



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

PİYASADA SATIŞA SUNULAN KAHVALTILIK GEVREKLERDE
LC-MS/MS YÖNTEMİ İLE MİKOTOKSİN TAYİNİ

GUNASH BUDAGOVA

DANIŞMAN
DOÇ. DR. KARLO MURATOĞLU

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ
TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL-2022

İTHAF

Annem ve Babama ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam süresince bana değerli görüş ve bilgileriyle yol gösteren, çalışmamın değerlendirilmesinde katkıda bulunan hocam Sayın Doç. Dr. Karlo Muratoğlu'na, Eğitimim için her türlü fedakarlığı gösteren, hayatım boyunca desteklerini ve sevgilerini hissettiğim değerli aileme teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2021-35805.



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ	IX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	XI
ABSTRACT.....	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kahvaltılık Gevrek.....	4
2.2. Mikotoksinler.....	8
2.2.1. Aflatoksinler.....	10
2.2.2. Okratoksin.....	13
2.2.3. Fumonisin.....	15
2.2.4. Sitrinin.....	16
2.2.5. Zearalenon (ZEA)	18
2.2.6. Triketesinler	19
2.2.6.1. Deoksinivalenol (DON)	19
2.2.7. HT 2 ve T2 Toksini.....	20
2.3. Mikotoksinlerin Yasal Limitleri	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. Kahvaltılık Gevreklerin Temini.....	23
3.2. Kahvaltılık Gevreklerde UV Lamba ile Mikotoksin Muayenesi	23
3.3. LC/MS-MS Yöntemi ile Mikotoksin Analizi	23
3.3.1. Kullanılan Alet Ekipman	25
3.3.2. Kullanılan Kimyasallar	25
3.3.3. Örneklerin Hazırlanması	25
3.3.4. Örneklerin Ekstraksiyonu	26

3.3.5. LC/MS-MS Analiz.....	26
3.3.5.1. HPLC Analiz.....	26
3.3.5.2. MS Analiz	26
3.3.6. Hesaplama.....	28
4. BULGULAR.....	29
4.1. Kahvaltılık Gevreklerde UV Lamba ile Mikotoksin Muayene Sonuçları	29
4.2. LC/MS-MS Yönteminde Geri Kazanım Çalışmaları.....	29
4.3. Kalibrasyon Eğrileri.....	30
4.4. LC/MS-MS Yöntemi ile Mikotoksin Analiz Sonuçları	34
5. TARTIŞMA	37
KAYNAKLAR	41
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	52
ÖZGEÇMİŞ	53

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1 Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansına göre mikotoksinlerin insan sağlığı açısından oluşturdukları risk düzeylerine göre gruplandırılması.....	10
Tablo 2-2 Aflatoksinlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri	11
Tablo 2-3 Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde kahvaltılık gevreklerde belirlenen maksimum mikotoksin limitleri.....	22
Tablo 3-1 Toplanan ürünlerin dağılımı.....	24
Tablo 3-2 Gradient Akış Programı	26
Tablo 3-3 MS-MS İyon geçişleri	27
Tablo 4-1 Tahıl ve tahıl içerikli ürünlerde multitoksin analizinde geri kazanım sonuçları	29

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1 Aflatoksin B1'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2-2 Aflatoksin B2'nin 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2-3 Aflatoksin G1'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2-4 Aflatoksin G2'nin 2 ve 3 boyutlu Kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2-5 Aflatoksin M1'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2-6 Aflatoksin M2'nin 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2-7. Okratoksin A bileşeninin kimyasal formülasyonu.....	14
Şekil 2-8 Fumonisin B1'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2-9 Sitrinin'in kimyasal yapısı	17
Şekil 2-10 Zearalenon'un kimyasal yapısı.....	18
Şekil 2-11 Deoksinivalenol'un kimyasal yapısı	20
Şekil 2-12 T- 2 toksininin kimyasal yapısı	20
Şekil 2-13 HT-2 toksininin kimyasal yapısı	21
Şekil 3-1 LC/MS-MS Cihazı	28
Şekil 4-1 Aflatoksin B1 kalibrasyon eğrisi.....	30
Şekil 4-2 Aflatoksin B2 kalibrasyon eğrisi.....	30
Şekil 4-3 Aflatoksin G1 kalibrasyon eğrisi.....	31
Şekil 4-4 Aflatoksin G2 kalibrasyon eğrisi.....	31
Şekil 4-5 Okrataoksin A kalibrasyon eğrisi.....	31
Şekil 4-6 Zearalenon kalibrasyon eğrisi	32
Şekil 4-7 Deoksinivalenol kalibrasyon eğrisi	32
Şekil 4-8 Fumonisin B1 kalibrasyon eğrisi.....	32
Şekil 4-9 Fumonisin B2 kalibrasyon eğrisi.....	33
Şekil 4-10 HT 2 Toksin kalibrasyon eğrisi.....	33
Şekil 4-11 T 2 Toksin kalibrasyon eğrisi.....	33
Şekil 4-12 Sitrinin toksini kalibrasyon eğrisi	34
Şekil 4-13 Pozitif bir örnekte Fumonisin B1 kromotogramı	35
Şekil 4-14 Pozitif bir örnekte Fumonisin B2 kromotogramı	35
Şekil 29 Pozitif bir örnekte Aflatoksin B1 kromotogramı.....	36

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AF	Aflatoksin
AFB 1	Aflatoksin B1
AFB2	Aflatoksin B2
AFG1	Aflatoksin G1
AFG2	Aflatoksin G2
CIT	Citrinin
DON	Deoxynivalenol
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FB1	Fumonisin B1
FB2	Fumonisin B2
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HT-2	HT-2 toksin
IARC	Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
LC-MS/MS	Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi
LOD (Limit of detection)	Tespit limiti
LOQ (Limit of quantification)	Miktar sınırı
OTA	Okratoksin
T-2	T-2 toksin
TGK	Türk Gıda Kodeksi
ZEA	Zearalenon

ÖZET

Budagova, G. (2022). Piyasada Satışa Sunulan Kahvaltılık Gevreklerde LC-MS/MS Yöntemi ile Mikotoksin Tayini. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Batı kültüründe sabah kahvaltılarında önemli bir alternatif olarak yer alan kahvaltılık gevrekler son yıllarda ülkemizde de giderek artan şekilde tüketilmeye başlamıştır. Düşük su aktiviteleriyle kuru gıdalar kapsamında düşük mikrobiyolojik riskli gıdalar olarak değerlendirilen bu ürünlerin tahıl, kuru meyve ve kakao gibi bileşenleri nedeni ile gıda güvenliği riskleri içermesi olası görülmektedir. Biyolojik kökenli bir kimyasal olan mikotoksinler bu risklerin en önemlilerinden biridir. Halk sağlığı açısından özellikle kanser gibi kronik hastalıklara, karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluklarına yol açabilecek mikotoksinlerin bu gıdalarda bulunması, bu ürünlerin tüketici profilinin de çocuklar ve gençlerde yoğunlaşması sebebiyle daha önemli hale gelmektedir. Kahvaltılık gevreklerde tespit edilebilecek mikotoksin çeşitleri ilerleyen hayat dönemlerinde ortaya çıkabilecek sağlık problemlerinin potansiyel kaynağı olabileceği düşünülmektedir. Bu manada, ülkemizde çeşitli perakende ve pazar yerlerinde satışa sunulan yerli ve ithal kahvaltılık gevreklerin, ürün içeriklerinin değerlendirilerek mikotoksin analizleri yapılması amaçlanmıştır. HPLC-MS/MS teknikleri, kolaylığı, yüksek hassasiyeti ve doğruluğu nedeniyle kullanılan akredite bir metot olup, Toplam Aflatoksin (B1+B2+G1+G2), Aflatoksin B1, Okratoksin, Zeralenon (ZEA), Deoksinivalenol (DON), Fumonisin B1, Fumonisin B2, Sitrinin, HT-2 ve T-2 toksinleri analizleri için çalışmamızda kullanılmıştır. Sonuç olarak toplanan 100 örneğin 1'inde Toplam aflatoksin ve AFB1 saptanmış olup bu değerlerin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirtilen limitleri aştığı, 6 adet örnekte (%) ise Fumonisin saptanmış olup, saptanan örneklerin hiçbirinin yasal limitleri aşmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kahvaltılık gevrek, Mikotoksin, Aflatoksin, Fumonisin, LC/MS-MS

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2021-35805.

ABSTRACT

Budagova, G. (2022). Determination of Mycotoxins in Breakfast Cereals Saled in the Markets by LC-MS/MS Method. İstanbul University-Cerrahpasa, Institute of Graduate Studies, Dept. of Food Hygiene and Technology. Master Thesis. İstanbul.

Breakfast cereals, an essential alternative to breakfast in Western culture, have been increasingly consumed in our country in recent years. These products, considered low microbiological risk foods within the scope of dry foods with their low water activities, are likely to contain food safety risks due to their components such as cereal, dried fruit and cocoa. Mycotoxins, a chemical of biological origin, are one of the most important of these risks. In terms of public health, the presence of mycotoxins in these foods, which can cause chronic diseases such as cancer, liver and kidney function disorders, becomes more important because the consumer profile of these products is concentrated in children and young people. The types of mycotoxins detected in breakfast cereals are thought to be a potential source of health problems that may occur in later life. In this sense, it is aimed to make mycotoxin analyzes by evaluating the product contents of domestic and imported breakfast cereals offered for sale in various retail and marketplaces in our country. HPLC-MS/MS technique is an accredited method used due to its ease, high sensitivity and accuracy. Total Aflatoxin (B1+B2+G1+G2), Aflatoxin B1, Ochratoxin, Zearalenone (ZEA), Deoxynivalenol (DON), Fumonisin B1, Fumonisin B2, Citrinin, HT-2 and T-2 toxins were used in our study for analysis. As a result, Total aflatoxin and AFB1 were detected in 1 of the 100 samples, and these values exceeded the limits specified in the Turkish Food Codex Contaminants Regulation, Fumonisin was detected in 6 samples (6%), and it was determined that none of the detected samples exceeded the legal limits.

Key Words: Breakfast cereal, Mycotoxin, Aflatoxin, Fumonisin, LC/MS-MS

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. TYL-2021-35805.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Beslenme alışkanlıklarımız şehirleşen toplumun ihtiyaçlarına bağlı olarak zaman içerisinde önemli değişimler göstermiştir. Küresel kültürün etkileriyle daha evvel sofralarımızda yer almayan birçok gıda, hazırlanması kolay, ucuz ve doyurucu olmaları nedeniyle öğünlerimizde boy göstermeye başlamıştır. Geleneksel öğünlerin besleyici gıdaları yerlerini yavaş yavaş hazır gıdalara bırakmıştır. Bu bağlamda kahvaltılık gevrekler de sabah öğünlerinde giderek artan bir şekilde kendilerine yer bulmaya başlamıştır.

Besin değerleri kahvaltı öğününün ihtiyaçlarını karşılama açısından göreceli olarak yetersiz görülen kahvaltılık gevreklerin, içermesi muhtemel riskler açısından değerlendirilmesi ise önemli bir zorunluluktur. Süreklilik arz eden tüketimlerin ortaya çıkarabileceği tehlikeleri risk analizleri ile ortaya koymak gerekmektedir. Bu bağlamda mikotoksinler önemli biyolojik kaynaklı riskler olarak tahıl, kakao ve kuru meyve içeren bu ürünlerde ön plana çıkmaktadır. Özellikle gelişim dönemindeki çocukların beslenme alışkanlıklarına girecek olan bu ürünlerin uzun vadede bireylerin çeşitli organ ve dokularında akümülyasyona ve/veya diğer toksik unsurlarla sinerjik etkileşime sebep olarak kronik rahatsızlıklara yol açması muhtemeldir.

Kahvaltılık gevrekler yulaf, buğday, mısır, pirinç, veya bunlar gibi tahılların karışımından oluşan ve kompleks karbonhidratları içeren kahvaltılık alternatifi üründür. Tahıl grubuna ait bu tip gıdalar; yağ asitlerini, mineralleri, B ve E gibi vitaminleri, doğal bitkisel kimyasalları, nişasta ve proteinleri dengeli oranda içerirler. İçlerinde bulunan aroma maddeleri ve tatlandırıcılar ile lezzet yönünden birbirinden ayrılan bu gıdaların enerji değerleri ise oldukça değişkenlik göstermektedir (Foster-Powell ve ark. 2002; Joy ve ark. 2016; Arise 2021).

Kahvaltılık tahıllar tüketimden önce ısıtma veya pişirme işlemi yapılması gereken geleneksel (sıcak) tahıl ürünleri ile paketinden çıkarıldığında süt ilavesi ile tüketilebilen tüketime hazır tahıl ürünleri olmak üzere iki grup halinde satışa sunulmaktadır. Ülkemizde son yıllarda kahvaltıya alternatif olarak tüketimi artan bu gıdalar 1998’de tüm Türkiye’de 400 ton satış rakamındayken, 2017’de bu rakam 14.500 ton olarak gerçekleşmiştir. Yıllık kişi başı tüketim miktarı ise bu süre içerisinde 7 gramdan 200 grama yükselmiştir. Türkiye’deki hanelerin %43’ünde kahvaltılık gevrek görmek

mümkün hale gelmiştir (Durukan 2017). Bu sebeple bu ürün grubunu mercek altına alıp detaylı bir şekilde incelemek önemli bir hale gelmiştir.

Mikotoksinler, Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından insan sağlığı açısından oluşturdıkları risk düzeylerine göre kategorize edilmiştir (Tablo 1). Bu değerlendirmede, Aflatoksinler, kanserojen (Grup 1) olarak sınıflandırılmıştır (IARC 2002). Aflatoksinler arasında en yüksek toksisiteye sahip olanı, aflatoksin B1'dir. Aflatoksin B1'in primer karaciğer kanserinin en güçlü faktörü olduğu düşünülmektedir (IARC 2002; Büyüğünal ve Persil Özman 2017). *A. flavus* aflatoksin B1 ve B2'yi üretirken, *A. parasiticus* B1 ve B2'nin yanı sıra G1 ve G2 toksinlerini de üretmektedir. (Jay ve ark. 2008). Günümüze kadar varlığı tespit edilen 15 çeşit fumonisinden, en iyi bilinenleri FB1, FB2, FB3, FB4, FA1, FA2 ve FA3 toksinleridir (Büyüğünal ve Persil Özman 2017). Ülkemizde, işlenmemiş tahıllarda fumonisin B1 (FB1) ve fumonisin B2 (FB2) toksinleri izlenmektedir. Yapısal benzerlik gösteren bu iki toksin, diğer mikotoksinlerden farklı olarak suda çözünür ve birçok mikotoksin gibi sıcaklığa oldukça dayanıklıdır. Fumonisin B1 ve B2, IARC tarafından 2B sınıfı (potansiyel) kanserojen olarak sınıflandırılmıştır (Büyüğünal ve Persil Özman 2017; IARC 2002). Zearalenon (ZEA), Deoksinivalenol (DON) ve T-2, kanserojen olduklarına dair yeterli kanıt olmadığı için IARC tarafından Grup 3 olarak değerlendirilmektedir (IARC, 1993c). 5 farklı tipi olan Zearalenon genellikle *F. graminearum* ve *F. tricinctum* tarafından üretilir (Büyüğünal ve Persil Özman 2017). Bir östrojen olan 17 β -oestradiol'e yapısal olarak benzeyen bu mikotoksinin tüketimine bağılı olarak östrojen seviyelerinde değişimlere, ikincil cinsiyet karakterlerinde baskılanmalara ve farklılaşmalara yol açtığı ve üreme bozukluklarına sebep olduğu saptanmıştır (Minervini ve Dell'Aquila 2008; Tatay ve ark. 2013). Kusmaya sebep olması nedeniyle aynı zamanda vomitoksin olarak da adlandırılan, deoksinivalenol (DON), potansiyel toksisitesi sebebiyle gıda ve yemlerde sıkça takip edilen bir başka mikotoksindir. Moleküler seviyede, protein sentezini inhibe etmek yoluyla hücre fonksiyonlarına zarar verir (Petska ve Smolinski 2005). Aynı zamanda hayvanlarda barsak ve bağışıklık sistemi problemlerine de sebep olabilmektedir (Byrden 2012).

Küfler ve mikotoksinler tahıllarda heterojen dağılım gösterdiğinden örnekleme ve homojenizasyon işlemleri mikotoksin analizlerinde büyük önem taşımaktadır. Analizler için öncelikle örnekler iyi bir şekilde homojenize edilir. Ardından ekstraksiyon ve

ekstraktın içinden toksinin saflaştırılması basamakları gelir. (Köppen ve ark. 2010). Ekstraksiyonda mikotoksinin özellikleri ve çözünürlüğüne göre değişik oranlarda, çözücüler ve/veya karışımları kullanılabilir (Krska ve ark. 2008; Turner ve ark. 2009). Ekstraksiyon safhasında analiz edilmek istenen toksinle beraber ekstrakte olan gıda bileşenleri, bulaşanlar ve kalıntılar kromatografik analizde toksinin tespitini zorlaştırmakta ve tespit sınırının (LOD) yükselmesine neden olmaktadır. Bu nedenle sıvı-sıvı ayırması, katı-faz ekstraksiyonu (solid-phase extraction, SPE), jel permeasyon kromatografisi veya immünoafinite (IMA) kromatografisi gibi teknikler kullanılarak ham ekstraktların saflaştırılması gerekmektedir (Köppen ve ark. 2010). Sıvı kromatografisi - kütle spektrometresi (LC-MS/MS) yöntemi ile aynı anda çok sayıda toksinin analiz edilebilmesi için C18 kolonlar ile saflaştırma yapılmaktadır. C18 kolonlar daha az spesifiktir ve bu özelliği sayesinde aynı anda çok sayıda toksinin analizine imkan vermektedirler (Köppen ve ark. 2010).

Son yıllarda mikotoksin analizlerinde HPLC'nin dedektör olarak kütle spektrometresi (MS) ile birlikte kullanımı yaygınlaşmıştır. Elektrosprey iyonizasyon (ESI) veya atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon (APCI) arayüzlerini kullanan HPLC-MS/MS teknikleri, kolaylığı, yüksek hassasiyeti ve doğruluğu nedeniyle en çok tercih edilen yöntemler haline gelmiştir. Bu yöntemlerle kompleks matrislerde, farklı kimyasal gruplara dahil toksinlerin analizi aynı anda ve türevlendirmeye gerek kalmadan yapılabilir (Köppen ve ark. 2010).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kahvaltılık Gevrek

Kahvaltılık gevrekler “insan tüketimi için işlenmiş tahıllar” olarak tanımlanmıştır. (Fast 1987). Kahvaltılık gevrekler buğday, pirinç, mısır ve yulaf gibi işlenmiş tahıllardan oluşan gıdalardır. Besin değerleri yağ asitleri, mineraller, B vitaminleri, E vitamini, bazı fotokimyasallar, nişasta ve proteinden oluşmaktadır. Kahvaltılık gevrekler hem lif kaynağı hem de besin değerinin zenginliğinden dolayı kahvaltı için sağlıklı alternatiftir (Thomas ve ark. 2013). Gevrekler süt veya yoğurt ile tüketildiğinde vitaminler ve mineraller açısından yeterli ve dengeli bir seçenek olur (Sepek 2016).

Kahvaltılık gevreklerin içerdiği, zengin karbonhidrat ve lifin; kan şekerini dengelemek, kandaki yağ oranını dengelemek, sindirim sistemini düzenleyerek uzun süre dinç ve tok hissetmeyi sağlamak gibi insan sağlığına birçok faydası vardır (Morgan ve ark. 1986). Fakat, zayıflamak için gün boyu gevrekle beslenmek sağlığa zararlıdır. Özellikle hayvansal protein yetersizliği görülebilir. Kas kaybı ve anemi sağlık sorunları oluşabilir. Paketli ürün olması ve birçok katkı maddesi içermesi aslında kahvaltılık gevreklerin geleneksel kahvaltı alışkanlıklarımızın yerine geçmesini önleyen en büyük nedenlerdendir (Sepek, 2016).

Kahvaltılık gevrekler geleneksel yöntem ve ekstrüzyonla pişirme yöntemi olmak üzere 2 yöntem ile üretilmektedir.

Geleneksel yöntem de esas aşama pişirmedir. Tahıl ürünleri saatlerce pişirme aşamasından geçirilmektedir. Yüksek enerji tüketimine ve iş yüküne rağmen, dünyanın birçok ülkesinde hala bu üretim tekniği tercih edilmektedir. Bu teknikte en önemli faktör geleneksel ve pahalı ekipmanlarla tanelerin lezzetini, rengini ve dokusunu koruma yeteneğidir (Fast ve Caldwell 2000).

Kahvaltılık gevrekler, atıştırmalıklar vs. bunun gibi birçok alanda ürün üretilmesinde kullanılan ekstrüzyon yöntemi üretici açısından oldukça popüler olan bir işlem türüdür. Ekstrüzyonla pişirme işlemi nişasta ve protein bazlı karışımların silindirik bir kanal içerisinde dönen vida yardımıyla oluşturulan mekanik kayma gerilimi, yüksek basınç ve sıcaklık altında pişirilerek şekil verilmesi işlemidir. Üretim maliyetinin düşük, verimliliğinin yüksek olması ile seçilen işlemidir. Ekstrüzyon yöntemi kullanarak bir ürünü değiştirme veya geliştirme hızlı ve çok daha az çaba ile yapılabilir. Ürünün

çeşitliliğini sağlayan bu işlem, karıştırma, homojenizasyon, şekil verme ve pişirme gibi birçok fonksiyonu aynı anda gerçekleştirir. Bu işlem türü özellikle mısır, buğday ve pirinç bazlı ürünlerin üretilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Guy 2001; Estrada-Girón ve ark. 2015).

Kahvaltılık Gevreklerin Üretim Aşaması

- 1. Karıştırma:** Kabağı soyulmuş taneler, gevrekleştirme işleminden önce şeker, malt, tuz ve su içeren solüsyonlarla karıştırılır.
- 2. Pişirme:** Tatlandırıcı solüsyon ile karıştırılan hammadde kesikli çalışan pişiricilere gönderilerek pişirilir. Karışımın homojen şekilde pişilmesi için pişirici içerisinde 4–5 kez döndürülür. Karışımın uygun şekilde piştiği, içerisine parmakla bastırıldığında katı ve elastik bir yapı gösteren partiküllerin oluşmasından anlaşılır ve aynı zamanda taneciklerdeki nişasta jelatinize olur. Eğer pişirme işleminden sonra nişastası jelatinize olmamış taneler mevcut ise son üründe beyaz benekler meydana gelir. Daha sonra karışımı parçalamak ve tek taneler haline getirmek amacıyla topak kırma ekipmanına gönderilir (Delcour ve Hoseneý 2010; Harper 2019).
- 3. Kurutma:** Pişirme ve topak kırma işlemlerinden sonra, iri taneler kurutucuya gönderilerek 121°C’den daha düşük sıcaklıklarda ve nemi kontrol edilebilen şartlarda kurutulur. Böylece tanenin sertleşmesi önlenmiş olur (Delcour ve Hoseneý 2010).
- 4. Soğutma ve Tavlama:** Taneler çoğunlukla kurutucunun ısınmayan bölümünde uygun bir sıcaklığa kadar soğutulur. Soğutma işlemi bir sonraki aşamada tanelerin kararmasını ve kalite kaybının önlenmesini sağlamaktadır. Soğutma işleminden sonra, her bir tanenin nem içeriğinin eşit oranda dağılımını sağlamak amacıyla geniş depolarda toplanıp tavlama işlemine tabi tutulur (Delcour ve Hoseneý 2010).
- 5. Gevrek oluşturma:** Taneler geniş metal düzleştiriciler arasından geçirilir ve çok ince gevrek haline gelene kadar işlem devam eder. Buğday ve pirinç tanelerinin gevrekleştirilmesi için herhangi bir özel işleme ihtiyaç duyulmaz. Mısır tanelerinin ise düzleştiriciler tarafından kavranıp diğer tarafa geçmesi için buharda pişirme işlemine ihtiyaç duyulur (Delcour ve Hoseneý 2010).
- 6. Kızartma:** Gevrekler, sıcak buhar içerisinde askıda tutularak kızartılır (Delcour ve Hoseneý 2010).

Tahıldan üretilen kahvaltılık gevrekler; tüketime hazır tahıllar ve pişirmeye hazır tahıllar olmak üzere iki grupta sınıflandırılmaktadır. Tüketime hazır tahıllar; tahıl gevrekleri, şişirilmiş tahıllar, parçalanmış tahıllar, granüllü tahıllar, ekstrüde edilmiş tahıllardan; pişirmeye hazır tahıllar ise, yulaf ezmesi, buğday unu ve mısır kırmasından oluşmaktadır.

Şişirilmiş tahıllar; ekstrüzyonla pişirilerek, elastik bir hamura dönüştürülen tahıl bazlı bileşenlerdir. Basınçtaki ani düşüş, suyun buharlaşmasına ve dolayısıyla kurumuş hamurun genleşmesine izin verir. Şişirilmiş ürün, gevrek dokulu bir yapıya sahiptir. Bu tür tahıl ürünleri atmosferik ortama maruz kaldığında veya süt ve diğer sıvı ortamlara batırıldığında dokuda istenmeyen değişiklikler meydana gelebilir. Tahıl kolayca nem alır, böylece su aktivitesi artar ve istenen gevrek dokusunu kaybederek ıslak hale gelir (Mogi ve ark. 1969).

Granül tahıllar, benzersiz bir işlem ile yapılan tahıl ürünüdür. Bu tahılların hazırlanmasında pullanmış yulaf, arpa ve diğer tahıl taneleri, yağ, su ve fındık vs. kullanılır. Buğday ve arpa, tuz, su, kuru maya gibi ürünlerden sert hamur yapılır. Hazırlanan hamur kontrollü koşullar altında birkaç saat saklanır ve daha sonra pişirilmek üzere bir 400°C'lik fırına aktarılır ve 2 saat pişirilir. Pişen hamur soğutulur, daha sonra parçalayıcı bıçaklarla parçalara ayrılır ve tekrar fırına verilerek 250°C'de 2 saat daha pişirilirler. Daha sonra parçalar fırından çıkarılarak küçük granüllere ayrılır (Fast 1987).

Parçalanmış tahıllar, buğdaydan ve tam tahıl tanelerinden yapılır. Parçalanmış ürünlerin hazırlanması için ilk önce tahıl taneleri temizlenir ve yumuşayana kadar suda kaynatılır. Bu süreç, pişmiş tahıllardaki nemin, işlem görmeden önce birkaç saat boyunca dengelenmesine izin verir. Taneler çelik merdaneler ile parçalara ayrılır. Silindirlerden çıkan teller, yastık şeklindeki ürünlere kesilir ve kurutulur veya fırınlanır. Bitmiş şekilli ürünler daha sonra paketlenir (Matz 1959).

Kahvaltılık gevrek çeşitleri; yulaf ezmesi, mısır gevreği, meyveli müsli, glutensiz yulaf ezmesi gibi ürünlerdir. Yulafın anavatanı Güneybatı Asya olup, Akdeniz de dahil olmak üzere farklı bölgelerde de yetiştirilmektedir. Yulaf, yüzyıllar önce Çinliler tarafından keşfedilmiştir. Birçok tarihi Çin masalında da yulaf ve yulaf ezmesinden bahsedilmektedir. Aynı zamanda Vikingler ve Antik Romalılar, güçlerini korumak için yulaf ve yulaf ezmesinden hazırlanan gıdalar tüketmişlerdir. Yulaf fosfor, magnezyum, bakır, kalsiyum, potasyum, demir, çinko, B₁, B₃, B₅ ve B₆ vitaminleri ile zengindir (Head

ve ark. 2010). Dört yemek kaşığı yulaf ezmesi, iki dilim ekmekle eş değeridir. Araştırmalar sonucunda yulafın içerdiği diyet lifleri β -glukan ve avenin maddelerinin günlük diyetle bulundurulması ile obezite, diabet, kanser, kolesterol ve kanser gibi hastalıkları önlediği belirlenmiştir (Köksel ve Özboy 1993; Çağındı 2009; Yaver ve Ertaş 2013). Yulaf ezmesi; hücrelere enerji taşınmasında, dokulara oksijen transferinde rol almakla beraber, kalp ve beyin aktivitelerini destekler, içeriğindeki Omega-3 ve linoleik asitler sayesinde kötü kolesterolü azaltır, kan şekeri seviyesini kontrol altında tutar, sindirimi kolaylaştırarak, kabızlığı önler, karbonhidrat içeriği sayesinde açlık hissini bastırır (Truswell 2002; Singh ve ark. 2013). Yulaf tanelerinde gluten miktarı, diğer tahıllarla karşılaştırıldığında daha düşük seviyededir. Bu nedenle glutensiz gıda olarak değerlendirilmektedir. Glutene duyarlılığı olan hastalarda (çölyak hastalığı) yulaflı gıda kullanıldığında herhangi bir zarar rastlanılmadığı ileri sürülmüştür (Picarelli ve ark. 2001)

Mısır gevreği, maltın kızartılarak yapılmasından oluşan kahvaltılık gıdadır. Tahıl tohumlarının çimlendikten sonra bitki oluşmadan kurutulması işlemine maltlama adı verilmektedir. Mısır gevreklerinin karamelli, kakaolu, çikolatalı, ballı, fındıklı, meyve parçalı gibi birçok çeşidi vardır (Kaplan 2008). Mısır gevreği; kan şekerini düzenlemeye yardımcı olur, bol miktarda karbonhidrat ve lif içerdiğinden tok hissettirir ve sindirim sistemine iyi gelir, yağ oranının dengelenmesini sağlar, kalp ve damar sağlığını korur (Davy ve ark. 2002; Karmally ve ark., 2005).

Birçok tahıl, kuruyemiş, kuru meyve ve çeşitli tohumlardan oluşan kahvaltılık gevreğe “müsli” adı verilmektedir. Müsli, lif açısından ve omega-3 yağ asitlerinden zengin bir gıdadır. Başlıca yararları, sindirim sistemine yardımcı olmaları, kilo vermeyi kolaylaştırmaları ve kolesterolü dengelemeleridir. Müslinin içerisinde bulunan tahıllar ve kuruyemişler probiyotik etki göstermektedir, bu sayede hastalıklara karşı direnci arttırırlar (Guo ve Beta 2013).

Gıda maddeleri, hasat öncesi ve depolama anında, özellikle aşırı nemli ve kötü koşullarda hazırlandığında, küfler ile kontamine olabilmektedir (Piotrowska 2013). Bu nedenle kontamine tahıllardan hazırlanan ve son yıllarda da sevilerek tüketilen kahvaltılık gevrek gibi ürünlerde mikotoksin oluşup halk sağlığı için riskli olabilmektedir. Tahıl tanelerinde yaygın olarak bulunan mikotoksinler, bunlardan elde edilecek olan gıdaların işlenmesi sırasında yok edilmez ve dolayısı ile son ürünlerin kontaminasyonuna yol açabilir. Tahıl taneleri ve bunlardan elde edilen son ürünler, kuruyemişler, kuru meyveler,

baharatlar, et, süt, şarap, bira, bebek maması ve bebek mamaları dahil olmak üzere kontamine gıda maddelerinin tüketilmesi, mikotoksinlere en sık maruz kalma yollarından biri olduğu bildirilmiştir (Turner ve ark. 2012).

2.2. Mikotoksinler

Heterotrofik ve saprofitik özelliklere sahip küfler doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Sporadik, aerobik ve çok hücreli olarak gruplandırılan yaklaşık 300-350 küf türü mevcuttur. (Deshpande, 2002). Bu küflerden bazıları patojen, diğerleri ise gıda endüstrisinde kullanılan küflerdendir. Patojen olan küfler, insanlar ve hayvanlar üzerinde genotoksik, kanserojen veya teratojen etkili metabolik ürünler üretirler. Küflerin oluşturduğu bu metabolik ürünlere “mikotoksin” adı verilmektedir (Jay ve ark. 2008).

Mikotoksinler, yüksek biyoakümülyasyon kabiliyetine sahip ısıya dirençli doğal toksik bileşiklerdir (Majeed ve ark. 2018). Mikotoksin terimi, *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. ve *Alternaria* spp. gibi bazı önemli küf türleri tarafından hasat öncesi ve/veya sonrası depolama sırasında ikincil metabolitler olarak salgılanan düşük moleküler ağırlıklı (0,3-0,7 kDa) bileşikler için kullanılmaktadır.

Literatürlere göre, tanımlanmış 300'den fazla ikincil bileşik arasında, Deoksinivalenol (DON), Okratoksin A (OTA), Zearalenon (ZEA) ve Aflatoksinler (AF'ler) en çok çalışılan mikotoksinler olarak dikkate çarpmaktadır (Gratz ve ark 2017; Oteiza ve ark. 2017; Gambacorta ve ark, 2018; Khaneghah A.M., Fakhri Y. ve ark, 2018). Bununla birlikte, Patulin, Fumonisin B1 (FB1), Fumonisin B2 (FB2) ve Sitrinin gibi diğer mikotoksinler de araştırmalar arasında göze çarpmaktadır. (Whitaker, 2006; Shephard 2009; Köppen ve ark. 2010; Oteiza ve ark. 2017).

Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO), 1985 yılında, dünya gıda üretiminin %25'inin mikotoksinlerle kontamine olduğunu bildirmiştir. Bu durum tarımsal ürün kaybına, hayvan ve süt kayıplarına, üreticinin yüksek maliyetlerine, yanı sıra sağlık giderlerinin artmasına yol açmıştır (Özkaya ve Temiz 2003).

Mikotoksin oluşumuna sebep olan faktörler vardır. Bunlar:

1. Fiziksel faktörler (nem, sıcaklık vs.)
2. Kimyasal faktörler (substratın kimyasal yapısı, karbon gazı, yapılan kimyasal işlemler vs.)

3. Biyolojik faktörler (bitki dayanıklılığı, funguslardaki genetik farklılık, bitki hastalıkları vs.) (Kielstein 1993)

Mikotoksinler gıdalara çeşitli yollarla bulaşır. Bazen gıdalarda gözle fark edilecek şekilde küflenme görülür. Bu, mikotoksinin direkt kontaminasyonuna neden olur. Bitkisel ürünlerden; tahıllarda, baklagil danelerinde, fındık, yer fıstığı, ceviz, badem, ayçiçeği tohumu vs. gibi yağlı tohumlarda ve baharatta mikotoksin kontaminasyonu direkt yolla meydana gelir. Ürün partilerinin az bir kısmında başlayan küflenme ise depolanmada mikotoksin riskini artırır. Bitkisel ürünlerde mikotoksin kontaminasyonu tarlada olgunlaşma evresinden başlayarak, hasatta, kurutma aşamasında ve depolanma evresinde meydana gelir (Bennett ve Klich 2003).

Kimyasal yapıları incelenen mikotoksinlerin çoğunun aromatik yapıda olduğu, bir kısmının ise alifatik bileşiklerden oluştuğu öğrenilmiştir. Yüksek sıcaklıklara dirençlidirler. Mikotoksinler kendilerinin sentezledikleri toksinlerden olumsuz etkilenmezler (Tunail 2000).

Mikotoksinler, Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından insan sağlığı açısından oluşturdıkları risk düzeylerine göre kategorize edilmiştir (Tablo 2-1). Bu değerlendirmede, Aflatoksinler, kanserojen (Grup 1) olarak sınıflandırılmıştır (IARC 2002). Mikotoksinlerden insan sağlığına en tehlikeli olanı aflatoksinlerdir (Atkins ve Norman 1998; Huffman ve ark. 2010).

Tablo 2-1 Uluslararası Kansere Araştırmaları Ajansı'na göre mikotoksinlerin insan sağlığı açısından oluşturdukları risk düzeylerine göre gruplandırılması.

Grup 1: İnsanlar için kanserojen ajanlar	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, AFM1	IARC 2006; 2012; <u>2019</u>
Grup 2A: İnsanlar için olası kanserojen ajanlar		
	OTA	IARC <u>1993b</u>
Grup 2B: İnsanlar için olasılığı daha düşük kanserojen ajanlar	FB1, FB2 Sterigmatocystin	IARC <u>2019</u> ; IARC, <u>2002</u> IARC <u>1987a</u>
	Fusarin C	IARC <u>1993a</u>
	DON	IARC <u>1993a</u>
	ZEA	IARC <u>1993a</u>
Grup 3: İnsanlar için kanserojen olma özelliği açısından sınıflandırılmayan ajanlar	Fusarenone X Sitritinin Patulin	IARC <u>1993a</u> IARC <u>1987b</u> IARC <u>1987b</u>
Grup 4: İnsanlar için muhtemelen kanserojen olmayan ajanlar		

2.2.1. Aflatoksinler

Aspergillus cinsi küfler, gıda ve yem bozulmalarının en önemli nedenleri arasında yer almakta ve olumsuz koşullar altında toksik sekonder metabolitler olarak mikotoksinleri oluşturabilmektedir. Aflatoksinler, yaygın olarak mısır ve yerfıstığını kontamine eden bir grup mikotoksindir ve Uluslararası Kansere Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından Sınıf 1A insan kanserojenleri altında sınıflandırılır (IARC 1993c).

Aflatoksinler ilk olarak İngiltere'deki kümes hayvanı çiftliklerinde 100.000'den fazla genç hindinin ölümünden sonra araştırılmış ve Brezilya fıstık küspesi tüketimiyle ilişkili olduğu anlaşılmıştır (Goldblatt 1969).

Aflatoksinlerin, *Aspergillus* cinsinin üç türü, özellikle *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve nadiren *Aspergillus nomius* tarafından üretildiği bilinmektedir. İnsan ve hayvanlarda hem akut hem de kronik toksisiteye neden olan, immünosupresif bir aktivite sergileyen oldukça toksik, mutajenik, teratojenik ve kanserojen bileşikleridir (Eaton ve Gallagher 1994; Massey ve ark. 1995; EFSA 2004; Meggs, 2009). B1, B2, G1, G2, M1, M2 olmak üzere 6 aflatoksin vardır (Şekil 2-2-7). Bunlar arasında aflatoksin B1 (AFB1) memelilerde bilinen en güçlü karaciğer kanserojenidir.

AFB1 ve AFB2 ultraviyole (UV) ışığı altında mavi renkli floresan veren, AFG1 ve AFG2 ise sarı yeşil renkte floresan veren birleşen olarak adlandırılmıştır (Tablo 2-2). Daha sonra, aflatoksin B içeren yemleri tüketen hayvanların sütlerinde bu toksinin bir türevinin olduğu ortaya çıkmış ve sütte bulunmasından dolayı da buna süt toksini (milk toxin) anlamında Aflatoksin M adı verilmiştir (Van Egmond 1994).

Bu türler, sıcak ve nemli iklime sahip tropikal ve subtropikal ülkelerde her yerde bulunabilirler (**CAST 1989**). Yetersiz kurutmanın bir sonucu olarak tarlada veya sonraki depolama sırasında mahsullerde aflatoksin kontaminasyonu meydana gelebilir. Tayland gibi tropik ülkelerde yetersiz depolama koşulları ve sıcak nemli ortam, yaygın toksijenik küf oluşumuna ve aflatoksin üretimine yol açarken, hasat sonrası iyi depolama tesislerinin düzenli olarak mevcut olduğu ABD'de, aflatoksin oluşumu sorunu büyük ölçüde tarım alanlarında ortaya çıktığı bildirilmektedir (Siriacho ve ark. 1991; Payne ve Widstrom 1992).

Aflatoksin 10-12°C'den 42-43°C'ye kadar olan sıcaklıklarda 2,1 ila 11,2'lik pH değerleri arasında gelişebilmektedir. Küflerin gelişmesi için optimum 24-35 °C ve nisbi nemlik %70'in üzerindedir (Gürses ve ark. 2004).

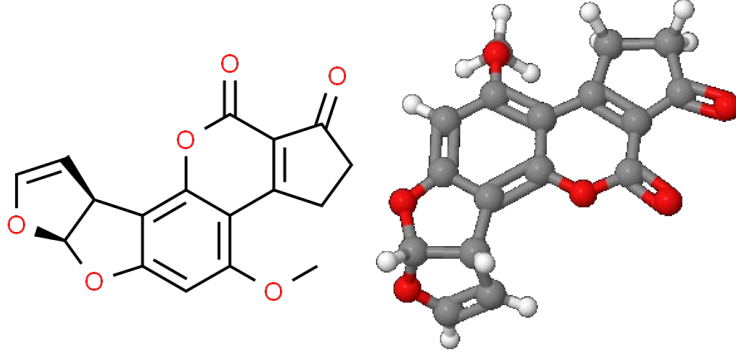
Aflatoksinler dünyada çiğ olarak tüketilen gıdalardan özellikle yerfıstığı, fındık, kakao, kahve, mısır, pirinç, buğday ve diğer tahıl ürünlerinde yaygın şekilde oluşur. Aflatoksinlerle kirlenmiş besinler insan sağlığında olumsuz etkilere yol açar (Kaya ve ark. 1995).

Tablo 2-2 Aflatoksinlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri

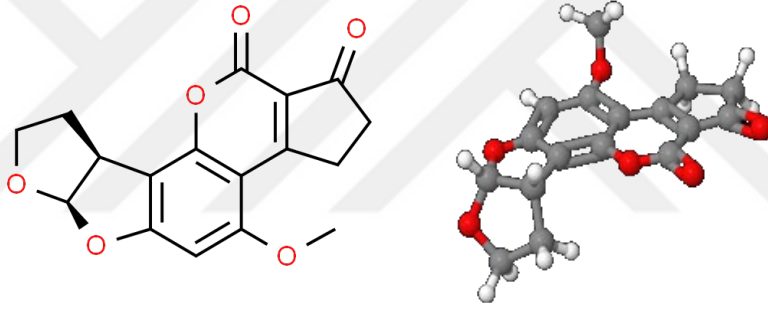
Aflatoksinler	Molekül Formülü	UV ile oluşan renk
B1	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	Mavi
B2	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	Mavi
G1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	Yeşil
G2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	Yeşil
M1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	Mavi-menekşe
M2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	Menekşe

Aflatoksin B1, en çok hasar bırakan ve toksik etkisi olan aflatoksin çeşitlerindendir. Sıcaklığı çok yüksek ve nemli olan tropik yerlerde oluşur. Özellikle kurutulma basamağında aflatoksin bulaşan ürünler ciddi zararlara sebep olur. Aflatoksin

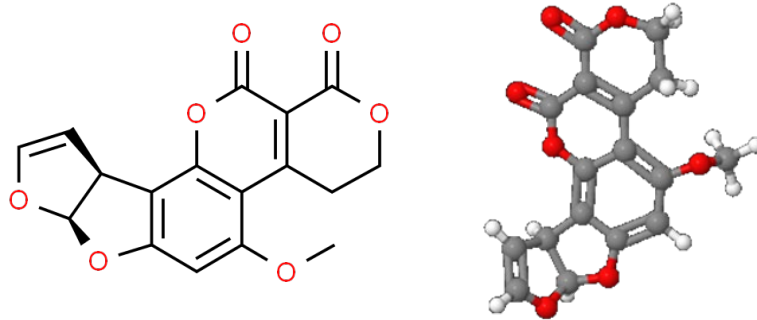
B1 proteinler ve organeller gibi bileşenler ile reaksiyona girerek normal hücresel süreçleri bozarlar. Neticede bağışıklık sisteminin baskılanması, kanserojen, teratojen ve mutajen etkiler gözlenebilir (Günaydın ve Karaca 2015).



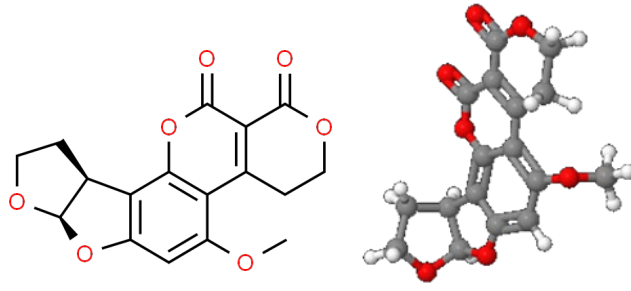
Şekil 2-1 Aflatoksin B1'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.162470.html>



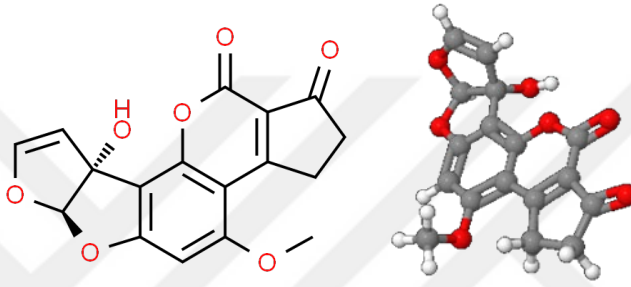
Şekil 2-2 Aflatoksin B2'nin 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2006507.html>



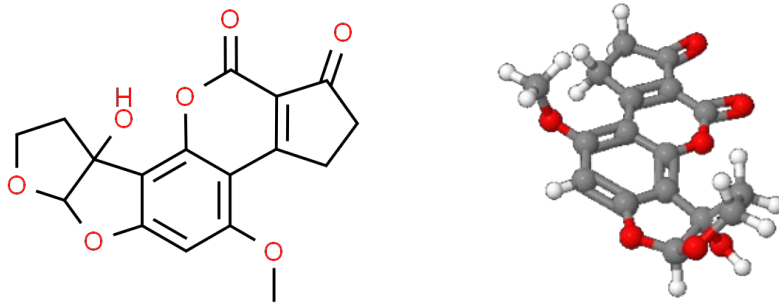
Şekil 2-3 Aflatoksin G1'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2006508.html>



Şekil 2-4 Aflatoksin G2'nin 2 ve 3 boyutlu Kimyasal yapısı
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2006509.html>



Şekil 2-5 Aflatoksin M1'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.21169428.html>



Şekil 2-6 Aflatoksin M2'nin 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.21805.html>

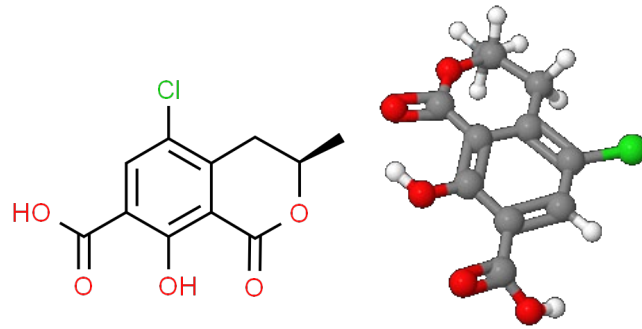
2.2.2. Okratoksin

Okratoksin A (OTA), 1960'larda aflatoksinlerle birlikte farklı ve çeşitli mikotoksikoloji bilimini başlatan, hayvanlar için toksik olan ilk küf metabolitleri grubundan biri olarak keşfedilmiştir (Van der Merve ve ark. 1965).

Bileşik yalnızca, soğuk ılıman iklimden tropik iklime kadar değişen enlemlerden dünya çapında karbonhidrat bakımından zengin tarımsal ürünlerin doğal fırsatçı biyolojik bozulma ajanları olan *Aspergillus* ve *Penicillium* küflerinin çok az türünün bazı temsilcileri tarafından biyolojik olarak üretilir.

Başlıca hububat ve baklagil tohum ürünleri özellikle risk altındadır, ancak içlerinde kahve gibi ürünlerin de olduğu çok geniş tarımsal ürünlerden de tespit edilebilmektedir.

OTA (Şekil 2-8) organik çözücülerde ve alkali suda çözünür. Yapısı başka bir nefrotoksik mikotoksin olan sitrinin'i andıran asetat türevi bir pentaketid izokumarinden biyosentezlenir. Metioninden türetilen bir karbon, aromatik halka üzerinde ikame edilir ve fenilalanin amino grubuyla bir amid bağı oluşturur. Son olarak, bir klor atomunun ikamesi, okratoksin B (OTB)'yi OTA'ya dönüştürür ve böylece tek mideli hayvan sindiriminde sadece nefrotoksini karboksipeptidazlardan korumakla kalmaz, aynı zamanda hayvan toksisitesinin ana yönünün, yani protein sentezinin inhibisyonunun ifade edilmesinde de önemli görünmektedir. Spesifik olarak bu, fenilalanin tRNA sentetaz ile ilgilidir (Mantle 2002).



Şekil 2-7. Okratoksin A bileşeninin kimyasal formülasyonu
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.97037.html>

Okratoksinler *Aspergillus* ve *Penicillium* grup küfleri tarafından oluşurlar. Okratoksinler A, B, C ve D olmak üzere dört gruba ayrılırlar. OTA doğada sık olarak bulunur. OTA, renksiz ve kristal yapıda bir bileşiktir. Organik çözücülerde (etanol ve metanol) ve seyreltilmiş sulu bikarbonat çözeltisinde çözünebilir. OTA kuvvetli bir toksik etkiye sahip olup, insanlarda böbrek hastalıklarına yol açarak ölümlere neden olur (Ayaz

ve Yurttagül 2008; Çiçek 2012). Okratoksin A'nın bütün metabolitleri ana bileşikten daha az toksik olup sıralaması OTA> OTB> OTC>OTD şeklindedir (Grupta 2012).

Okratoksin, küflerle kontamine olmuş gıdanın direk tüketimi ile veya okratoksin ile kontamine olmuş yemlerle beslenen hayvan etinin tüketimi ile insanlara geçerek "Balkan Endemik Nefropati" hastalığına neden olmaktadır (Breitholz-Emanuelsson ve ark. 1993).

2.2.3. Fumonisin

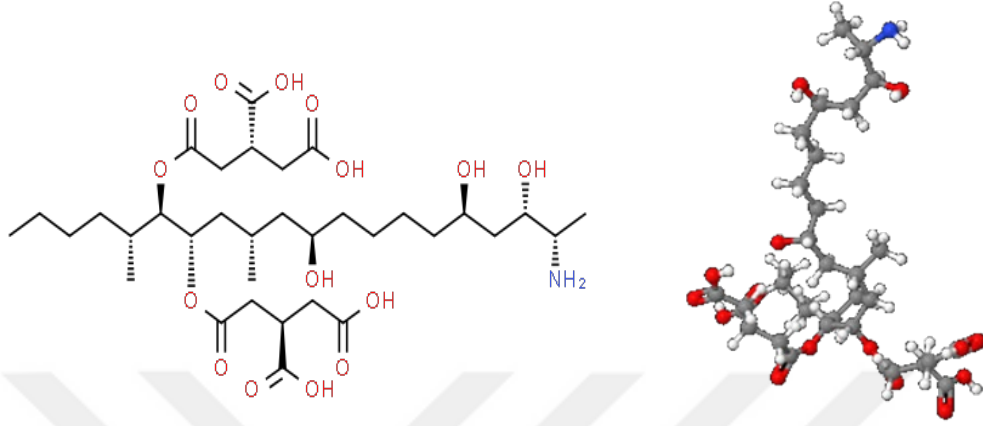
Fumonisinler, çeşitli *Fusarium* küfleri tarafından üretilen doğal olarak oluşan toksinlerdir (Şekil 2-9). Bir dizi farklı fumonisin türü bilinmektedir, ancak FB1, FB2, FB3, FB4, FA1, FA2 ve FA3 gıdalarda bulunan başlıca formlardır. Fumonisinler ilk olarak 1988'de keşfedilmiştir. Çiftlik hayvanları ve diğer hayvanlarda önemli sağlık etkilerine sahip olabilir. İnsanlarda olumsuz sağlık etkilerine ilişkin kanıtlar şu anda yetersiz olsa da, fumonisinlere maruz kalmanın kanser ve doğum kusurları gibi çeşitli ciddi olumsuz sağlık sonuçlarına katkıda bulunabileceğine dair endişeler bulunmaktadır (WHO 1998; Büyükünöl ve Persil Özkan 2017).

FB1 en yaygın olanıdır ve toksikolojik açıdan en kapsamlı şekilde çalışılmıştır. FB2, FB3 ve FB4 sırasıyla daha az yaygındır ve molekülün hidrokarbon "omurgası" üzerindeki hidroksil gruplarının sayısı ve yerleşimi açısından yapısal olarak FB1'den farklıdır (Merrill ve ark 2001).

Fusarium verticillioides, *F. proliferatum* ve *F. fujikuroi* küfleri ile daha az yaygın olan bazı *Fusarium* türleri mısırın yaygın kirleticileridir ve daha az oranda buğday ve diğer tahıllar ürünlerinde bulunurlar. En çok mısırın yetiştirildiği ılıman iklim ve sıcak tropik bölgelerde yaygındırlar (WHO 1998).

Toksinlerin karaciğer ve böbrekte rejeneratif hücre proliferasyonunu indüklemeye, hayvan modellerinde kansere yol açma potansiyeline sahip olduğu kabul edilir, ancak insanlarda buna dair hiçbir kanıt bulunmamaktadır. Bazı çalışmaların pirinçte tespit edilen FB1 kontaminasyonunun artan özofagus kanseri riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Franceschi ve ark. 1990; Sydenham ve ark. 1990; Rheeder ve ark. 1992; Wang ve ark. 2008). Guatemala'da kadınlar üzerinde yürütülen bir araştırmada, mısır bazlı gıdalardan fumonisin alımının, yağ metabolizmasının bozulmasına işaret eden kanıtlarla korele olduğunu göstermiştir (WHO 1998). Bugüne kadar fumonisin kaynaklı

yalnızca bir akut mikotoksikozis vakası bildirilmiştir. Hindistan'dan bildirilen vakada kontamine sorgum ya da mısır tüketiminden sonra, diyare ile seyreden hastalığın sınırlı kaldığı ve okul öncesi çocuklarını daha az etkilediği görülmüştür (Bhat ve ark. 1997).



Şekil 2-8 Fumonisin B1'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2015282.html>

Fumonisinler açısından riskli gıdaların başında mısır bazlı ürünler gelir mektedir (Doğan ve Tuzcu 2001) Hasattan önce, hasat zamanında ve hasat sonraki dönemlerde mısırlar, *Fusarium* cinsi küflerle kontamine olarak önemli oranda verim kaybına uğrarlar. Böyle mısırlarda sap ve koçan çürüklüğü görülür (Edwards, 2004).

Türkiye'de beslenme alışkanlıkları sebebiyle mısır bazlı gıdaların (mısır gevreği vb.) tüketiminde de hızlı bir artış olmuştur. Gıdalardaki maksimum fumonisin düzeylerini belirleyen yasal limitler ancak 2008 yılında yayınlanmıştır.

2.2.4. Sitrinin

Sitrinin [C₁₃H₁₄O₅, IUPAC: (3R,4S)-4,6-dihydro-8-hydroxy-3, 4, 5-trimethyl-6-oxo-3H-2-benzopyran-7-carboxylic acid; CAS No.: 518-75-2] kimyasal yapısına sahiptir (Şekil 2-10). 250 nm ve 333 nm'de (metanol içinde) maksimum UV absorpsiyonuna sahip, 172 °C'de eriyen asidik limon sarısı bir kristaldir. Suda az çözünür, ancak seyreltik sodyum hidroksit, sodyum karbonat veya sodyum asetatta ve metanol, asetonitril, etanol ve diğer polar organik çözücülerin çoğunda çözünebilir (Desphande 2002, Zorlutuna 2006).

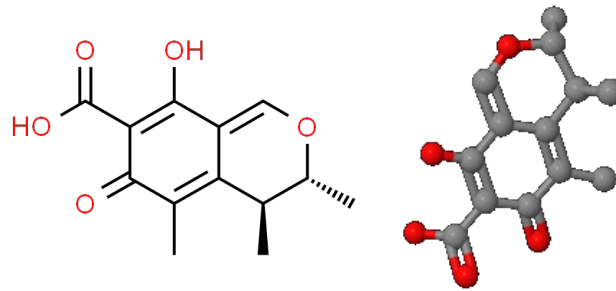
Sitrinin toksini *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp.ve *Monascus* spp. küfleri tarafından üretilir. İlk defa ise 1931 yılında *Penicillium citrinum*'dan izole edilmiştir

(Wen-Hsiung ve Nion-Heng 2007). Antibakteriyel özelliğinden dolayı sitrinin başlarda antibiyotik olarak kabul edilmiştir, fakat sonraki yıllarda nefrotoksik, hepatotoksik, mutajen ve teratojen etkileri görülünce, mikotoksin grubuna dahil edilmiştir (Magan ve Olsen 2000).

Sitrinin, açık sarı renkte ve iğne şeklinde kristallerden oluşur. Metanol, etanol ve kloroformda kolay çözünürler. Erime sıcaklığı 170-173°C'dir.

Sitrinin gıda ile yemlerde çoğunlukla Okratoksin A (OTA) ile birlikte oluşmaktadır ve doğal kontaminant olarak bulunurlar (Bragulat ve ark. 2008). İnsanlarda uzun süreli tüketim sonucunda böbrek hasarlarına sebep olmuştur (Di Conza ve ark. 2007). Ayrıca, aminoasitlerin taşınmasını engeller, yağların metabolizmasını da etkileyerek karaciğerde yağ birikmesine neden olurlar. Sitrinin toksisitesinde en sık gözlenen durumun, kilo kaybı olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda kan basıncında azalma, kusma ve diyareye de neden olurlar (Coşgun 2006).

Sitrinin üreten *Penicillium citrinum* pirinç üzerinde gelişerek sarı renkli pigment salgılaması sonucunda sarı pirinç zehirlenmesi hastalığı ortaya çıkmıştır (Ünlütürk ve Turantaş 2003)



Şekil 2-9 Sitrinin'in kimyasal yapısı

<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.10222475.html>

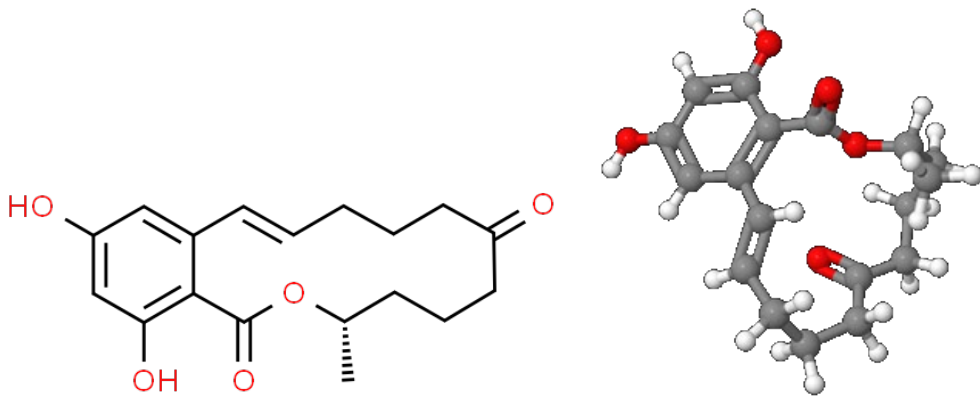
2.2.5. Zearalenon

İlk olarak 1962 yılında izole edilen Zearalenon, (3,4,5,6,9,10-hexahydro-14,16-dihydroxy-3-methyl-1H-2-benzoxacyclotetradecin-1,7(8H)-dione; $C_{18}H_{22}O_5$; molekül ağırlığı: 31,36; CAS Kayıt Numarası 17924-92-4) adını izole edildiği *Gibberella zae*'dan (*Fusarium graminearum*) almıştır (Şekil 2-10).

ZEA, özellikle *Fusarium graminearum* başta olmak üzere *Fusarium culmorum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium roseum*, *Fusarium tricinctum* gibi birçok *Fusarium* türü tarafından oluşturulan beyaz, kristal yapıda mikotoksindir. pH 7'de stabil değildir. 175°C'nin üzerinde büyük kayıplar oluşur (Ryu ve ark. 2003). ZEA çok değişik sıcaklıklarda üreme gösterebilir. Örneğin; *Fusarium roseum* küfü yüksek (24-27°C) ve düşük (12-14°C) olmak üzere iki farklı sıcaklıkta üreyerek ZEA oluşturabilmektedir.

Zearalenon, aktivitesi yaklaşık olarak aynı olan β -zearalenol ve kendinden dört kata kadar daha toksik olabilen α -zearanol dahil olmak üzere 150'den fazla dikkate alınması gereken türevi tanımlanan bir toksindir. Steroidal olmayan östrojenik bir mikotoksin diğer ifade şekliyle ksenoöstrojen olarak klasifiye edilen zearalenon mikotoksinlerin en önemlilerinden biridir (Pleadin ve ark. 2019).

ZEA, daha çok üzüm, mısır ve saman yığınlarında görülmektedir (Van Egmond 1994). ZEA üreten küfler çoğunlukla mısır bitkisine kolonize olup, daha az oranda ise arpa, yulaf, buğday, darı ve pirinç gibi ürünlerde de üreyebilmektedir.



Şekil 2-10 Zearalenon'un kimyasal yapısı

<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4444897.html>

2.2.6. Trikotesenler

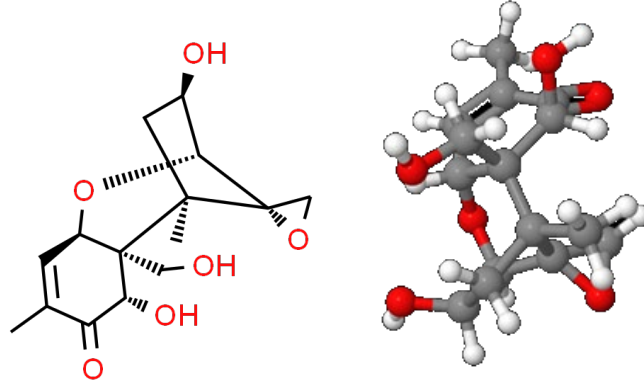
Trikotesenler, ortak çekirdek kimyasal yapıya sahip bir seskiterpen mikotoksin ailesidir. *Fusarium* spp., *Stachybotrys* spp., *Myrothecium* spp., *Trichothecium* spp., *Trichoderma* spp., *Cephalosporium* spp., *Cylindrocarpon* spp., *Verticimonosporium* spp. ve *Phomopsis* spp. dahil olmak üzere çeşitli küf türleri tarafından üretilmektedir (Scott 1989). 140'dan fazla trikotesen tipi izole edilmiştir, en sorunluarı DON, HT-2 ve T-2 toksinleridir (Cope 2018).

İnsan ve hayvan beslenmesindeki trikotesen kontaminasyonunun en önemli kaynakları mısır, buğday ve arpa gibi tahıl tohumlarıdır. Trikotesen tarlada tahılları kontamine edebilir. Depolama koşulları da küf gelişimi ve trikotesen üretimi için uygun olur ise, toksin miktarı önemli ölçüde artar. Deri, bağırsak, kan ve diğer organların hızlıca gelişen hücreleri için trikotesenler akut toksiki gösterir. 1968 yılında, nivalenol ve 4-asetilnivalenolün hayvan hücrelerinde ve hücresiz sistemlerde ribozomal protein sentezini inhibe ettiği belirlenmiştir. T-2 toksini ise buğday ve mısırdaki ribozomlarda protein sentezini inhibe etmiştir (Desjardin 2006).

Trikotesenlerin çoğu hem mikotoksin hem de zootoksik ajanlardır. Bazı trikotesenler antifungal, antiviral ve antibakteriyeldir. Kaşıntı, şişkinlik, kuruma, çatlama ve pul pul dökülme gibi toksisite belirtileri gösterir (Girgin ve ark. 2001)

2.2.6.1. Deoksinivalenol

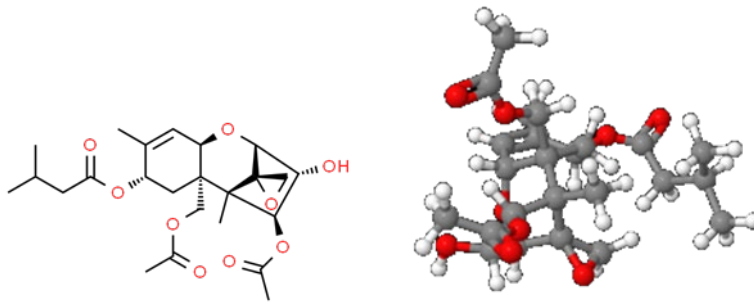
Deoksinivalenol (DON) en önemli trikotesenlerdendir (Şekil 2-11). DON, *F. graminearum* ve *F. culmorum* tarafından üretilir ve dünya genelinde tahıllarda en yaygın rastlanan B tipi trikotesendir (Bretz ve ark. 2006). DON, %20'nin üzerinde nem ve 21–29°C sıcaklık aralığında oluşur (EFSA 2015).



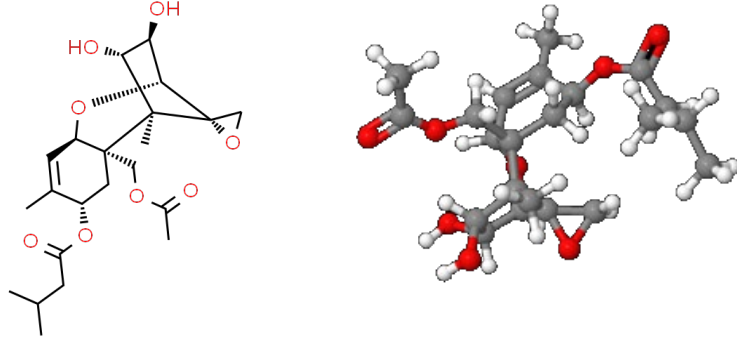
Şekil 2-11 Deoksinivalenol'un kimyasal yapısı
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.36584.html>

2.2.6.2. HT 2 ve T2 Toksini

F. sporotrichioides ve *F. langsethiae* Avrupa'da tahıl ürünlerinde belirlenen önemli T-2 toksinin üreticileridir. A grubu trikotesenlerden olan T-2 toksin (Şekil 2-12), diğer trikotesenlere göre tahıllarda nadiren rastlansa da, trikotesenler arasında en yüksek toksisiteye sahiptir (Wang ve ark. 2013). T-2 ve HT-2 toksin, *F. poae*, *F. acuminatum* gibi Fusarium türleri başta olmak üzere çeşitli küfler tarafından üretilirler. Yulaf, arpa, mısır, buğday ve pirinç, T-2 ve HT-2 toksinleri açısından riskli tahıl ürünleridirler (EFSA 2017).



Şekil 2-12 T- 2 toksininin kimyasal yapısı
<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4447526.html>



Şekil 2-13 HT-2 toksininin kimyasal yapısı

<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.8269366.html>

Farklı gıda ve yemlerde aflatoksin analizi, sıvı kromatografi (LC), ince tabaka kromatografi (TLC), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve ELISA gibi çeşitli yöntemlerle yapılmaktadır (Molyneux ve ark. 2007). HPLC cihazının avantajı; eş zamanlı analiz, doğruluk, yüksek hassasiyet (ppm-ppb), küçük enjeksiyon hacmi (1-100 µl), geniş uygulama sahası, zor olmayan analiz koşulları ve çok iyi tekrarlanabilirlik olarak sıralanabilir. LC-MS/MS cihazında ise kullanılan kütle dedektörü sayesinde HPLC’de ölçülemeyen ya da ayırımı yapılamayan birçok örnek ölçülebilmektedir. Ayrıca yüksek seçicilik, özgünlük ve az miktarda reaktif gerekliliği gibi avantajları sayesinde özel olarak tercih edilmektedir. Bunlara ek olarak LC-MS/MS düşük tespit limiti, parmak izi hassasiyetinde ve doğruluğunda sonuçlar vermesi sayesinde laboratuvarlarda altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir (Gault ve McClenaghan 2009).

2.2.7. Mikotoksinlerin Yasal Limitleri

Kahvaltılık tahıllarda bulunmasına izin verilen mikotoksin seviyeleri 29.12.2011 tarih 28157 sayılı Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirtilmiştir (TGK 2011) (Tablo 2-3).

Tablo 2-3 Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde kahvaltılık gevreklerde belirlenen maksimum mikotoksin limitleri

AFLATOKSİN	Maksimum Limit (µg/kg)	
	B ₁	B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂
Tahıllar, bunlardan elde edilen ürünler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 2.1.11, 2.1.14 ve 2.1.16'de belirtilenler hariç)	2,0	4,0
OKRATOKSİN A		
(Değişik:RG-19/12/2012-28502) İşlenmemiş tahıldan elde edilen tüm ürünler (Doğrudan insan tüketimine sunulan tahıllar ve işlenmiş tahıl ürünleri dahil) (2.2.9., 2.2.10. ve 2.2.13. satırında belirtilenler hariç)		3,0
DEOKSİNİVALENOL		
Ekmek (hafif fırıncılık ürünleri dahil), pastacılık ürünleri, bisküvi, tahıl çerezleri, kahvaltılık tahıllar		500
ZEARALENON		
Ekmek (hafif fırıncılık ürünleri dahil), pastacılık ürünleri, bisküvi, tahıl çerezleri, kahvaltılık tahıllar (mısır çerezleri ve mısır bazlı kahvaltılık tahıllar hariç)		50
Doğrudan insan tüketimine sunulan mısır, mısır çerezleri ve mısır bazlı kahvaltılık tahıllar		100
FUMONİSİNLER	FB ₁ + FB ₂ (µg/kg)	
Mısır bazlı kahvaltılık tahıllar ve mısır bazlı çerezler	800	

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kahvaltılık Gevreklerin Temini

Çalışmada, İstanbul'un çeşitli ilçelerinde (Avcılar, Bahçelievler, Bakırköy, Beylikdüzü, Çekmeköy, Kadıköy, Küçükçekmece, Ümraniye, Üsküdar) konumlanmış olan perakende mağazalarında ve pazarlarda satışa sunulmakta olan paketli ve/veya açık kahvaltılık gevreklerden toplam 100 adet örnek toplanmıştır (Tablo 3-1). Örneklerde Toplam Aflatoksin (B1+B2+G1+G2), AFB1, OTA, ZEA, DON, FB1, FB2, Sitrinin, HT-2 ve T-2 analizi için LC-MS/MS yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla örnekler İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Laboratuvarlarına getirilerek etiket bilgileri kayıt altına alınmıştır.

3.2. Kahvaltılık Gevreklerde UV Lamba ile Mikotoksin Muayenesi

Kayıt altına alınan örneklerin paketleri %70 etanol ile dezenfekte edilerek açılmıştır. Bir miktar örnek temiz bir tabağa aktararak karanlık ortamda, 366nm UV lamba (Merck 1.3203.0001) kullanılarak vizuel olarak aflatoksin muayenesine tabi tutulmuştur.

3.3. LC/MS-MS Yöntemi ile Mikotoksin Analizi

Örneklerdeki mikotoksinlerin varlığının tespiti amacıyla, dezenfekte edilerek açılan paketlerden yaklaşık olarak 100 g bir numune poşetine alınarak, içlerine nem tutucu silika jel paketlerinden ilave edilmiştir. LC/MS-MS analizi için LC/MS-MS ile multitoksin tayin metodu ile akredite edilmiş (No: AB-0566-T) laboratuvar olan Nanolab Laboratuvar Hizmetleri Kimya Gıda Danışmanlık Çevre Eğitim San. ve Tic. Ltd. Şti.'den hizmet alımı yapılmıştır.

Tablo 3-1 Toplanan ürünlerin dağılımı

	Tahıllı Gevrekler (n:44)										
	Yulaf (n:31)	Müsli (n:19)	Granola (n:6)	Mısır (n:15)	Pirinç (n:3)	Yulaf (n:1)	Bulgur (n:2)	Mısır ve Buğdaylı (n:7)	Buğday ve Pirinçli (n:6)	Tahıl ve Pirinçli (n:2)	Karışık Tahıllı (n:8)
Kuruyemişli	-	14	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Çikolatalı	-	3	-	3	-	-	1	7	-	-	3
Sade	31	2	1	1	2	-	1	-	3	1	1
Balı	-	-	2	11	-	1	-	-	-	-	2
Meyveli	-	-	2	-	1	-	-	-	3	1	2
Toplam	31	19	6	15	3	1	2	7	6	2	8

3.3.1. Kullanılan Alet Ekipman

- 50 mL' lik falkon tüp
- Otomatik pipet (100 µL, 1000 µL ve 5000 µL)
- 1 mL mini santrifuj tüpü
- Pipet Ucu
- Vorteks
- Çoklu karıştırıcı (Shaker)
- Santrifüj
- 0,45 µm 'lik filtreler
- HPLC Kolon C18 (2,1mm x 50mm x 3µ)
- LC/MS-MS Cihazı (AGILENT/Agilent 6420 Triple Quad/G6420A/SG 13387002)
- Homojenizasyon (öğütme) cihazı

3.3.2. Kullanılan Kimyasallar

Ekstraksiyon Çözeltilisi: 800 mL metanol 200 mL su karıştırılarak hazırlanır.

HPLC Hareketli Faz (A): 0,252 g amonyum format 1000 mL MS grade suda çözündürülür ve üzerine 1 ml formik asit eklenir.

HPLC Hareketli Faz (B): 0,252 g amonyum format 1000 mL MS grade metanolde çözündürülür ve üzerine 1 mL formik asit eklenir.

Standart Solusyonlar: Aflatoksin Standartları (Pa Grup), Okratoksin Standardı (Pa Grup), Fumonisin Standartları (Pa Grup), DON Standardı (Triology), ZEA Standardı (Triology), Citrinin Standardı (TRC), HT-2 Standardı (HPC), T-2 Standardı (HPC).

3.3.3. Örneklerin Hazırlanması

Örnekler öğütücüde ve karıştırıcıda su katılarak homojen hale getirilir. Homojenizasyon aşamasında kullanılan su miktarı kaydedilerek, tartım esnasında hesaba katılır. Örneklerden 5 g tartılır.

3.3.4. Örneklerin Ekstraksiyonu

Tartılan örnekler üzerine 12 mL özütleme çözeltisinden koyularak iki saat çalkalanır. Süre sonunda 4000 rpm’de 5 dakika santrifüjlenir, 0,45 µL’lik filtreden geçirilerek 15 mL’lik santrifüj tüpünde toplanır. Elde edilen örnek süzöntüsünden 800 µL çekilir 1 ml’lik vial e alınır. Üzerine 800 µL hareketli faz A eklenerek cihaza verilir.

3.3.5. LC/MS-MS Analiz

3.3.5.1. HPLC Analiz

Akış Hızı: 0,35 ml/dak

Enjeksiyon Hacmi: 20 µl

Kolon Sıcaklığı:35 °C

Tablo 3-2 Gradient Akış Programı

Zaman (dakika)	A [%]	B [%]
0,00	75,0	25,0
3,00	30,0	70,0
5,00	0,0	100
7,00	0,0	100
7,10	100	0,0

3.3.5.2. MS Analiz

Delta EMV: 400(+), 400(-)

Gas Sıcaklığı:350°C

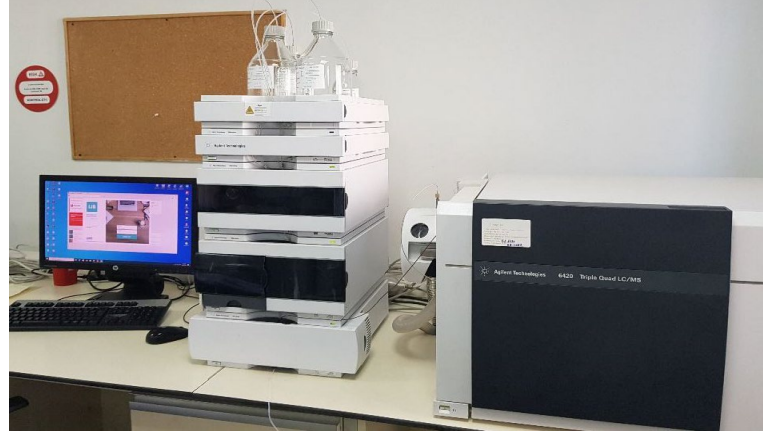
Gas Flow:11 l / dakika

Nebulizer:30 psi

Capillary: 3500 V (+), 2500 V (-)

Tablo 3-3 MS-MS İyon geçişleri

Bileşik Adı	Precursor İyon	Product İyon	Ret. Time (dk)	Delta Ret Time	Fragmentor	Collusion energy	Cell Accelerator Voltage	Polarity
Aflatoksin B1	313,2	269,9	4,8	1,08	130	28	7	Positive
Aflatoksin B1	313,2	257	4,8	1,08	130	24	7	Positive
Aflatoksin B1	313,2	285,2	4,8	1,08	130	12	7	Positive
Aflatoksin B2	315,1	287	4,64	1,18	130	24	7	Positive
Aflatoksin B2	315,1	259	4,64	1,18	130	32	7	Positive
Aflatoksin B2	315,1	243	4,64	1,18	130	44	7	Positive
Aflatoksin G1	329,1	311	4,43	1,06	100	20	7	Positive
Aflatoksin G1	329,1	282,9	4,43	1,06	100	24	7	Positive
Aflatoksin G1	329,1	243,1	4,43	1,06	100	28	7	Positive
Aflatoksin G2	331	313	4,25	0,73	90	24	7	Positive
Aflatoksin G2	331	245	4,25	0,73	90	32	7	Positive
Aflatoksin G2	331	216,9	4,25	0,73	90	40	7	Positive
Citrinin	251,1	233	5,39	1,13	88	12	7	Positive
Citrinin	251,1	205	5,39	1,13	88	28	7	Positive
Citrinin	251,1	91	5,39	1,13	88	50	7	Positive
Deoksinivalenol	297,1	249,1	2,39	2,82	90	8	7	Positive
Deoksinivalenol	297,1	231	2,39	2,82	90	8	7	Positive
Deoksinivalenol	297,1	202,9	2,39	2,82	90	12	7	Positive
Fumonisin B(1)	722,4	704,3	5,11	0,99	116	32	7	Positive
Fumonisin B(1)	722,4	352,2	5,11	0,99	116	40	7	Positive
Fumonisin B(1)	722,4	334,2	5,11	0,99	116	44	7	Positive
Fumonisin B(2)	706,4	337,1	5,66	0,6	90	32	7	Positive
Fumonisin B(2)	706,4	319	5,66	0,6	90	36	7	Positive
Ht-2 Toxin	442,2	263,2	5,3	0,96	80	8	7	Positive
Ht-2 Toxin	442,2	197,2	5,3	0,96	80	12	7	Positive
Okratoksin A	404,1	358	5,98	1,01	102	12	7	Positive
Okratoksin A	404,1	238,9	5,98	1,01	102	24	7	Positive
Okratoksin A	404,1	220,9	5,98	1,01	102	40	7	Positive
T-2 Toxin	484,2	305	5,63	1,06	88	8	7	Positive
T-2 Toxin	484,2	215	5,63	1,06	88	16	7	Positive
T-2 Toxin	484,2	185	5,63	1,06	88	20	7	Positive
Zearalenone	317,2	273,1	6,07	1,05	130	12	7	Negative
Zearalenone	317,2	175,1	6,07	1,05	130	20	7	Negative



Şekil 3-1 LC/MS-MS Cihazı
(AGILENT/Agilent 6420 Triple Quad/G6420A/SG 13387002)

3.3.6. Hesaplama

$$\text{Sonuç } (\mu\text{g/kg}) = A \times SK \pm U(X)$$

A: Kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak bulunan etken madde miktarı($\mu\text{g/ml}$)

SK: Seyreltme katsayısı

U (X): Genişletilmiş Belirsizlik x Sonuç

Genişletilmiş Belirsizlik=Standart Belirsizlik x k

k= 2 (%95 güven aralığı için genişleme kat sayısı)

Seyreltme Katsayısı= m veya $V\ddot{O} / V_S$

m: Tartılan örnek miktarı(g)

$V\ddot{O}$: Örnekten alınan hacim (mL)

V_S : Son hacim (mL)

4. BULGULAR

4.1. Kahvaltılık Gevreklerde UV Lamba ile Mikotoksin Muayene Sonuçları

Toplanan örneklerin 366nm UV lamba kullanılarak yapılan vizuel kontrolleri sonucunda 39 örnekte yoğun ışıma, 13 örnekte hafif ışıma, 48 adet örnekte de hiç ışıma tespit edilememiştir. Işımalar yulaf uçlarında ve kuru yemişlerde (özellikle bademlerde) mavi-yeşil renkte tespit edilmiştir.

4.2. LC/MS-MS Yönteminde Geri Kazanım Çalışmaları

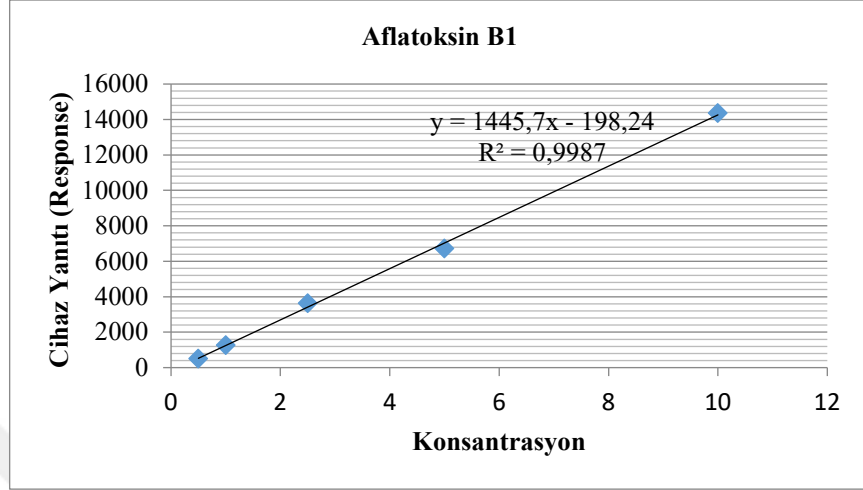
Çalışmamızda LC-MS/MS yöntemiyle yapılan multitoksin analizlerinde uygulanan Limit of detection (LOD), Limit of quantification (LOQ), geri kazanım ve Standart belirsizlik oranları Tablo 4-1' de belirtilmiştir.

Tablo 4-1 Tahıl ve tahıl içerikli ürünlerde multitoksin analizinde geri kazanım sonuçları

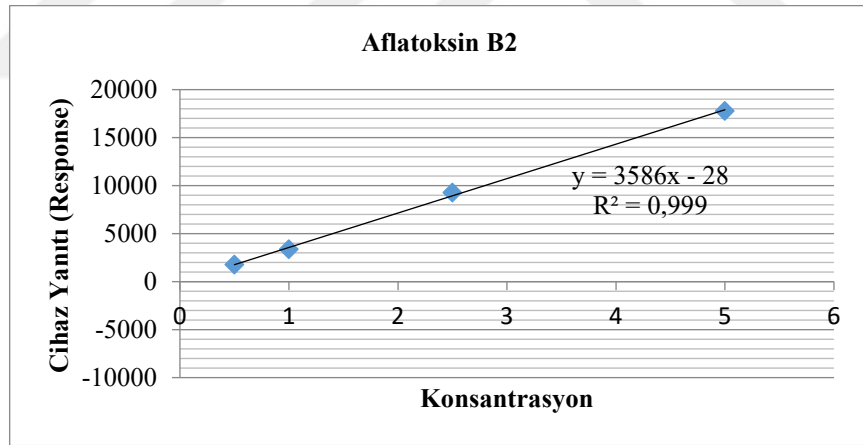
Mikotoksin Türü	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Geri Kazanım (%)	Standart Belirsizlik
Deoksinivalenol	29,78	95,03	91,586	0,135
Aflatoksin G2	0,24	0,78	96,759	0,156
Aflatoksin G1	0,23	0,74	92,948	0,291
Aflatoksin B2	0,26	0,82	94,698	0,175
Aflatoksin B1	0,24	0,75	95,228	0,169
Fumonisin B1	32,52	103,79	97,684	0,122
HT-2 Toksin	3,47	11,08	103,529	0,185
Citrinin	31,80	101,50	99,714	0,143
T-2 Toksin	3,31	10,55	102,591	0,169
Fumonisin B2	17,87	57,04	90,481	0,175
Okratoksin-A	0,27	0,85	94,209	0,125
Zearalenone	3,07	9,80	93,968	0,139

4.3. Kalibrasyon Eğrileri

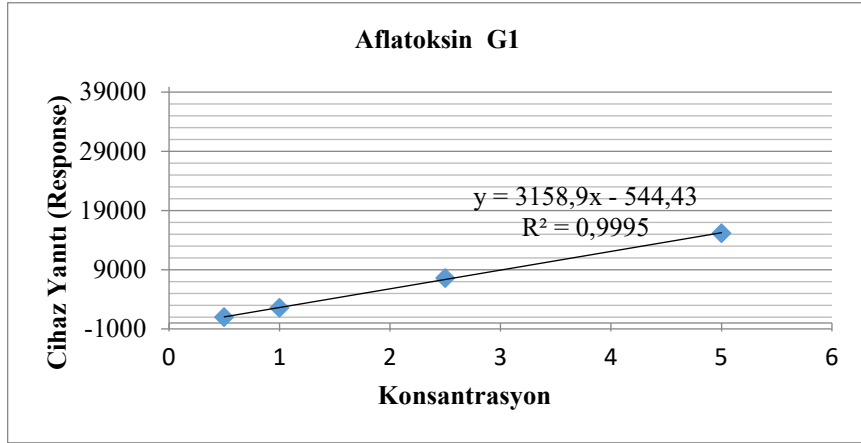
Çalışmamızda LC/MS-MS cihazında kullanılan mikotoksin standartlarının analizinden elde edilen kalibrasyon eğrileri Şekil 4-1-12’da verilmiştir.



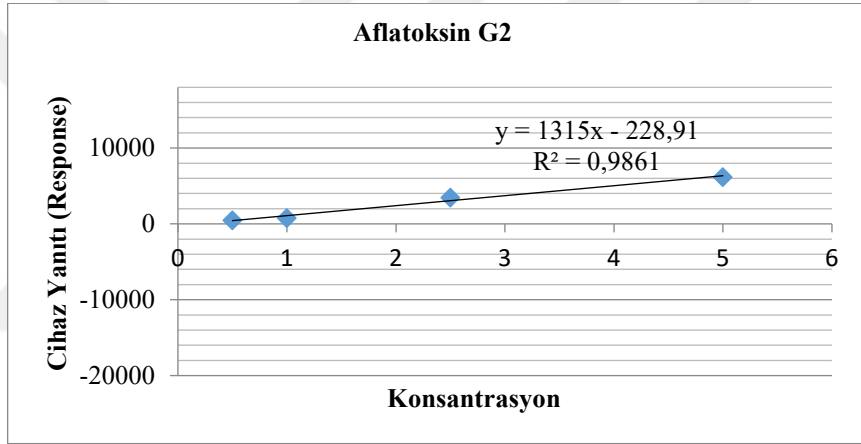
Şekil 4-1 Aflatoxin B1 kalibrasyon eğrisi



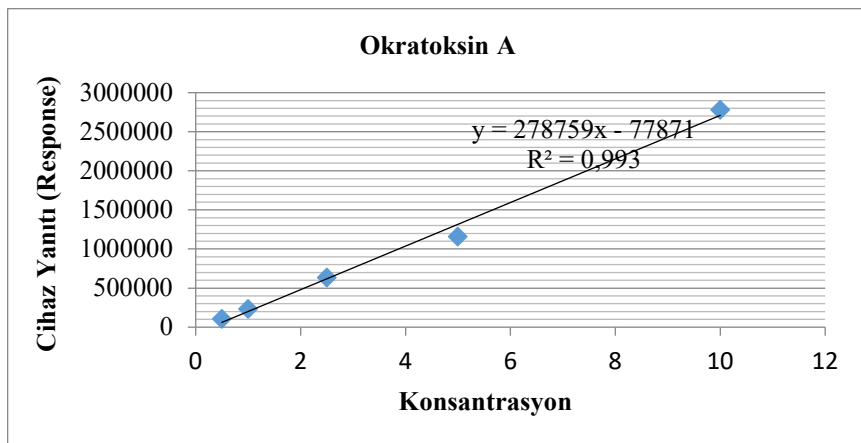
Şekil 4-2 Aflatoxin B2 kalibrasyon eğrisi



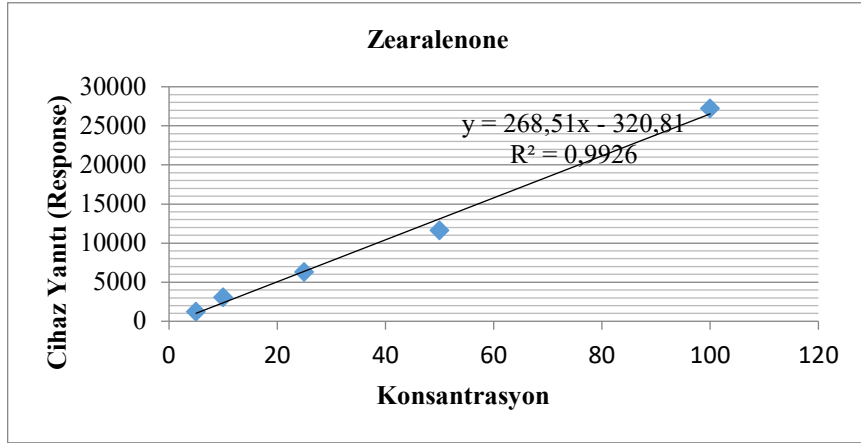
Şekil 4-3 Aflatoksin G1 kalibrasyon eğrisi



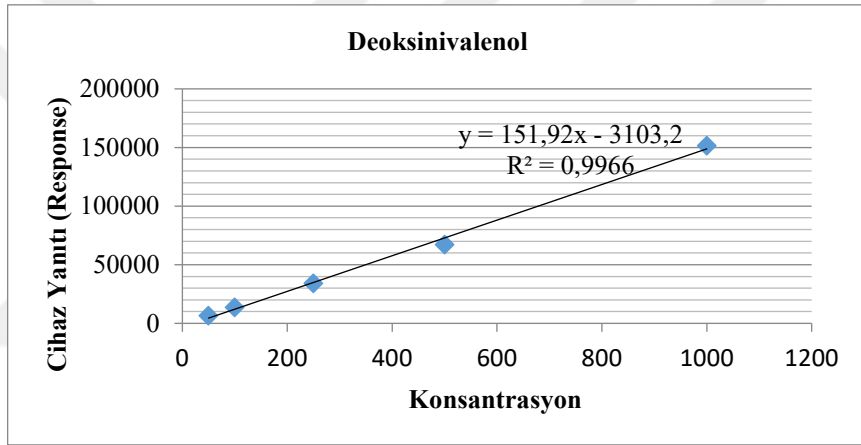
Şekil 4-4 Aflatoksin G2 kalibrasyon eğrisi



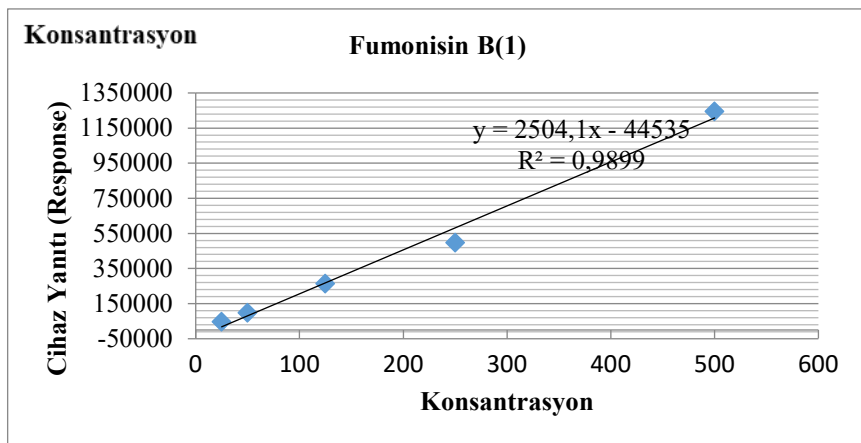
Şekil 4-5 Okrataoksin A kalibrasyon eğrisi



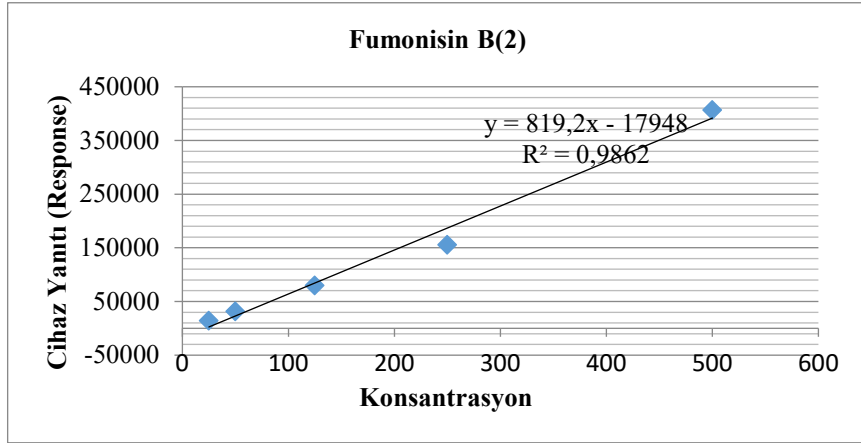
Şekil 4-6 Zearalenon kalibrasyon eğrisi



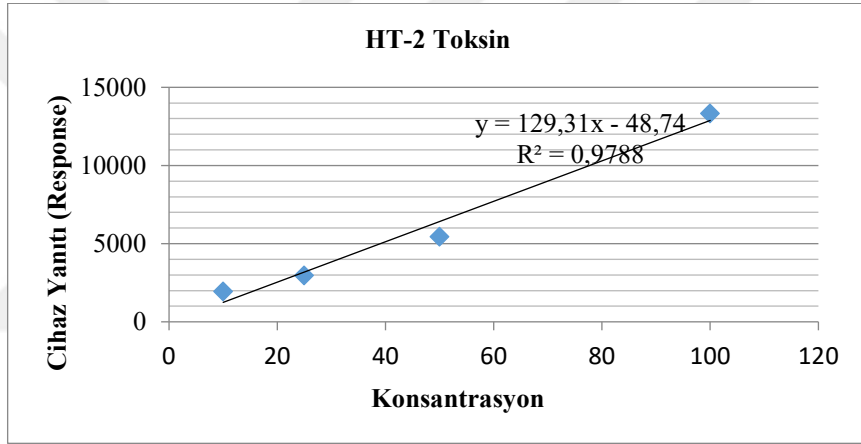
Şekil 4-7 Deoksinivalenol kalibrasyon eğrisi



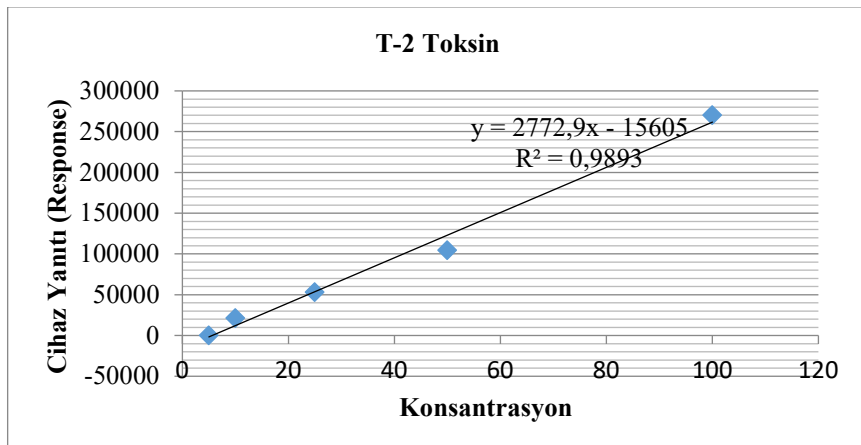
Şekil 4-8 Fumonisin B1 kalibrasyon eğrisi



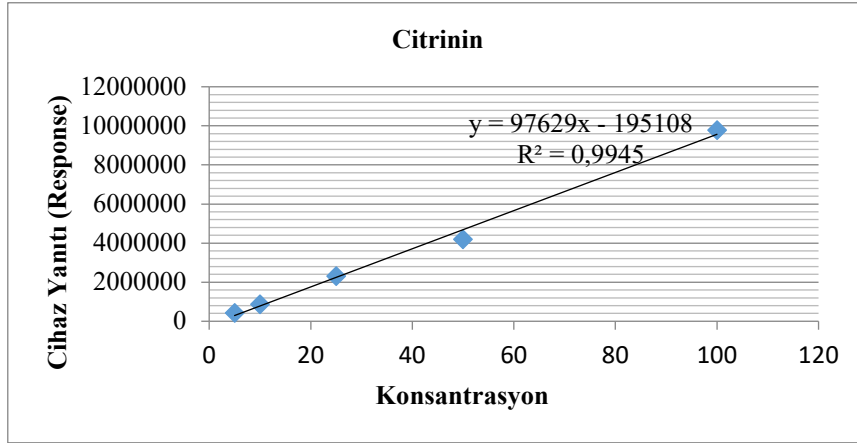
Şekil 4-9 Fumonisin B2 kalibrasyon eğrisi



Şekil 4-10 HT 2 Toksin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4-11 T 2 Toksin kalibrasyon eğrisi



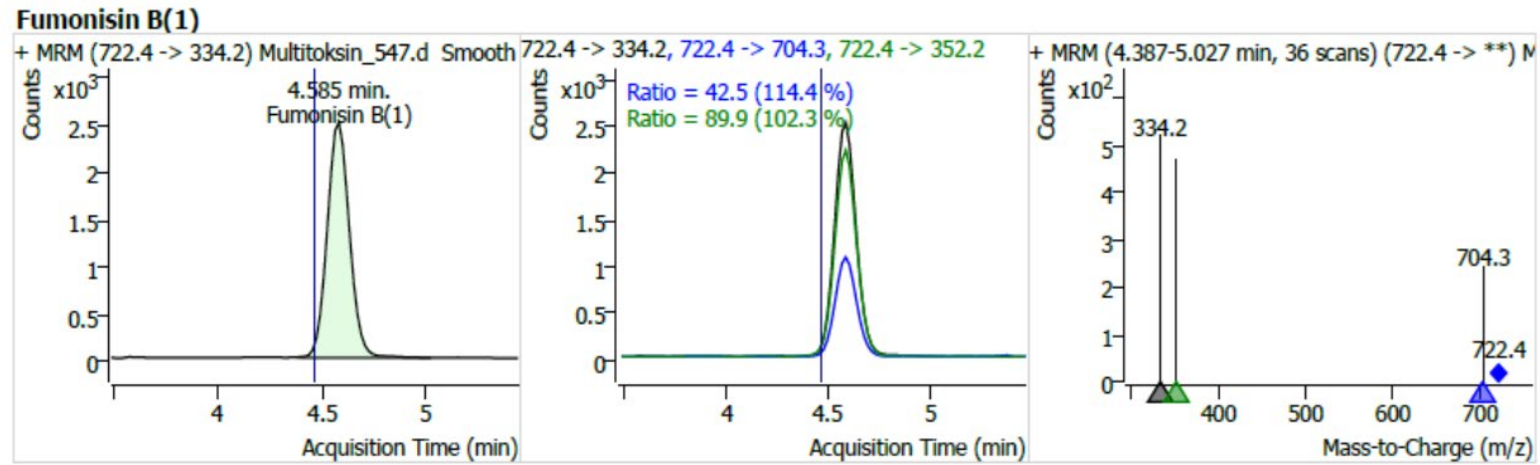
Şekil 4-12 Sitrinin toksini kalibrasyon eğrisi

4.4. LC/MS-MS Yöntemi ile Mikotoksin Analiz Sonuçları

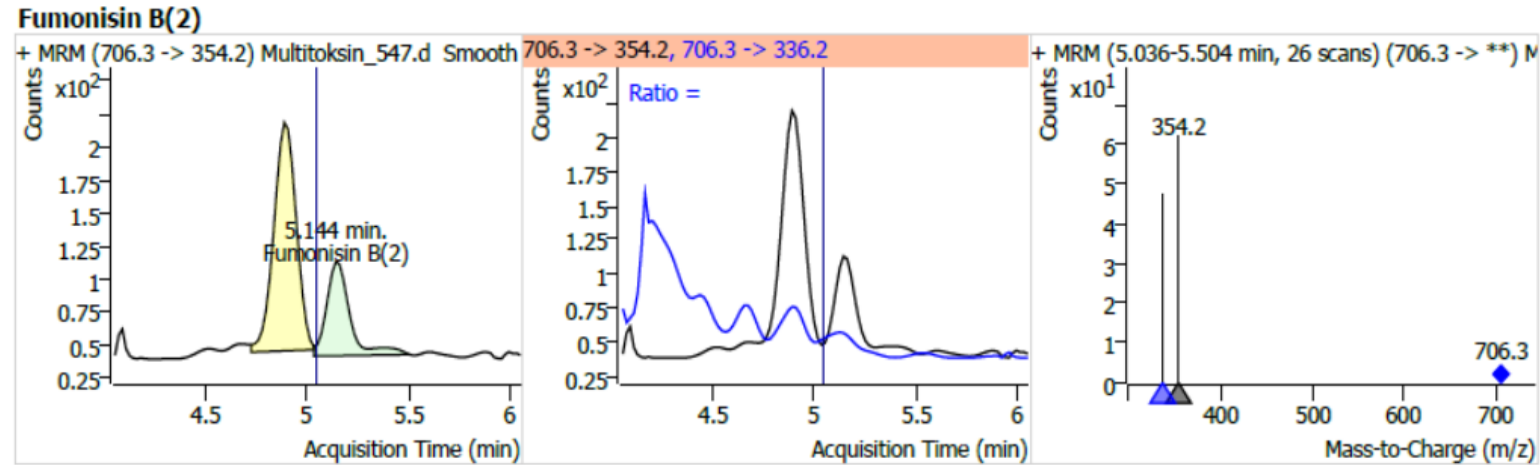
LC/MS-MS ile yapılan analizler neticesinde Okratoksin A, Zeralenon, Deoksinivalenol, Sitrinin, HT-2 ve T-2 toksinleri tespit edilememiştir. Buna karşın 6 (%6) örnekte Fumonisin B1+B2 ve Fumonisin B1, 1 örnekte (%1) ise toplam Aflatoksin ve AFB1 tespit edilmiştir.

Toplam Fumonisin (B1+B2) ve Fumonisin B1, 2 adet çikolatalı mısır ve buğday, 2 adet meyveli tahıl, 1 adet çikolatalı tahıl ve 1 adet ballı tahıl gevreğinde tespit edilmiştir. Yapılan analiz neticesinde FB1 oranı ortalama olarak 174 µg/kg, toplam fumonisin (FB1+FB2) oranı ise 198 µg/kg olarak tespit edilmiştir. FB1 oranı; en düşük 144, en yüksek 206 µg/kg iken, FB1+FB2 oranı; en düşük 164, en yüksek 234 µg/kg olarak gözlemlenmiştir.

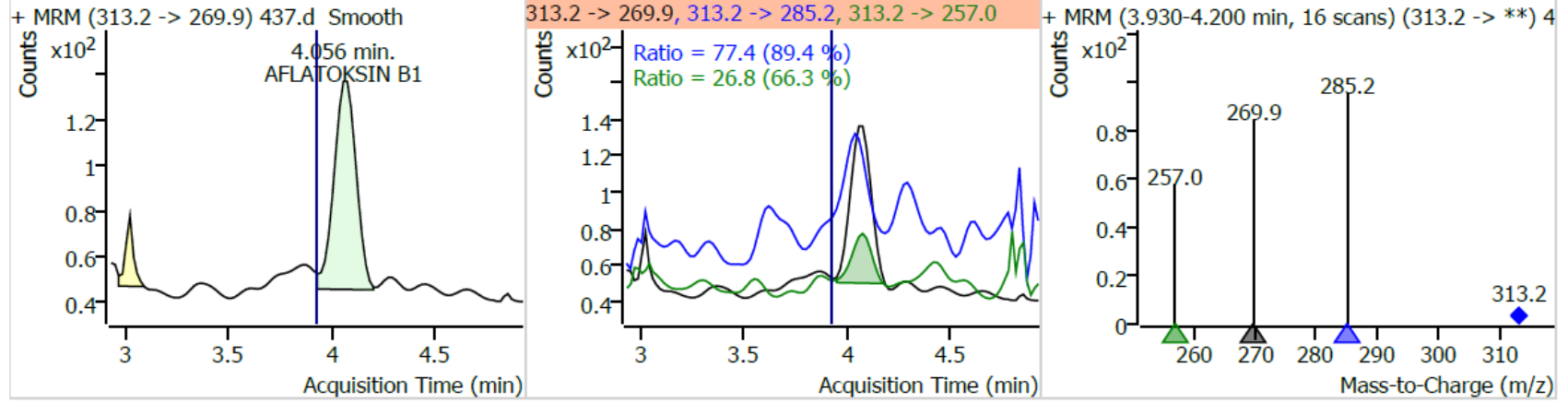
İncelenen örneklerden mısır bazlı kahvaltılık gevreklerinin sadece 1 adedinde Toplam aflatoksin miktarı 7 µg/kg bulunurken, aynı örnekte AFB1 miktarı 5 µg/kg tespit edilmiştir.



Şekil 4-13 Pozitif bir örnekte Fumonisin B1 kromotogramı



Şekil 4-14 Pozitif bir örnekte Fumonisin B2 kromotogramı

AFLATOKSIN B1

Şekil 15 Pozitif bir örnekte Aflatoksin B1 kromotogramı

5. TARTIŞMA

Kahvaltılık tahıllar besin değerleri açısından zengin gıdalar olarak kabul edilir. Tahıl tüketimi bebekler, çocuklar ve yetişkinler için karbonhidratlar, vitaminler, mineraller ve lif gibi önemli besinler sağlayabilir (Thomas ve ark.2013). Mikotoksin üreten küfler, hasat öncesinde, hasat sırasında ve depolama esnasında tahıl ürünlerinde gelişebilir ve çoğalabilir. Sıcaklık, nem ve diğer çevresel faktörlerden etkilenen bazı küf türleri, Aflatoksinler, Okratoksin A, Fumonisinler, Deoksinivalenol, Zearalenon, Triketesinler gibi bir dizi mikotoksin üretebilir (Sweeney ve Dobson 1998).

Çalışmamızda İstanbul'un farklı ilçelerindeki perakende marketlerden ve pazar yerlerinden temin edilen 100 adet tahıl içerikli kahvaltılık gevrek örneği toplanmış ve bu örneklerin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde kahvaltılık gevrekler için belirlenen mikotoksin limitlerine (Tablo 2-3) uygunluğu açısından kontrol edilmiştir.

Toplanan örnekler İstanbul-Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalına ait laboratuvara getirilerek, aseptik koşullarda açılmış ve UV lamba ile vizuel mikotoksin kontrolü sonucunda 62 adet örnekte ışıma saptanmıştır. Ancak ışıma saptanan örneklerin LC-MS/MS yöntemiyle yapılan analiz sonucunda 4'ünde Fumonisin B1+B2 ve Fumonisin B1 tespit edilmiş, birinde ise hem toplam Aflatoksin ve hem de AFB1 tespit edilmiştir. Bu nedenle basit şekilde UV lamba ile yapılan taramanın mikotoksin varlığı açısından bir fikir veremeyeceği ve HPLC veya LC-MS/MS gibi hassas ve doğrulu kesin olan metotların seçilmesi gerektiğinin kanısına varılmıştır.

Çalışmamızda 6 (%6) adet örnekte Fumonisin B1 ve toplam Fumonisin (FB1+FB2) tespit edilmiştir. Fumonisinler, 2 adet kakaolu mısır ve buğday gevreği, 2 adet meyveli tahıl gevreği, 1 adet çikolatalı tahıl gevreği ve 1 adet de ballı tahıl gevreğinde bulunmuştur. Örneklerden 4 adedinin aynı markaya ait olan farklı ürün çeşnilerinde olduğu belirlenmiş, bu markaya ait hammaddelerin de yerli olduğu tespit edilmiştir. Fumonisin kontaminasyonunun meyve, çikolata veya balıdan ziyade bu gevreklerin üretiminde kullanılan tahıllardan ileri geldiği düşünülmektedir. Etiket bilgileri kontrol edildiğinde bütün ürünlerin ortak olarak mısır içerdiği görülmüştür. Fumonisin tespit edilen örneklerin hiçbirinin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirlenen limitleri aşmadığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda Fumonisinler mısır içeren örneklerde

tespit edilse de Molinie ve ark. (2005) yaptıkları araştırma ile fumonisinlerin sadece mısır gevreklerinde değil aynı zamanda yulaf ve pirinç içeren gevreklerde de bulunabileceğini bildirmişlerdir.

Analiz sonuçlarımıza bakıldığında 1 örnekte 7 µg/kg Toplam Aflatoksin saptanırken, 5µg/kg AFB1 saptanmıştır. Bu iki değerinde, TGK Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirtilen limitlerin üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

2018 yılında Portekiz'de Martins ve ark. tarafından 26 örnekle ile yürütülen bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar örneklerin %96'sının (25/26) mikotoksinler ile kontamine olduğunu belirtmişler, en yüksek kontaminasyon düzeyinin %73 ile zearelenon olduğunu ve bunu %69 AFB1 ve OTA, %62 ile deoksinivanelol, %58 Fumonisin B1, %38 Fumonisin B2 ve %27 ile AFB2'nin takip ettiğini rapor etmişlerdir. Çalışmamıza benzer şekilde hiçbir örneğin Avrupa Komisyonunun (2006) belirttiği yasal limitleri aşmadığını bildirmişlerdir fakat Portekiz'de özellikle çocukların tükettiği gıdaların içinde yer alan kahvaltılık gevreklerin gözden geçirilmesi gerekliliğini vurgulamışlardır (Martins ve ark. 2018).

Lee ve Ryu (2015) Amerika Birleşik Devletleri'nde pazarlardan 489 adet mısır, pirinç, buğday ve yulaf bazlı kahvaltılık gevrek örneği toplanmışlar ve OTA kontaminasyonunu yüksek performanslı sıvı kromatografi yöntemi kullanarak analiz etmişlerdir. Araştırmacılar 205 örneğin (%42) 0,10-0,90 mg/kg seviyelerinde OTA ile kontamine olduğunu tespit etmişlerdir. OTA seviyeleri, 16 yulaf bazlı tahıl örneği dışında, çoğunlukla Avrupa Komisyonu Yönetmeliği'nde belirtilen (3 ng/g) altında tespit edilmiştir. OTA kontaminasyonu %70 ile en yüksek yulaf bazlı kahvaltılık tahıllarda, ardından buğday bazlı (%32), mısır bazlı (%15) ve pirinç bazlı (%15) kahvaltılık gevreklerde belirlenmiştir.

Pakistan Pencap'ın merkez bölgelerinde yürütülen başka bir çalışmada Ocak-Mart 2012 tarihleri arasında toplanan 237 kahvaltılık gevrekde AF'ler, OTA, ve ZEA analizleri yapılmıştır. Örneklerin %41'inin AF'ler ile kontamine olduğu tespit edilmiş, %16'sının AFB1, %30'unun OTA, %8'inin ZEA için AB Komisyonun izin verdiği yasal limitleri aştığı tespit edilmiştir (Iqbal ve ark. 2014).

2011 yılında İspanya'da toplanan 46 örnekte aflatoksin (AFB1, AFG1, AFB2 ve AFG2), OTA ve ZEA kontaminasyonu üzerine araştırma yapılmıştır. Sonuçlara göre

örneklerin %9'unun AFB1 ile kontamine olduğu tespit edilmesine rağmen hiçbir örneğin AB Komisyonu limit değerlerini aşmadığı tespit edilmiştir. OTA ve ZEA oranları da sırasıyla %48 ve %39 olarak tespit edilmiştir. Aflatoksin B1'in sadece mısır bazlı, ZEA ve OTA en yüksek buğday bazlı ve buğday ve pirinç bazlı kahvaltılık gevreklerden tespit edilmiştir (Ibáñez-Vea ve ark. 2011).

Yunanistan Atina'da bulunan yerel marketlerden toplanan 55 kahvaltılık gevrek örneği Floresans Dedektörlü Yüksek Başınç Sıvı Kromatografi yöntemiyle AFB1 ve OTA analizleri yapılmıştır. %56,3 oranında AFB1 tespit edilirken 7 örneğin AB yasal mevzuat limitlerini aştığı, %60 oranda OTA tespit edilirken de 19 örneğin limit değerleri aştığı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Villa ve Markaki 2009).

Fransa'da süpermarketlerden toplanmış 45 adet kahvaltılık gevrek OTA, CIT ve FB1 kontaminasyon seviyeleri kontrol edilmiştir. Örneklerin %69'unda OTA tespit edilmiş, bunların %20'sinin AB limiti olan 3 µg/kg'ın üzerinde olduğu görülmüştür. Örneklerin %20'sinin CIT (1.5-42 mg/kg) içerdiği, %94'ünün de FB1 içerdiğini tespit etmişlerdir. FB1'lerin sadece mısır gevreklerinde değil, aynı zamanda yulaf veya pirinç içeren ürünlerde 1-1.110 mg/kg seviyelerinde belirlediklerini aynı zamanda da bazı örneklerin her üç üç mikotoksin ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir (Molinie ve ark 2005).

Türkiye'de kahvaltılık gevreklerle ilgili çalışmaya çok ratlanılmamıştır. Ancak Bakırcı'nın 2014 yılında tahıl ve tahıl ürünlerinde Aflatoksin, OTA, Fumonisin, DON, ZEA mikotoksinlerinin varlığını HPLC yöntemiyle araştırmıştır. Analizi yapılan 24 örnekte aflatoksin saptamamıştır. 67 örneğin 4'ünde OTA tespit ederken 2 örnekteki değer TGK buşanlar yönetmeliğinde belirlenen limiti aştığını belirlemiştir. 57 örnekte 42 adet Fumonisin saptarken 3'ünün limiti aştığını bildirmiştir. 144 adet DON analizinde 3 adet, 89 adet ZEA analizinde 8 adet pozitif örnek saptarken, hiç birinin limiti aşmadığını belirtmiştir.

Sonuç olarak yapılan literatür taramalarında 10 farklı mikotoksin analizini aynı anda yapan araştırmacı sayısının oldukça az olduğu görülmüştür. Bu nedenle çalışmamız bu konuda literatüre ek katkı sağlayacağını düşünmekteyiz. Çalışmamızda incelenen örneklerin büyük çoğunluğu multitoksinler açısından negatif bulunmuştur (%93). 1 örnekte tespit edilen Aflatoksin miktarı TGK'nde belirtilen yasal limitlere uymamaktadır. Her ne kadar çalışmamızda ki fumonisin analiz sonuçları yönetmeliğe göre uygun çıksa

da, fumonisinlerin gıda işleme sırasında farklı toksik bileşiklere, tüketim sırasında da farklı toksik metabolitlere dönüşebileceği ve organizmada akümüle olarak uzun vadede sağlık riskleri oluşturabileceği ihtimali göz ardı edilmemelidir. Sonuç olarak bulgularımız da göz önünde tutularak tahılların hasatı, depolanması, tahıl bazlı ürünlerin işlenmesi ve depolanması sırasında mikotoksin kontrollerinin sıkı şekilde devam ettirilmesi, kahvaltılık gevreklerin üretim prosesinde gıda kalite güvence sistemlerinin bu doğrultuda çalışmasının sağlanması ve gereken kontrol noktalarının ve limitlerinin titizlikle incelenmesi gerekliliğinin önemini bir daha vurgulamak isteriz.



KAYNAKLAR

- Arise Wheat Protein Isolates, (2021). <http://www.mgpingredients.com> Erişim Tarihi: 25.03.2021.
- Atkins, D. ve Norman, J. (1998). Mycotoxins and food safety. *Nutrition & Food Science*.
- Ayaz, A. ve M. Yurttagül, 2008. Besinlerdeki Toksik Öğeler- I, Hacettepe Üniversitesi - Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Sağlık Bakanlığı Yayın No: 727.
- Bakırcı, G.T. (2014). Tahıl ve tahıl ürünlerinin aflatoksin, okratoksin a, zearalenon, fumonisin ve deoksinivalenol mikotoksinleri yönünden incelenmesi. *Akademik Gıda*, **12**(2), 46-56.
- Bennett, J.W., ve Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, **16**(3), 497-516.
- Bhat, R.V., Shetty, P.H., Amruth, R.P. ve Sudershan, R.V. (1997). A foodborne disease outbreak due to the consumption of moldy sorghum and maize containing fumonisin mycotoxins. *Clinical Toxicology*, **35**(3), 249-255.
- Bragulat, M.R., Martinez, E., Castella, G. ve Cabanes, F.J., 2008. Ochratoxin A and citrinin producing species of the genus *Penicillium* from feedstuffs. *International Journal of Food Microbiology* **126**, 43- 48.
- Breitholtz-Emanuelsson, A., Olsen, M., Oskarsson, A., Palminger, I., ve Hult, K. (1993). Ochratoxin A in cow's milk and in human milk with corresponding human blood samples. *Journal of AOAC International*, **76**(4), 842-846.
- Bretz, M., Beyer, M., Cramer, B., Knecht, A. ve Humpf, H.U. (2006). Thermal degradation of the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 6445-6451.
- Büyükunal, S.K. ve Persil Özkan, Ö. (2017). Mikotoksin Kaynaklı Gıda Zehirlenmeleri. *Türkiye Klinikleri Journal Food Hygiene Technology-Special Topics*, **3**(3), 259-6.
- CAST (Council for Agricultural Science and Technology) (1989). Mycotoxins: Economic and Health Risks, Ames: 1A. Task Force Report No. 116, 1-91.

- ChemSpider (2021). <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2006508.html>, Erişim tarihi 28.11.2021.
- ChemSpider (2021). <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.162470.html>, Erişim tarihi 28.11.2021
- ChemSpider (2021). <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.10222475.html>, Erişim tarihi 28.11.2021
- ChemSpider (2021). <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2006507.html>, Erişim tarihi 28.11.2021
- ChemSpider (2021). <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2006509.html>, Erişim tarihi 28.11.2021.
- ChemSpider (2021). <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.21169428.html>, Erişim tarihi 28.11.2021
- ChemSpider (2021). <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2015282.html>, Erişim tarihi 28.11.2021
- ChemSpider (2021). <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.36584.html>, Erişim tarihi 28.11.2021
- ChemSpider (2021). <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4444897.html>, Erişim tarihi 28.11.2021
- ChemSpider (2021). <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4447526.html>, Erişim tarihi 28.11.2021
- ChemSpider (2021). <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.8269366.html>, Erişim tarihi 28.11.2021
- ChemSpider (2021). <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.97037.html>, Erişim tarihi 28.11.2021
- Cope, R.B. (Ed.) (2018). Trichothecenes. In *Veterinary Toxicology* pp. 1043-1053. Academic Press, doi:10.1016/B978-0-12-811410-0.00075-1.

- Coşgun, G.D. (2006). İnsan kan lenfositlerinde sitrininin mikronükleus sıklığı ve mitotik indeks üzerine etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Çağındı, Ö. (2009). Ayçiçeği, Keten Tohumu, Yulaf ve Mürdüm Eriği Kuru ile Zenginleştirilmiş Süt, Acı (Bitter) ve Beyaz Çikolataların Raf Ömrü Boyunca Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özelliklerinin Araştırılması, Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Çiçek, M. (2012) Batı Akdeniz Bölgesinde Tüketilen Şaraplarda Ochratoxin A Varlığı. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.
- Davy, B.M., Davy, K.P., Ho, R.C., Beske, S.D., Davrath, L.R., ve Melby, C.L. (2002). High-fiber oat cereal compared with wheat cereal consumption favorably alters LDL-cholesterol subclass and particle numbers in middle-aged and older men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **76**(2), 351-358.
- Delcour, J. ve Hosney, R.C. (2010). *Principles of Cereal Science and Technology*. 3rd Edition, pp. 280. AACC International; St. Paul, MN, USA.
- Desjardins, A.E. (2006). *Fusarium Mycotoxins: Chemistry, Genetics, and Biology*. American Phytopathological Society (APS Press).
- Desphande, S.S. (2002). *Handbook of Food Toxicology*. Marcel Dekker, Inc. 270 Madison Avenue, p. 387-457. New York, USA.
- Di Conza, J.A., Nepote, A.F., González, A.M. ve Lurá, M.C. (2007). (GTG) 5 microsatellite regions in citrinin-producing *Penicillium*. *Revista Iberoamericana de Micología*, **24**(1), 34-37.
- Doğan A. Ve Tuzcu, M. (2001). Fumonisinler. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, **7**(2): 237-244, 2001.
- Durukan, E.N. (2017). Kahvaltılık gevrekler genel bakış. <https://www.gidagundemi.com/makale/kahvaltılık-gevrekler-genel-bakis-m205.html>. Erişim Tarihi: 25.03.2021.
- Eaton, D.L., Gallagher, E.P. (1994) Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, **34**, 135-172.

- Edwards, S.G. (2004). Influence of agricultural practices on Fusarium infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. *Toxicology Letters*, **153**(1), 29-35.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2004) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the food chain on a request from the commission related to aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. Request No EFSA-Q-2003-035. *The EFSA Journal*, **39**, 1-27.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2015). Experimental study of deoxynivalenol biomarkers in urine. *EFSA Supporting Publications*, **12**(6), 818.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2017). Human and animal dietary exposure to T-2 and HT-2 toxin. Question No EFSA-Q-2016-00563, *The EFSA Journal*, **15**(8), 1-57.
- Estrada-Girón, Y., Martínez-Preciado, A.H., Michel, C.R. ve Soltero, J.F.A. (2015). Characterization of extruded blends of corn and beans (*Phaseolus vulgaris*) cultivars: Peruano and black-querétaro under different extrusion conditions. *International Journal of Food Properties*, **18**(12), 2638-2651.
- Fast, R.B. (1987). Breakfast cereals-processed grains for human consumption. *Cereal Foods World*, **32**(3), 241.
- Fast, R.B. ve Caldwell, E.F. (2000). *Breakfast Cereals and How They are Made?* (2nd ed). American Association of cereal chemists.
- Foster-Powell, K., Holt, S.H., ve Brand-Miller, J.C. (2002). International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **76**(1), 5-56.
- Franceschi, S., Bidoli, E., Baron, A.E. ve La Vecchia, C. (1990). Maize and risk of cancers of the oral cavity, pharynx and esophagus in Northeastern Italy. *Journal of National Cancer Institute*, **82**, 1407–1411.
- Gambacorta, L., Magistà, D., Perrone, G., Murgolo, S., Logrieco, A. F., ve Solfrizzo, M. (2018). Co-occurrence of toxigenic moulds, aflatoxins, ochratoxin A, Fusarium and Alternaria mycotoxins in fresh sweet peppers (*Capsicum annuum*) and their processed products. *World Mycotoxin Journal*, **11**(1), 159-174.

- Gault, V.A. ve McClenaghan N.H. (2013). *Understanding Bioanalytical Chemistry: Principles and Applications*. John Wiley & Sons.
- Girgin, G., Başaran, N., ve Şahin, G. (2001). Dünyada ve Türkiye’de İnsan Sağlığını Tehdit Eden Mikotoksinler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, **58**(3), 97-118.
- Goldblatt, L. (1969). *Aflatoxin: Scientific Background, Control, and Implications*, Academic Press, New York.
- Gratz, S.W., Dinesh, R., Yoshinari, T., Holtrop, G., Richardson, A.J., Duncan, G. ve ark. (2017). Masked trichothecene and zearalenone mycotoxins withstand digestion and absorption in the upper GI tract but are efficiently hydrolyzed by human gut microbiota in vitro. *Molecular Nutrition & Food Research*, **61**(4), 1600680.
- Guo, W., ve Beta, T. (2013). Phenolic acid composition and antioxidant potential of insoluble and soluble dietary fibre extracts derived from select whole-grain cereals. *Food Research International*, **51**(2), 518-525.
- Gupta R.C. (2012). Ochratoxin and Citrinin. İçinde: R.C. Gupta (ed). *Veterinary Toxicology*, London Academic Press; 1220-1226.
- Guy, R. (Ed.). (2001). *Extrusion Cooking: Technologies and Applications*. Woodhead publishing.
- Günaydın, Ş. ve Karaca, H. (2015). Küf gelişimi ve mikotoksin oluşumunun kontrolünde doğal bitki ekstraktlarının kullanımı. *Akademik Gıda*, **13**(2), 173-182.
- Gürses, M., Erdoğan, A., ve Çetin, B. (2004). Occurrence of Aflatoxin M₁ in Some Cheese Types Sold in Erzurum, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **28**(3), 527-530.
- Harper, J.M. (Ed) (2019). *Extrusion of Foods*. CRC press.
- Head D.S., Cenkowski S., Arntfield S. ve Henderson K. (2010) Super heated steam processing of oat groats. *LWT -Food Science and Technology*, **43**, 690–694.
- Huffman, J., Gerber, R. ve Du, L. (2010). Recent advancements in the biosynthetic mechanisms for polyketide-derived mycotoxins. *Biopolymers*, **93**(9), 764-776.
- IARC (1987a). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans – IARC, **10**, 440. Retrieved from <https://monographs.iarc.fr/iarc-monographs-on-the-evaluation-of-carcinogenic-risks-to-humans-80>.

- IARC (1987b). IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, **40**, 452.
- IARC (1993a). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, **56**, 599. Retrieved from <https://monographs.iarc.fr/iarc-monographs-on-the-evaluation-of-carcinogenic-risks-to-humans-65/>
- IARC (1993b). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, **56**, 397– 444.
- IARC (1993c) Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans **56**, 245–395. IARC Lyon France: World Health Organization.
- IARC (2002). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, **82**, 338. <https://doi.org/10.1002/food.19940380335>
- IARC (2006). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans PREAMBLE. Retrieved from <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/CurrentPreamble.pdf>
- IARC (2012). Aflatoxins. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Chemical agents and related occupations, 100F, 225– 248. <http://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Chemical-Agents-And-Related-Occupations-2012>.
- IARC (2019). Agents classified by the IARC monographs. Volumes 1–123. IARC. Retrieved from <https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>
- Ibáñez-Vea, M., Martínez, R., González-Peñas, E., Lizarraga, E., ve de Cerain, A.L. (2011). Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in breakfast cereals from Spanish market. *Food Control*, **22**(12), 1949-1955.
- Iqbal, S.Z., Rabbani, T., Asi, M.R., ve Jinap, S. (2014). Assessment of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in breakfast cereals. *Food Chemistry*, **157**, 257-262.
- Jay, J.M., Loessner, M.J. ve Golden, D.A. (2008). *Modern Food Microbiology*. Springer Science & Business Media.

- Joy, E.E., Aswei B.E. ve Nicholas G.M., (2016). Preparation and Evaluation of Granola – a Breakfast Cereal, Sustituted with Maize (*Zea May*) and Coconut (*Cocos nucifera*) Blend. *International Journal of Nutrition and Food Science*. **5**(1), 47-52.
- Kaplan. D. A. (2018). One Hundred Years of Corn Flakes. History, Marketing and Spray-on Vitamins at Kellogg’s Cereal City. *Chicago Tribune and Dallas Morning News*.
- Karmally, W., Montez, M. G., Palmas, W., Martinez, W., Branstetter, A., Ramakrishnan, R. ve ark. (2005). Cholesterol-lowering benefits of oat-containing cereal in Hispanic Americans. *Journal of the American Dietetic Association*, **105**(6), 967-970.
- Kaya, S., Şanlı, Y., Pirinçci, İ., Yavuz, H., Baydan, E., Demet, Ö., ve Bilgili, A. (1995). *Veteriner Klinik Toksikoloji*. Medisan Yayınları, 21.
- Khaneghah, A.M., Fakhri, Y., Raeisi, S., Armoon, B. ve Sant'Ana, A.S. (2018). Prevalence and concentration of ochratoxin A, zearalenone, deoxynivalenol and total aflatoxin in cereal-based products: a systematic review and meta-analysis. *Food and Chemical Toxicology*, **118**, 830-848.
- Kielstein, P. (1993). Pilze als Krankheitserreger bei Mensch und Tier. *Allgemeine Mikologie* (ed. Weber, H.). Gustav Fischer Verlag Jena–Stuttgart, 467-505.
- Köksel, H., ve Özboy, Ö. (1993). Besinsel lif analiz yöntemleri. *Gıda*, **18**(1).
- Köppen, R., Koch, M., Siegel, D., Merkel, S., Maul, R. ve Nehls, I. (2010). Determination of mycotoxins in foods: current state of analytical methods and limitations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **86**(6), 1595-1612. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2535-1>.
- Lee, H.J., ve Ryu, D. (2015). Significance of ochratoxin A in breakfast cereals from the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **63**(43), 9404-9409.
- Magan, N. ve Olsen, M. (2000). *Mycotoxins in Food*. Published in North America by CRC Press LLC. p. 420-424. New York, Washington USA.
- Majeed, M., Khaneghah, A.M., Kadmi, Y., Khan, M.U. ve Shariati, M.A. (2018). Assessment of ochratoxin A in commercial corn and wheat products. *Current Nutrition & Food Science*, **14**(2), 116-120.
- Mantle, P.G. (2002). Risk assessment and the importance of ochratoxins. *International biodeterioration & biodegradation*, **50**(3-4), 143-146.

- Martins, C., Assunção, R., Cunha, S. C., Fernandes, J. O., Jager, A., Petta, T., Oliveira, C. A. ve Alvito, P. (2018). Assessment of multiple mycotoxins in breakfast cereals available in the Portuguese market. *Food Chemistry*, **239**, 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.088>.
- Molinie, A., Faucet, V., Castegnaro, M., Pfohl-Leszkowicz, A. (2005). Analysis of some breakfast cereals on the French market for their contents of ochratoxin A, citrinin and fumonisin B1: development of a method for simultaneous extraction of ochratoxin A and citrinin. *Food Chemistry*, **92**, 391–400.
- Massey, T.E., Stewart, R.K., Daniels, J.M. ve Ling, L. (1995) Biochemical and molecular aspects of mammalian susceptibility to aflatoxin B1 carcinogenicity. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **208**, 213–227.
- Matz, S.A. (Ed.). (1959). *The Chemistry and Technology of Cereals as Food and Feed*. AVI Publishing Company.
- Meggs, W.J. (2009) Epidemics of mold poisoning past and present. *Toxicology of Industrial Health*, **25**(9-10), 571–576.
- Merrill Jr., A.H., Sullards, M.C., Wang, E., Voss, K.A., Riley ve R.T. (2001). Sphingolipid metabolism: roles in signal transduction and disruption by fumonisins. *Environmental Health Perspectives*, **109** (Suppl. 2), 283–289.
- Minervini F., Dell'Aquila M.E. (2008). Zearalenone and reproductive function in farm animals. *International Journal of Molecular Sciences*, **9**, 2570–2584. DOI: 10.3390/ijms912.
- Mogi, S., Toei, R. ve Yamaguchi, M. (1969). *U.S. Patent No. 3,456,575*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Molyneux, R., Mahoney, J.N., Kim, J.H. ve Campbell, B.C. (2007). Mycotoxins in edible tree nuts. *International Journal of Food Microbiology*, **119**, 72–78.
- Morgan K., Zabik M. ve Stampely, G. (1986). Breakfast consumption patterns of US children and adolescents. *Nutrition Research*, **6**, 635–46.
- Oteiza, J.M., Khaneghah, A.M., Campagnollo, F.B., Granato, D., Mahmoudi, M.R., Sant'Ana, A.S. ve Gianuzzi, L. (2017). Influence of production on the presence of patulin and ochratoxin A in fruit juices and wines of Argentina. *LWT*, **80**, 200–207.

- Özkaya Ş ve Temiz A. (2003) Aflatoksinler: Kimyasal yapıları, toksisiteleri ve detoksifikasyonları, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, **1**(1), 1-21.
- Payne, G.A. ve Widstrom, N.W. (1992). Aflatoxin in maize. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **10**(5), 423-440.
- Petska J.J. ve Smolinski A.T. (2005). Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health B*, **8**, 39-69. DOI: 10.1080/10937400590889458.
- Picarelli, A., Di Tola, M., Sabbatella, L., Gabrielli, F., Di Cello, T., Anania, M. C. ve ark. (2001). Immunologic evidence of no harmful effect of oats in celiac disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **74**(1), 137-140.
- Piotrowska, M. (2013). Contamination of breakfast cereal products by fungi and mycotoxins-a potential risk for consumer's health. *Biotechnology and Food Science*, **77**(1), 3-10.
- Pleadin, J., Frece J. ve Markov, K. (2019). Mycotoxins in food and feed. İçinde: F. Toldra (Ed.), *Advances in Food and Nutrition Research*, 297-345, Academic Press.
- Rheeder, J.P., Marasas, W.F O., Thiel, P.G., Sydenham, E.W., Shepard, G.S. ve Van Schalkwyk, D.J. (1992). *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human oesophageal cancer in Transkei. *Phytopathology*, **82**, 353–357
- Ryu D, Hanna, M.A., Eskridge, K.M. (2003). Heat stability of zearalenone in an aqueous buffered model system,. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 1746-1748.
- Scott, P.M. (1989). The natural occurrence of trichothecenes. İçinde: V.R Beasley, (Ed.), *Trichothecene Mycotoxicosis: Pathophysiologic Effects*, vol. I. CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, pp. 1_26.
- Sepek K. (2016). Besinler ve sağlık. <https://www.beslenmerehberim.net/kahvaltilik-gevrek-faydalari-zararlari-besin-degerleri/> Erişim tarihi: 13.11.2021.
- Shephard, G.S. (2009). Aflatoxin analysis at the beginning of the twenty-first century. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **395**(5), 1215-1224.
- Singh, R., De, S. ve Belkheir, A. (2013). *Avena sativa* (Oat), a potential nutraceutical and therapeutic agent: An overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **53**(2), 126-144.

- Siriacho, P., Tamboon-Ek, P., ve Buanzguwon, D. (1991). Aflatoxin in maize in Thailand, *ACIAR Proceedings*, **36**, 187.
- Sweeney M.J. ve Dobson A.D.W.(1998). Mycotoxin production by *aspergillus*, *fusarium* and *penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology*, **43**, 141–158.
- Sydenham, E.W., Thiel, P.G., Marasas, W.F.O., Shepard, G.S., Van Schalkwyk, D.J., ve Koch, K.R. (1990). Natural occurrence of some *Fusarium mycotoxins* in corn from low and high esophageal cancer prevalence areas of Transkei, Southern Africa. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **38**, 1900-1903.
- Tatay E., Meca G., Font G. ve Ruiz M.J. (2014). Interactive effects of zearalenone and its metabolites on cytotoxicity and metabolism in ovarian CHO-K1 cells. *Toxicology In Vitro*, **28**, 95-103. DOI: 10.1016/j.tiv.2013.06.0252570.
- TGK (2011). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. Resmî Gazete Tarihi: 29.12.2011 Resmî Gazete Sayısı: 28157 (3.mükerrer) <https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=15692&MevzuatTur=7&MevzuatTertip=5>. Erişim tarihi 02.01.2022.
- Thomas R.G., Pehrsson P.R., Ahuja J.K.C., Smieja E. ve Miller K.B. (2013). Recent trends in ready-to-eat breakfast cereals in the U.S. *Procedia Food Science*, **2**, 20–26.
- Truswell, A.S. (2002). Cereal grains and coronary heart disease. *European Journal of Clinical Nutrition*, **56**(1), 1-14.
- Tunail, N. (2000). Funguslar ve mikotoksinler. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş*, **2**, 1-50.
- Turner, P.C., Flannery, B., Isitt, C., Ali, M. ve Pestka, J. (2012). The role of biomarkers in evaluating human health concerns from fungal contaminants in food. *Nutrition Research Reviews*, **25**(1), 162-179.
- Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. (2003). *Gıda Mikrobiyolojisi*. Meta Basım. 378s. Bornova-İzmir.
- Van der Merwe, K.J., Steyn, P.S. ve Fourie, L. (1965). Mycotoxins. Part II. The constitution of ochratoxins A, B, and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* wilh. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 7083-7088.

- Van Egmond, H.P. (1994). *Aflatoxins in Milk* (pp. 365-381). Academic Press, San Diego, CA.
- Villa, P. ve Markaki, P. (2009). Aflatoxin B1 and ochratoxin A in breakfast cereals from Athens market: Occurrence and risk assessment, *Food Control*, **20**(5), 455-461.
- Wang, J., Zhou, Y., Liu, W., Zhu, X., Du, L. ve Wang, Q. (2008). Fumonisin level in corn-based food and feed from Linxian County: a high-risk area for esophageal cancer in China. *Food Chemistry*, **106**, 241–246.
- Wang, Y., Liu, S., Zheng, H., He, C., Zhang, H. (2013). T-2 toxin, zearalenone and fumonisin B1 in feed stuffs from China, *Food Additives and Contaminants: Part B*, **6**(2), 116-122.
- Wen-Hsiung, C. ve Nion-Heng, S. (2007). Effect of citrinin on mouse embryonic development in vitro and in vivo. *Reproductive Toxicology*, **24**, 120-125)
- Whitaker, T.B. (2006). Sampling foods for mycotoxins. *Food Additives and Contaminants*, **23**(1), 50-61.
- WHO (World Health Organisation) (1998). Fumonisin Food Safety Digest https://www.who.int/foodsafety/FSDigest_Fumonisin_EN.pdf Erişim tarihi 02.01.2022.
- Yaver, E. ve Ertaş, N. (2013). Yulafin bileşimi, hububat endüstrisinde kullanım alanları ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, **13**.
- Zorlutuna, D. (2006). *Penicillium verrucosum*’un Siyah ve Yeşil Zeytinlerde Ochratoxin A ve Sitrinin Üretim Yeteneğinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

PİYASADA SATIŞA SUNULAN KAHVALTILIK GEVREKLERDE LC-MS/MS YÖNTEMİ İLE MİKOTOKSİN TAYİNİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 19	% 19	% 7	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	www.agrifoodscience.org İnternet Kaynağı	% 2
2	vdocuments.site İnternet Kaynağı	% 1
3	www.docstoc.com İnternet Kaynağı	% 1
4	www.makaleler.com İnternet Kaynağı	% 1
5	www.mevzuat.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
6	academicfoodjournal.com İnternet Kaynağı	% 1
7	dergipark.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
8	www.beslenmerehberim.net İnternet Kaynağı	% 1
9	www.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1