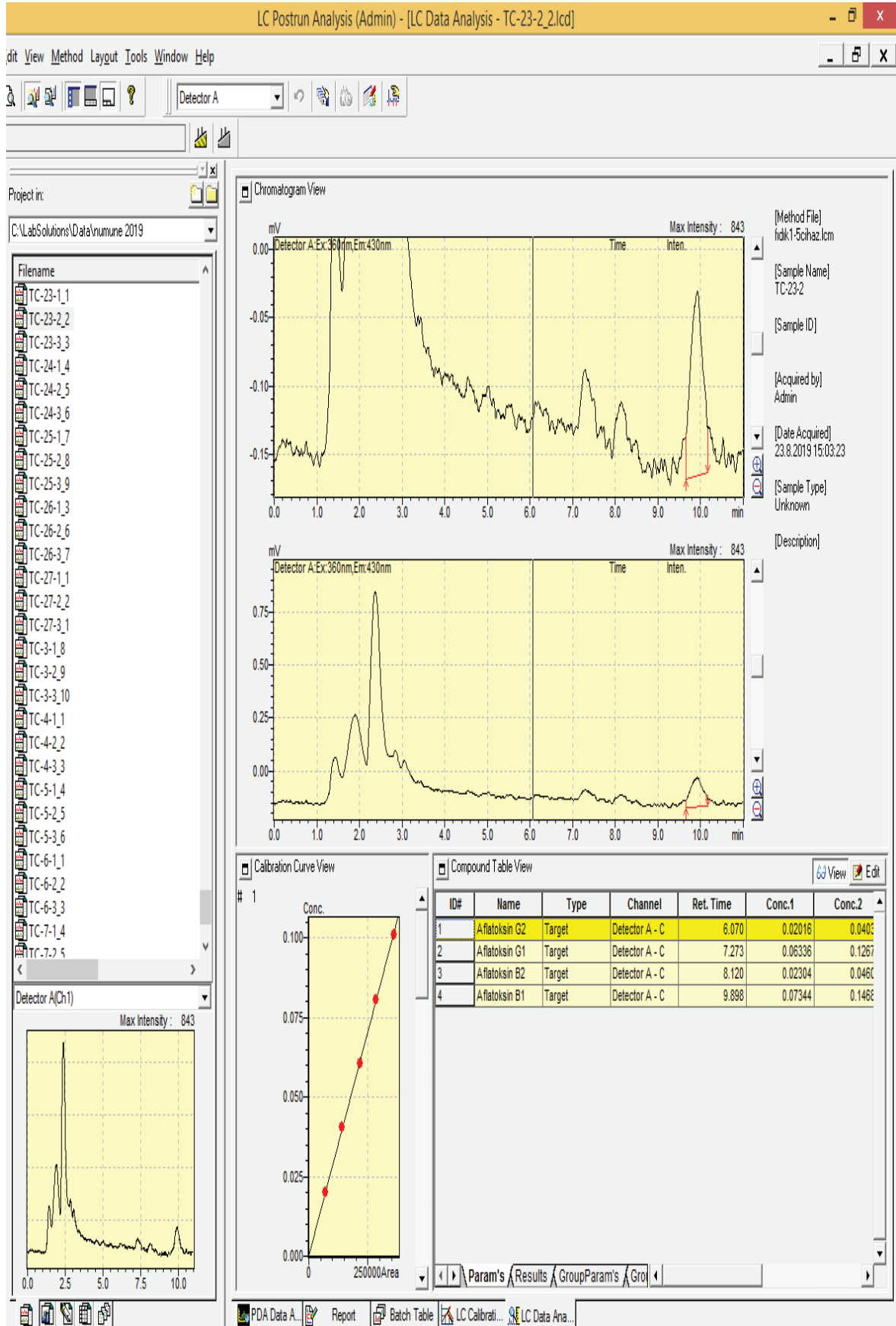
Ek Şekil 7.64. TC-22-1 numunesi kromatogramı



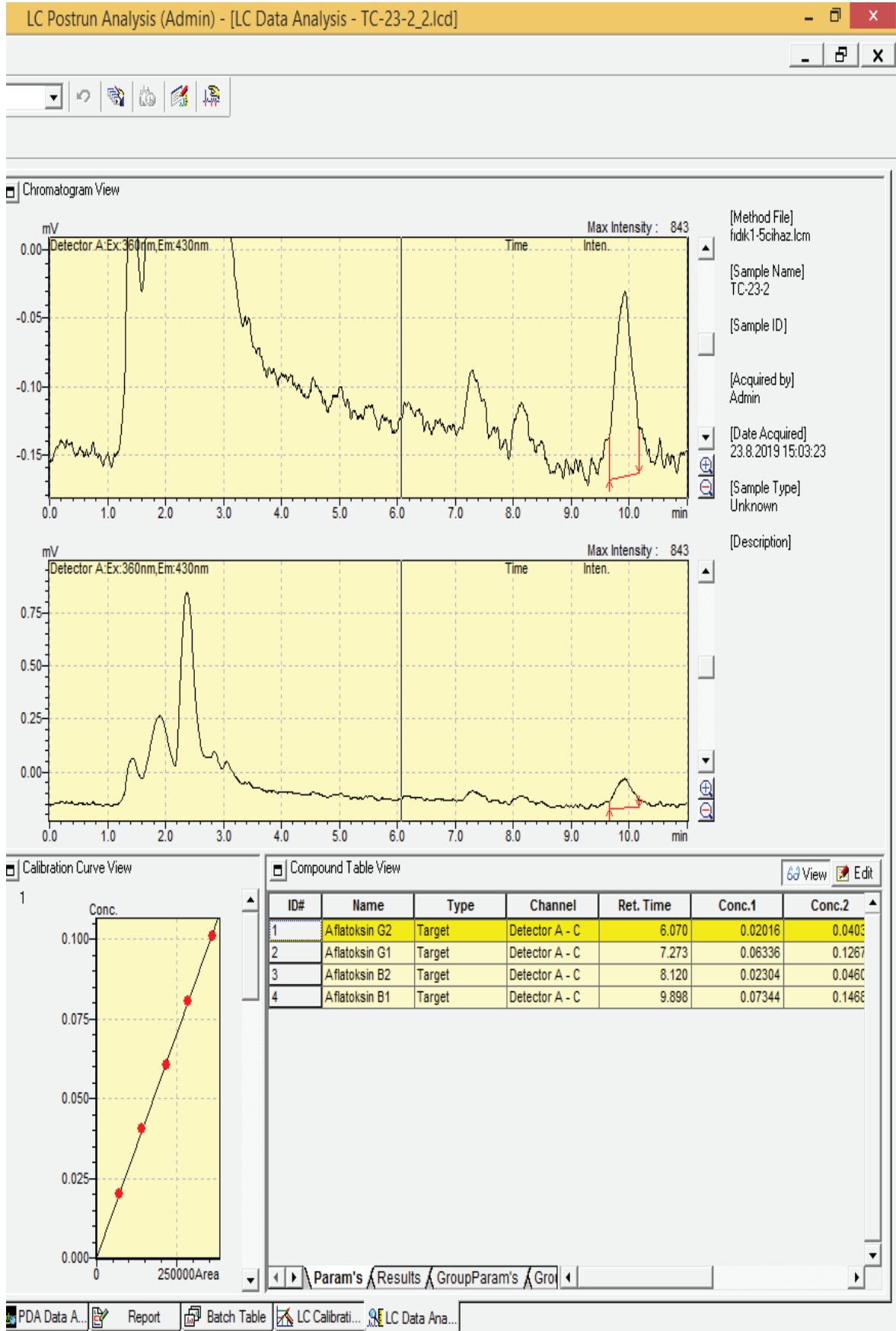
Ek Şekil 7.65. TC-22-2 numunesi kromatogramı



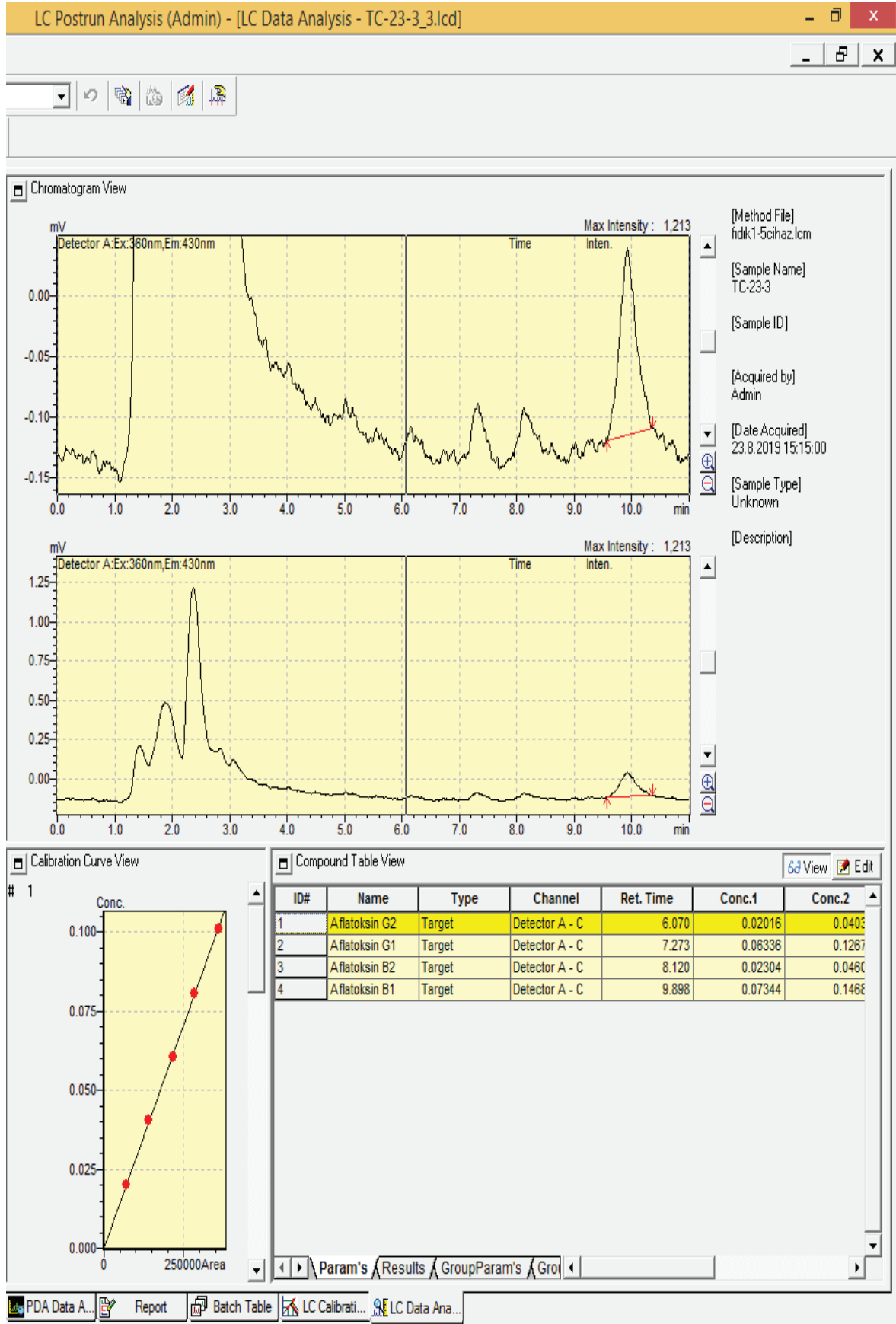
Ek Şekil 7.66. TC-22-3 numunesi kromatogramı



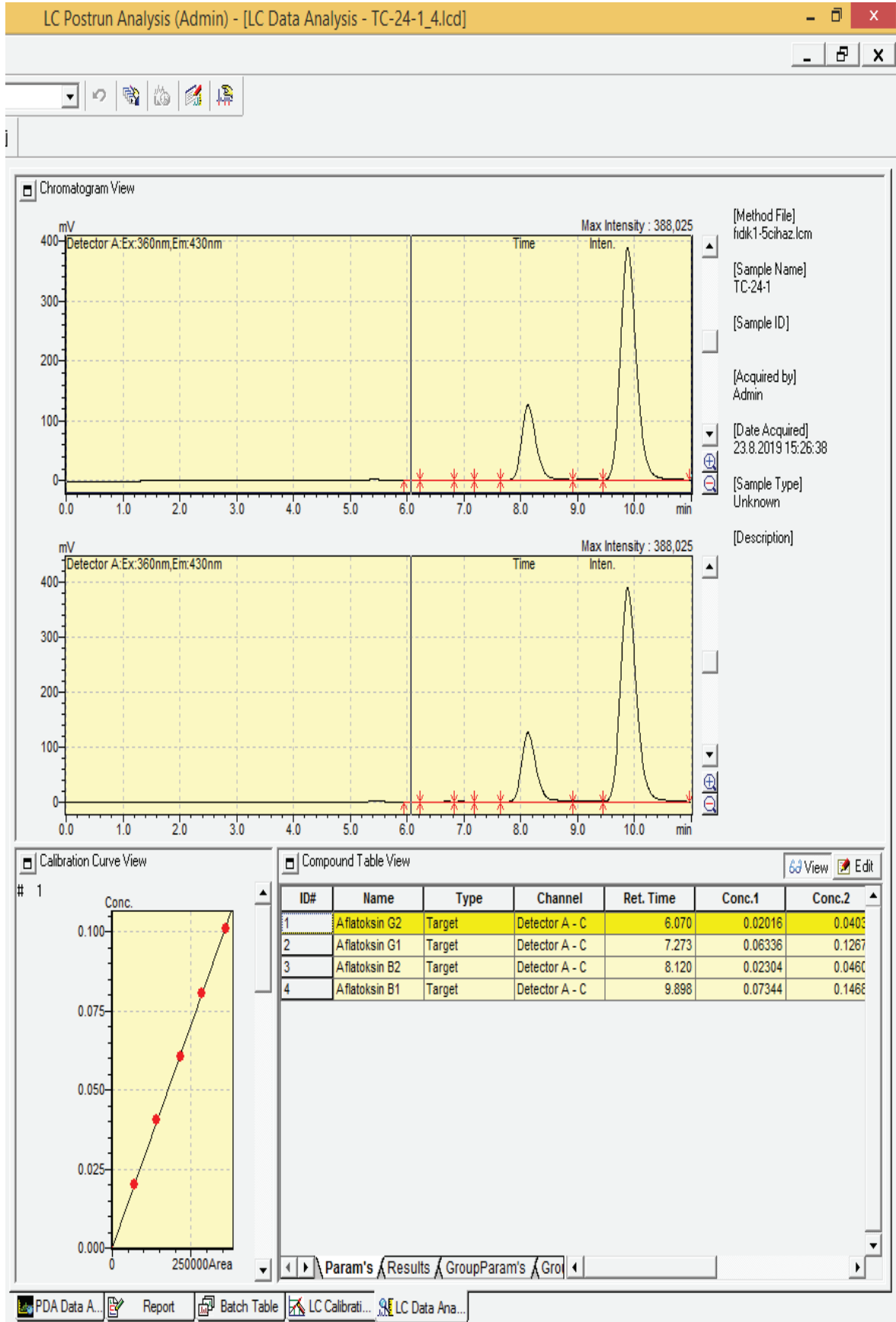
Ek Şekil 7. 67. TC-23-1 numunesi kromatogramı



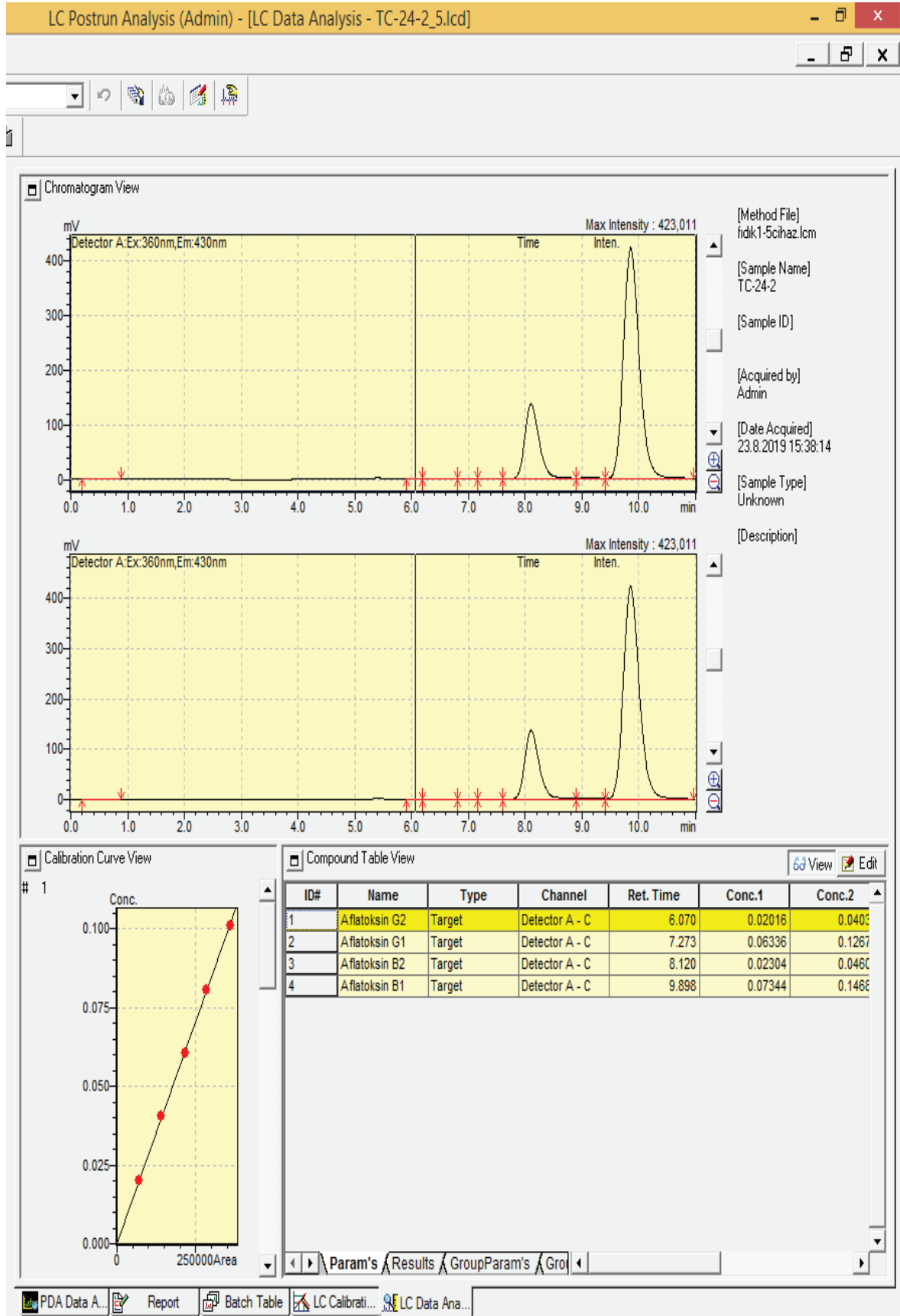
Ek Şekil 7.68. TC-23-2 numunesi kromatogramı



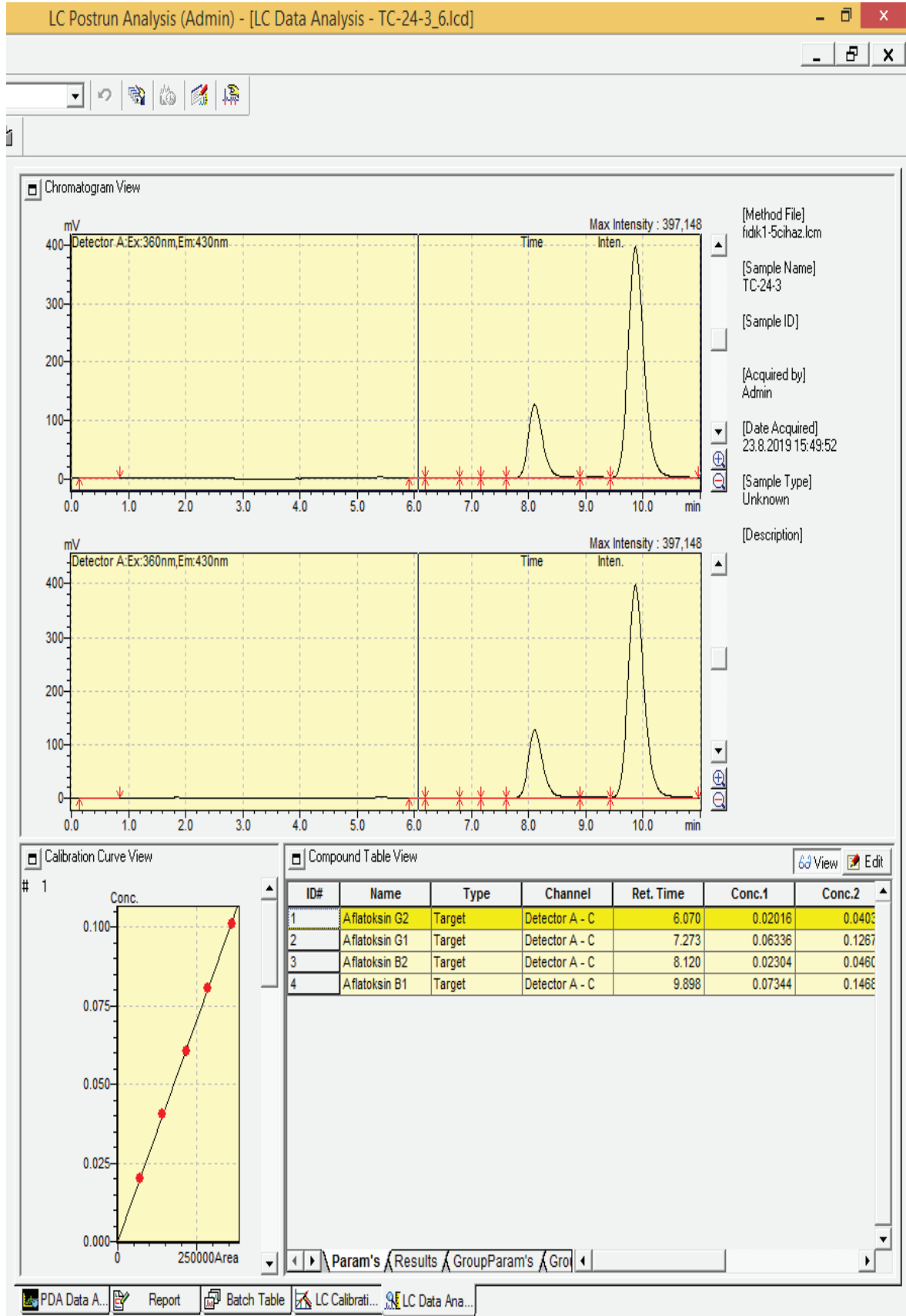
Ek Şekil 7.69. TC-23-3 numunesi kromatogramı



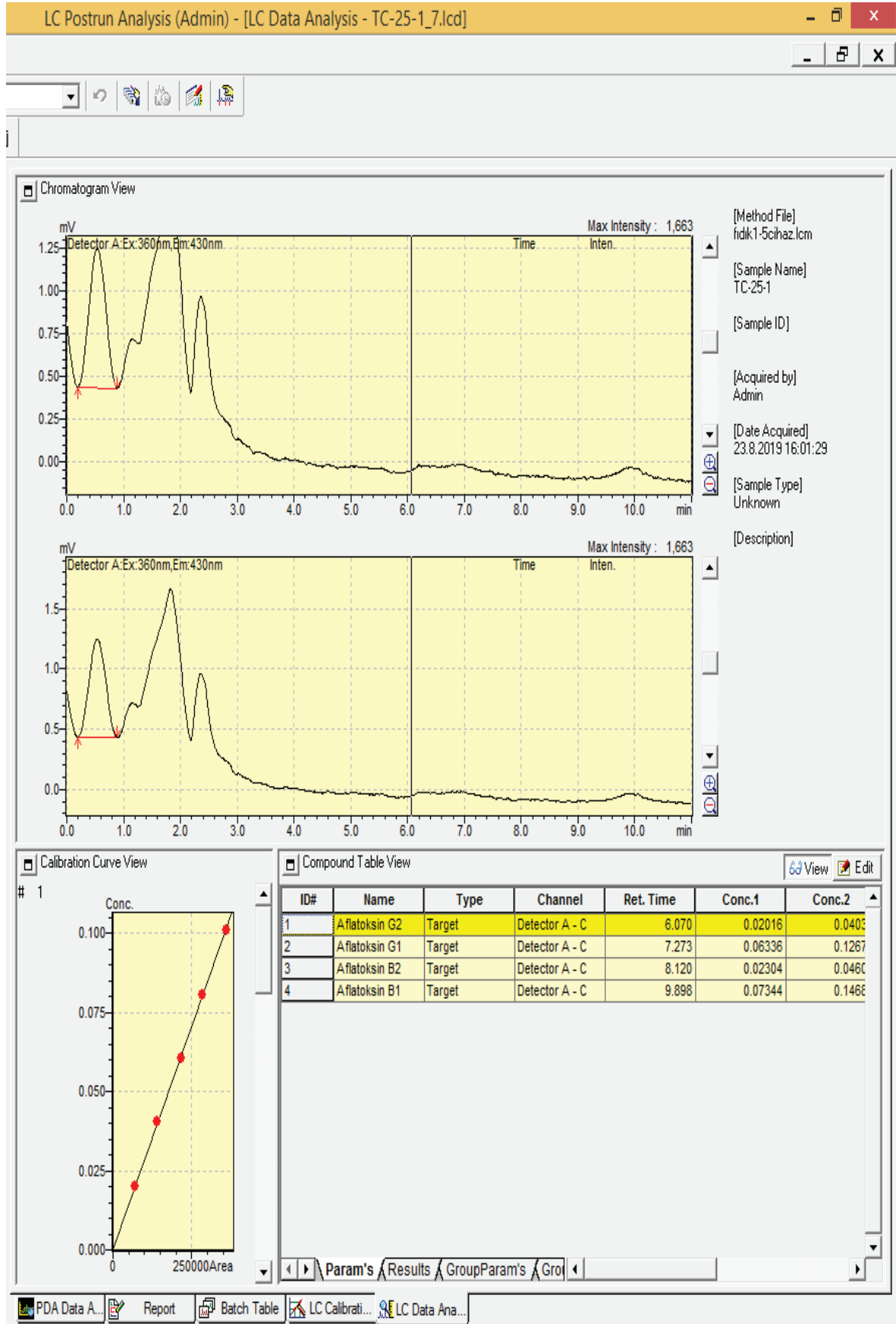
Ek Şekil 7.70. TC-24-1 numunesi kromatogramı



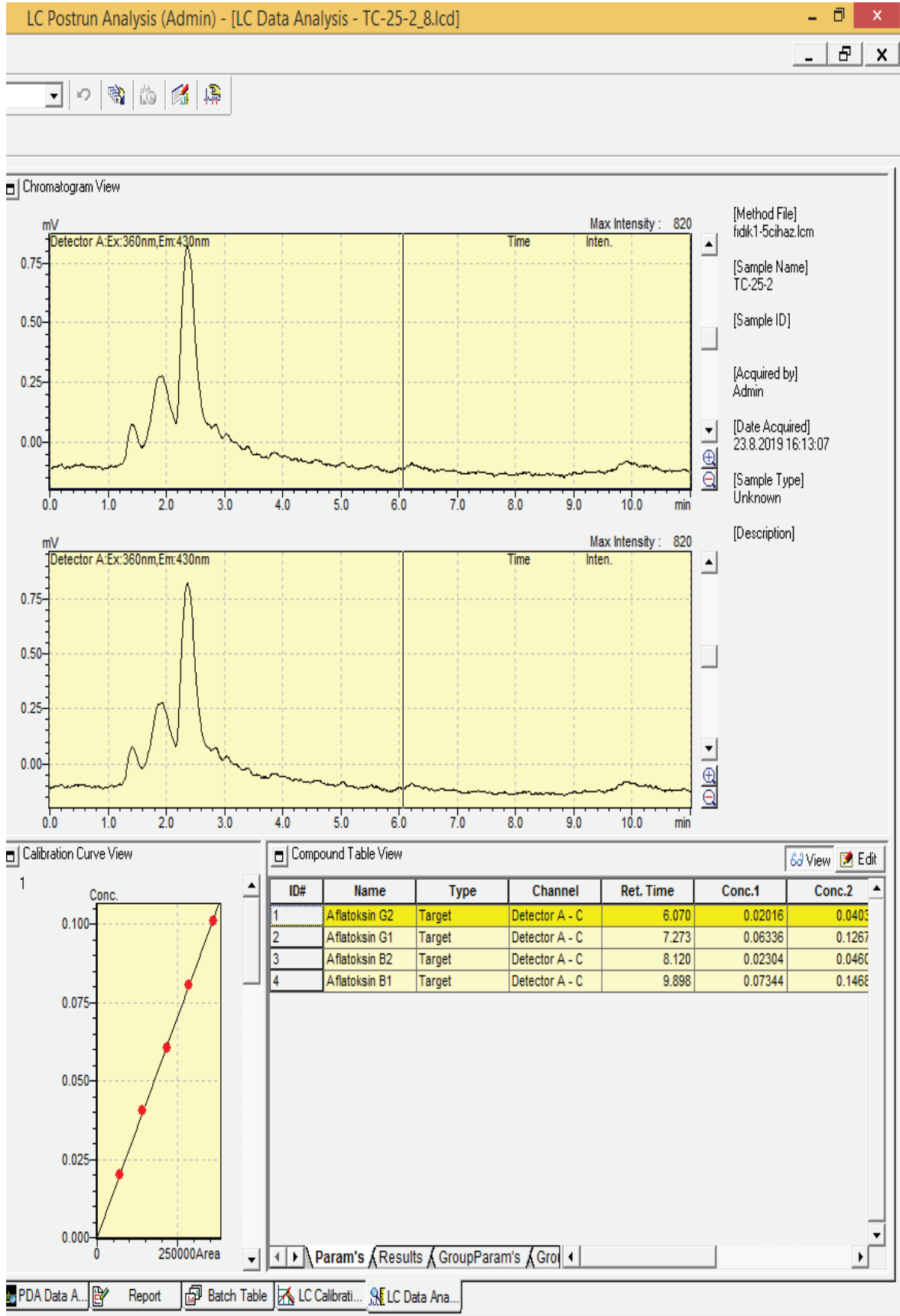
Ek Şekil 7.71. TC-24-2 numunesi kromatogramı



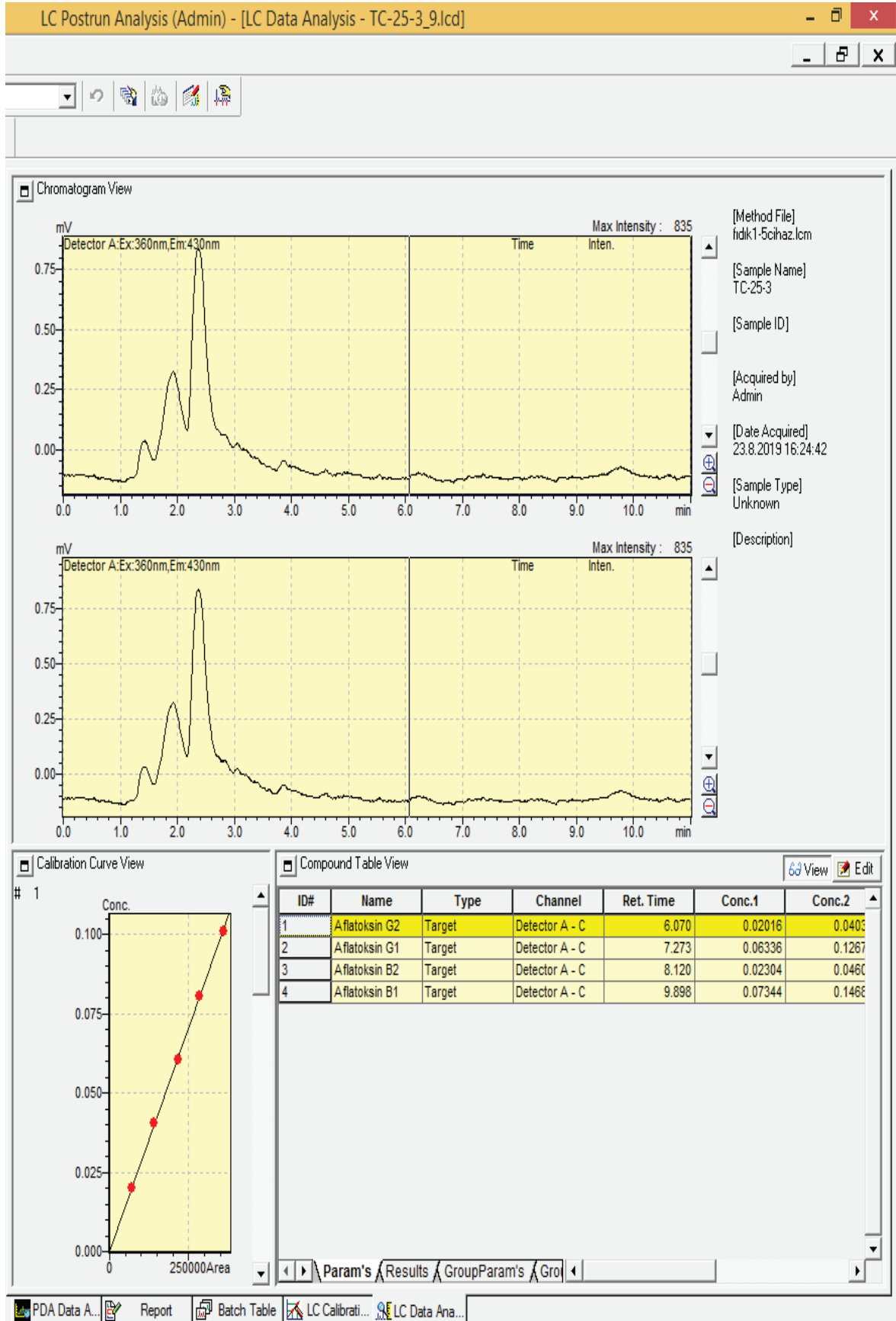
Ek Şekil 7.72. TC-24-3 numunesi kromatogramı



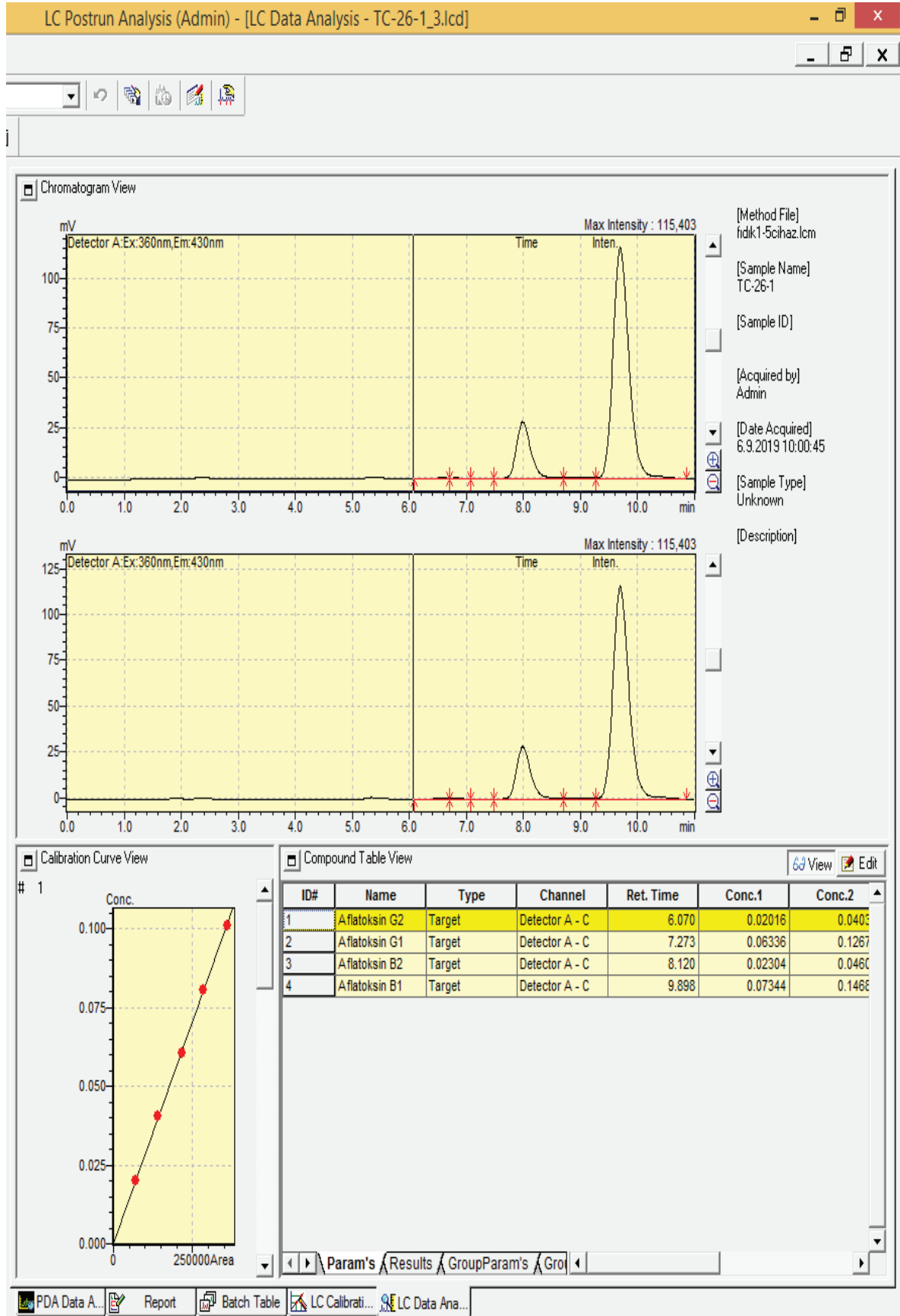
Ek Şekil 7.73. TC-25-1 numunesi kromatogramı



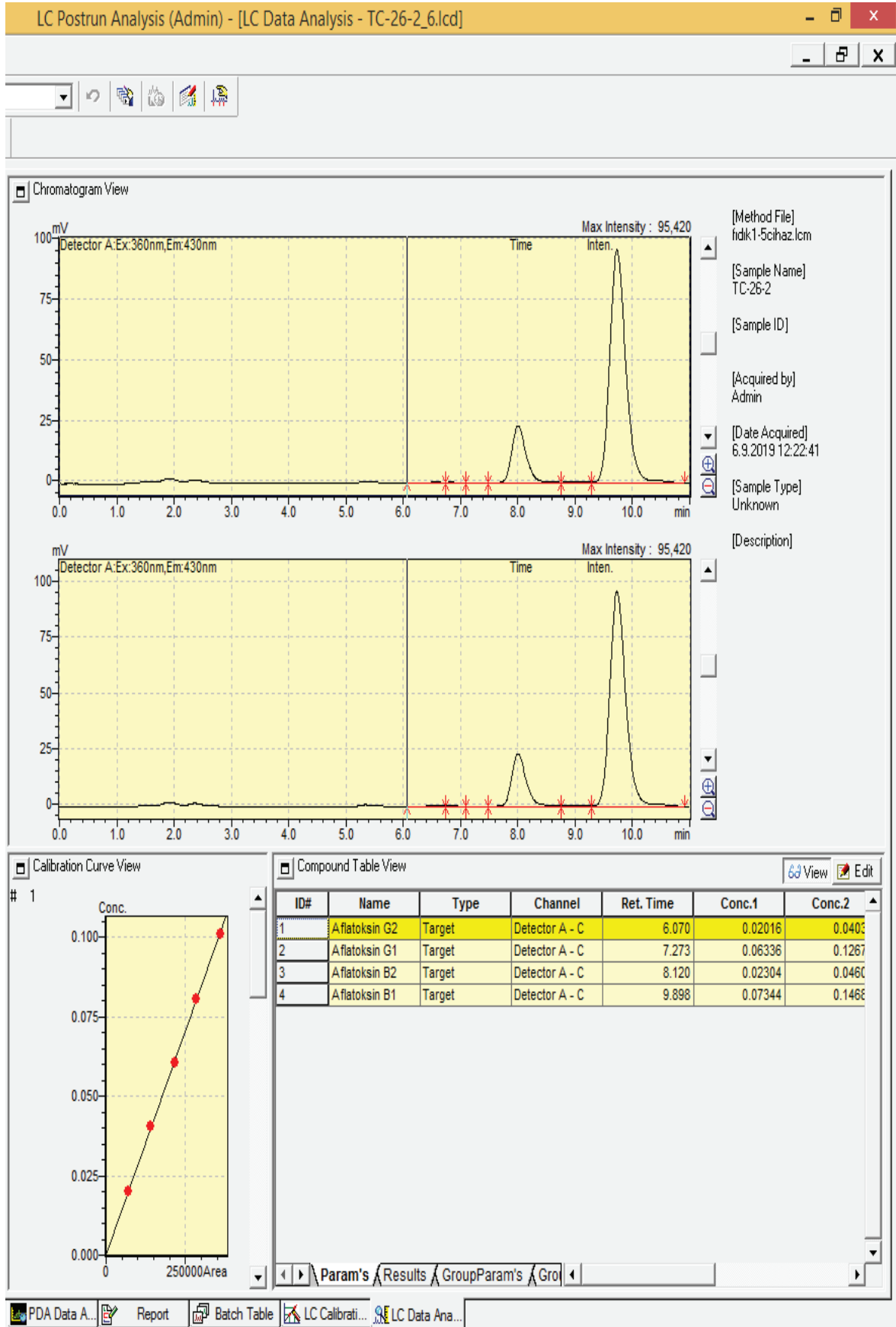
Ek Şekil 7.74. TC-25-2 numunesi kromatogramı



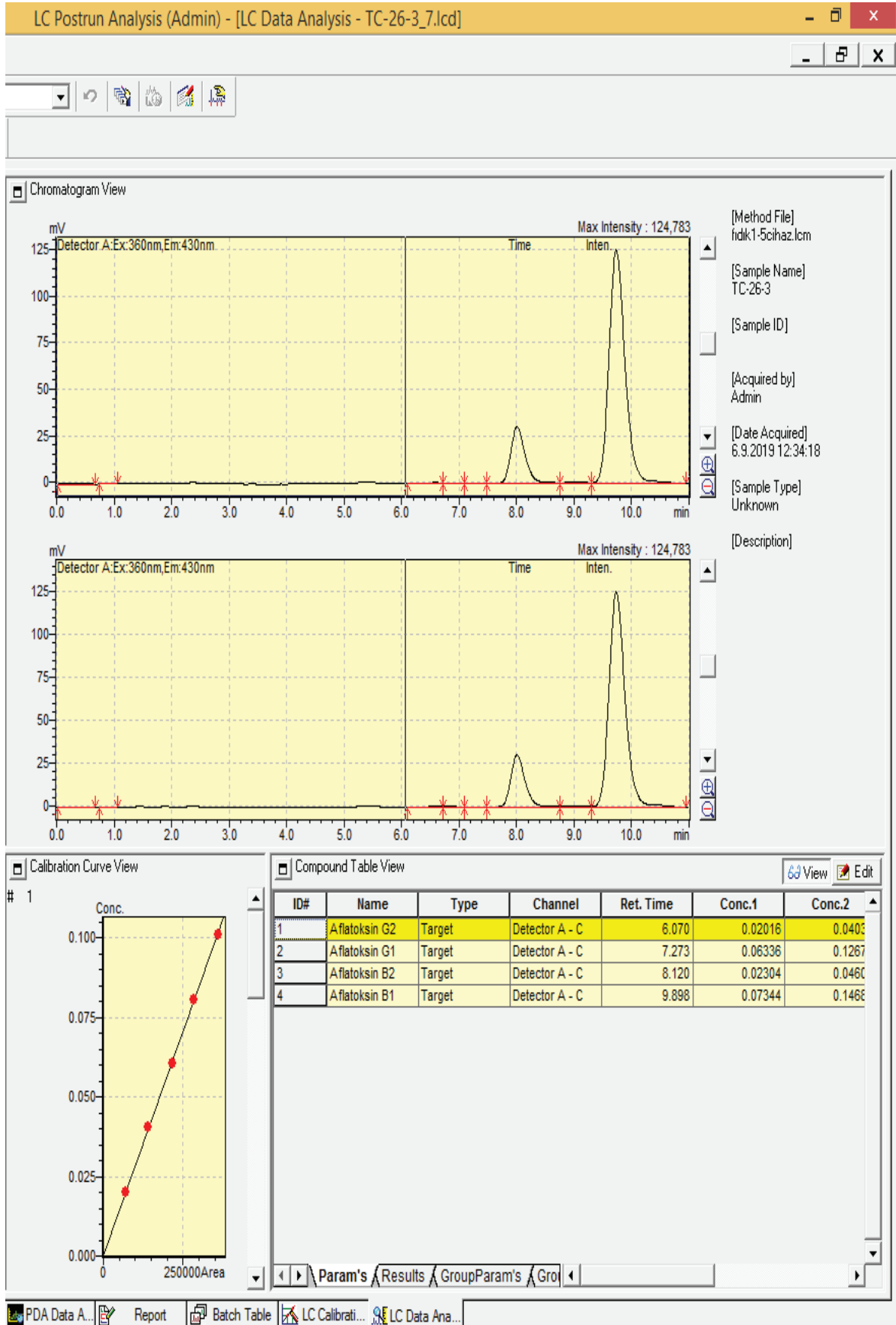
Ek Şekil 7.75. TC-25-3 numunesi kromatogramı



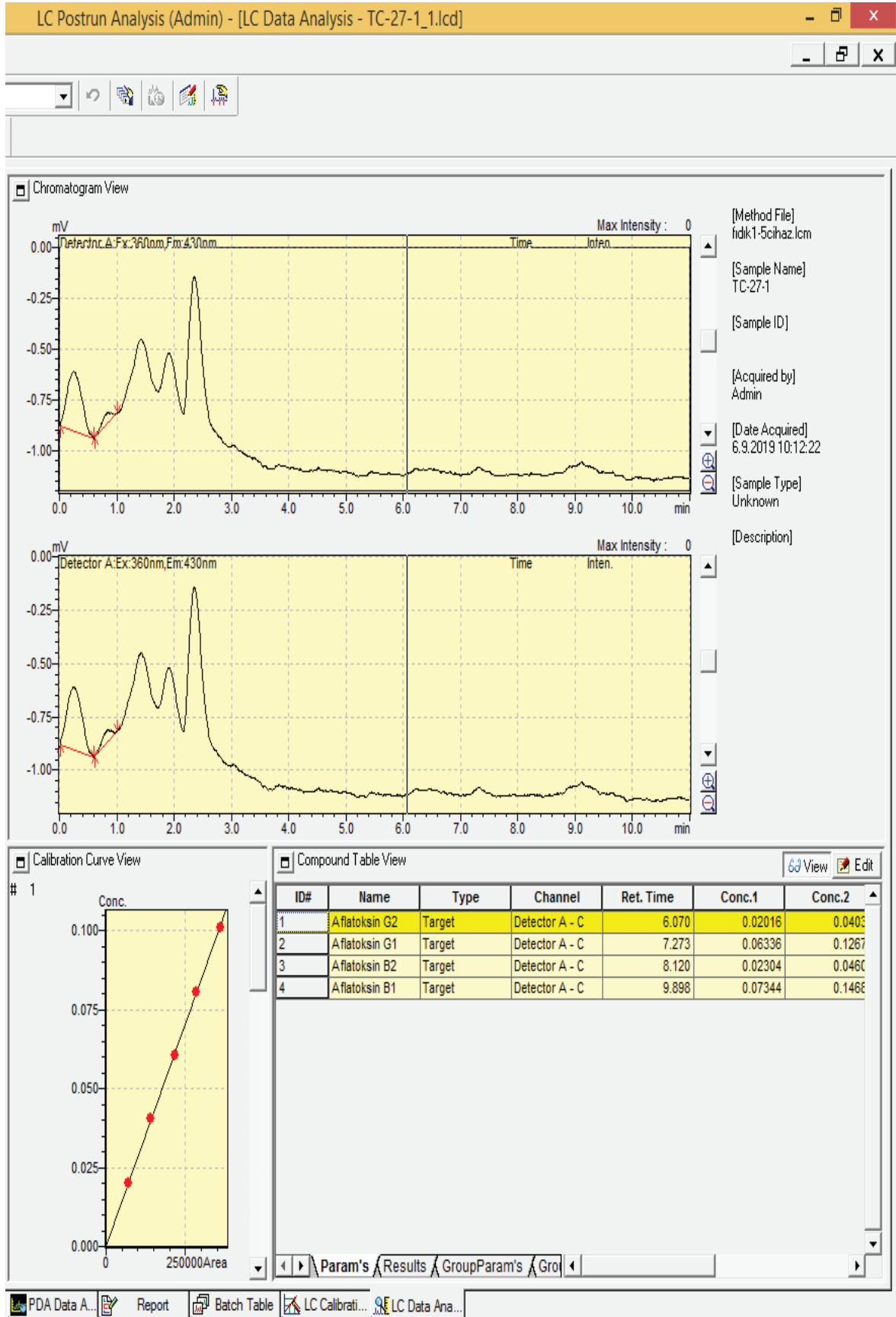
Ek Şekil 7.76. TC-26-1 numunesi kromatogramı



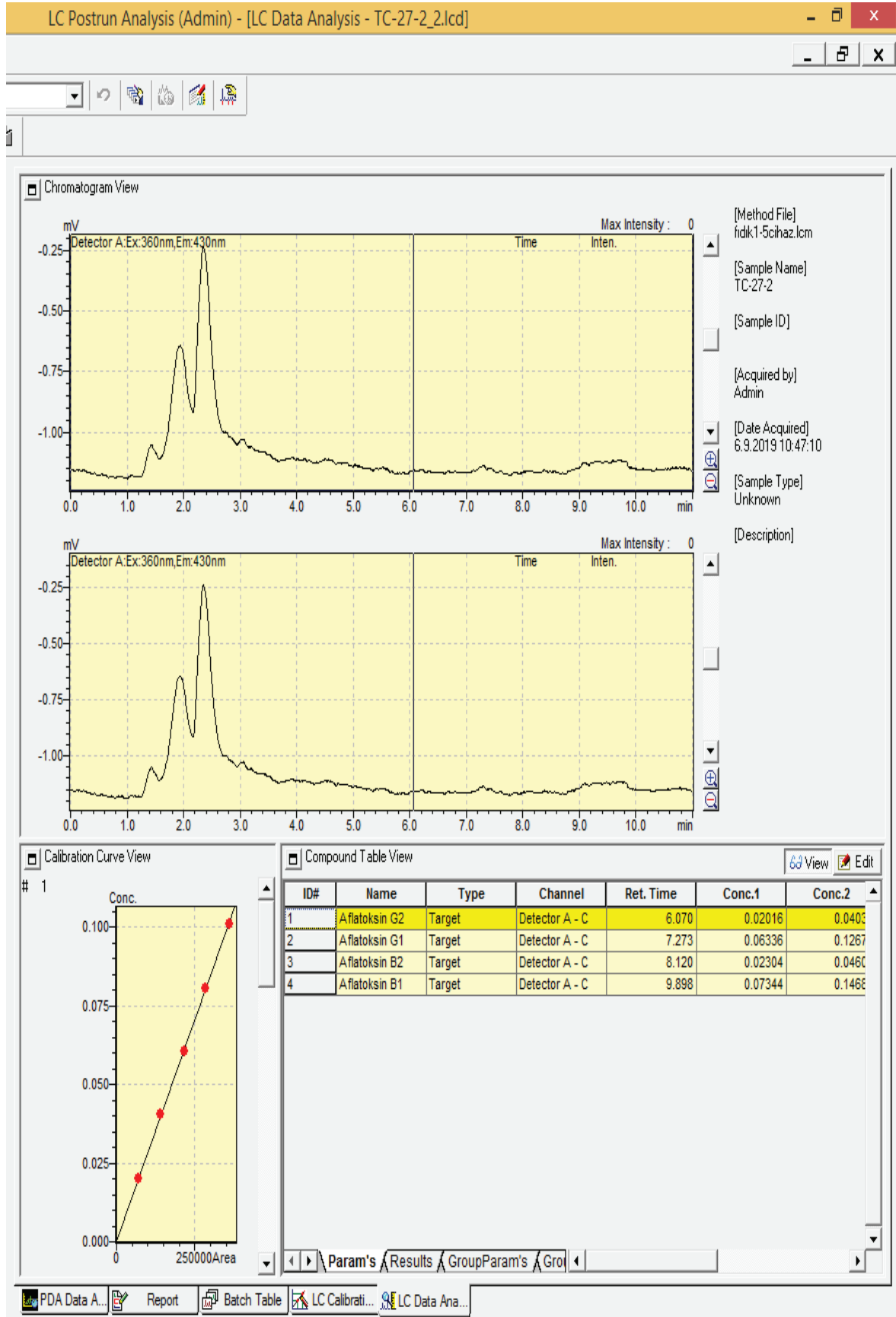
Ek Şekil 7.77. TC-26-2 numunesi kromatogramı



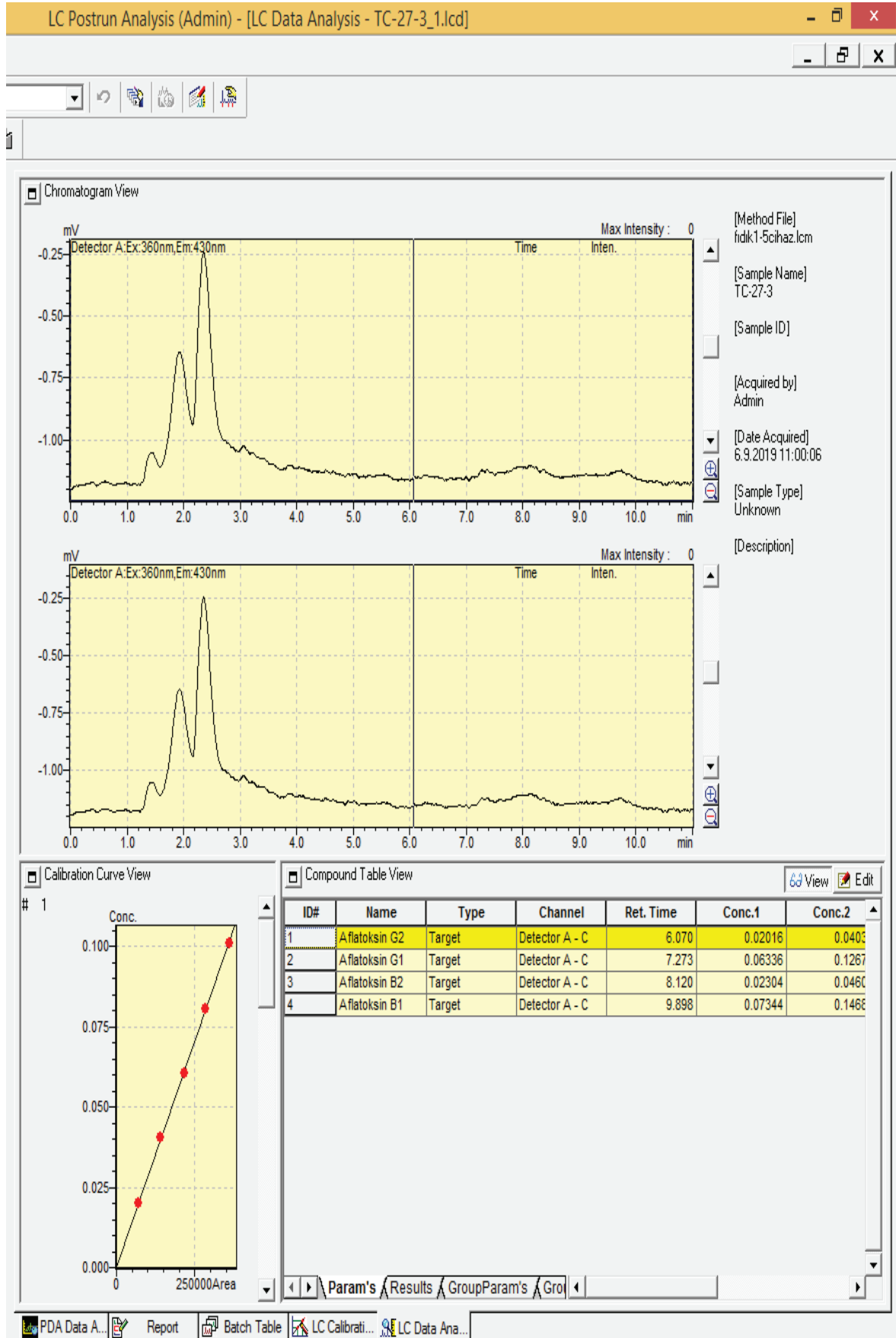
Ek Şekil 7.78. TC-26-3 numunesi kromatogramı



Ek Şekil 7.79. TC-27-1 numunesi kromatogramı



Ek Şekil 7.80. TC-27-2 numunesi kromatogramı



Ek Şekil 7.81. TC-27-3 numunesi kromatogramı

ÖZGEÇMİŞ

Nazife Gül ÇAĞLAR 07.09.1982 yılında Samsun’ da doğdu. İlk öğretimini Terme/Samsun Yahya Kemal İlkokulunda, orta öğrenimini Terme Orta Okulunda ve lise öğrenimini 2000 yılında Terme Lisesinde tamamladı. 2004 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümünden mezun oldu. 2004-2009 yılları arasında çeşitli özel gıda işletmelerinde çalıştıktan sonra Kasım 2009 tarihinden itibaren Tarım ve Orman Bakanlığı Taşra Teşkilatında mühendis olarak görev yapmaktadır. 2017 yılında Gümüşhane Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitime başladı.