

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ULTRASES UYGULAMALARININ FINDIK PÜRELERİNDE
AFLATOKSİNLERİN DETOKSİFİKASYONU VE KALİTE
PARAMETRELERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Öğrencinin Adı SOYADI : Onur CİVİL

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih :

Enstitü Anabilim Dalı : Biyosüreç Mühendisliği

Tez Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi Levent ŞEN

Şubat 2024
GİRESUN

**T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ULTRASES UYGULAMALARININ FINDIK PÜRELERİNDE
AFLATOKSİNLERİN DETOKSİFİKASYONU VE KALİTE
PARAMETRELERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Onur CİVİL

Enstitü Anabilim Dalı : Biyosüreç Mühendisliği

Bu tez .././20.. tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

**Prof. Dr.
Aslıhan DEMİRDÖVEN
Jüri Başkanı**

**Dr. Öğr. Üyesi
Cavidan D. GÖKİŞİK
Üye**

**Dr. Öğr. Üyesi
Levent ŞEN
Üye**

**Prof. Dr.
Bahadır KOZ
Enstitü Müdürü**

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Onur CİVİL
15/12/2024

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tezimin her aşamasında ilgi, tecrübe ve önerilerini esirgmeden paylaşan değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Levent ŞEN'e çok teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ	V
TABLolar LİSTESİ	VI
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
BÖLÜM 1. GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Fındık	4
2.2. Türkiye’de ve Dünya’da Fındık Üretimi	5
2.3. Fındığın Kullanım Alanı	7
2.4. Fındığın Besin Değeri.....	8
2.5. Fındık Püresi.....	9
2.6. Fındık ve Fındık Mamülllerinde Mikotoksin Sorunu	12
2.7. Aflatoksinler	15
2.1.1. AF’ler için mevcut yasal düzenlemeler ve fındık püresinde mevcut durum.....	19
2.8. AF’lerin Degradasyonu.....	21
2.9. Ultrases Teknolojisi	22
2.10. Enzim Uygulamaları.....	23
BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM	26
3.1. Materyal	26

3.2. Yöntem	26
3.2.1. Deneysel tasarım.....	26
3.3. AF Degradasyon Koşullarının Saptanması	27
3.3.1. Örneklerin US uygulamasına hazırlanması	29
3.3.2. AF'lerin ekstraksiyonu ve tespiti	30
3.4. Fındık Püresi Örneklerinin Kalite Karakteristiklerinin Belirlenmesi	31
3.4.1. Peroksit değeri	31
3.4.2. Renk değişimi	32
3.4.3. Aroma indeksi	33
BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	34
4.1. AF Tespit Metodunun Validasyonu	34
4.2. Yanıt Yüzey Regresyon Analizi	35
4.2.1. AF'lerin degradasyonu.....	35
4.2.2. Aroma indeks değişimi ($\Delta AI\%$)	42
4.2.3. Peroksit sayısı değişimi (ΔPV)	44
4.2.4. Esmerleşme indeksi değişimi (ΔBI) ve toplam renk değişimi (ΔE).....	45
4.2.5. Sıcaklık değişimi (ΔT).....	49
4.2.6. Model validasyonu.....	49
BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ	52
KAYNAKLAR	54
EKLER	61
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ΔAI	: Aroma indeks değışimi
ΔE	: Toplam renk değışimi
ΔPV	: Peroksit sayısı değışimi
Ca	: Kalsiyum
Cu	: Bakır
Fe	: Demir
H ₂ O ₂	: Peroksit
K	: Potasyum
Mg	: Magnezyum
Na	: Sodyum
OH	: Hidroksit
P	: Fosfor
Zn	: Çinko
AFB ₁	: Aflatoksin B ₁
AFB ₂	: Aflatoksin B ₂
AFG ₁	: Aflatoksin G ₁
AFG ₂	: Aflatoksin G ₂
AFT	: Aflatoksin
BBD	: Box-Behnken tasarımı
IAK	: İmmünoafinite kolon
LOD	: Tayin limiti
LOQ	: Ölçüm limiti
ml	: Mililitre
Ppm	: Parts per million
PV	: Peroksit değeri
RSM	: Yanıt yüzeyi metodolojisi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Fındık püresi üretim akış şeması.....	11
Şekil 2.2. Aflatoksinlerin moleküler yapıları.....	15
Şekil 2.3. AFlerin biyosentetik oluşum yolu- Avefurin oluşum basamağı.....	17
Şekil 2.4. Avefurin' den AF'lerin oluşum yolu.....	18
Şekil 4.1. a) başlangıç AFT konsantrasyonu ($\mu\text{g kg}^{-1}$ veya ppb) ve US gücü (W), b) US uygulama süresi (min) ve US gücü (W) ve c)Enzim uygulaması ($\mu\text{L 50g}^{-1}$ fındık ezmesi) ve US gücü (W)'nün AF'lerin degradasyonu üzerine 3 boyutlu etkileşim grafikleri; 1)AFT%, 2)AFG2%, 3)AFG1%, 4)AFB2% ve 5)AFB1%.....	40
Şekil 4.2. Üç boyutlu modeller a) enzim uygulaması ve US gücünün $\Delta\text{AI}\%$ üzerindeki ortak etkisi, b) US uygulama süresinin ve US gücünün $\Delta\text{AI}\%$ üzerindeki ortak etkisi, c) US gücü ve enzim işleminin ΔPV üzerindeki ortak etkisi, d) US uygulama süresinin ve US gücünün ΔBI üzerindeki ortak etkisi, e) US uygulama süresinin ve enzim işleminin ΔBI üzerindeki ortak etkisi, f) enzim uygulamasının ve US gücünün ΔBI üzerindeki ortak etkisi, g) AFT ve US uygulama süresinin ΔE üzerindeki ortak etkisi, h) US uygulama süresi ve enzim uygulamasının ΔE üzerindeki ortak etkisi, i) US gücü ve US uygulama süresinin ΔE üzerindeki ortak etkisi, j) US gücü ve US uygulama süresinin ΔT üzerindeki ortak etkisi ve k) enzim uygulaması ve US gücünün ΔT üzerindeki ortak etkisi	48

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Dünya fındık üretimi (kabuklu/bin ton).....	5
Tablo 2.2. Türkiye'nin ülkelere göre fındık ihracat rakamları (bin ton).....	6
Tablo 2.3. Fındığın yaklaşık kimyasal bileşimi	9
Tablo 3.1. Her seviyeye ait örneklerin başlangıç AF konsantrasyonları	26
Tablo 3.2. Box-Behnken (BBD) deneysel tasarım parametreleri	27
Tablo 3.3. Box-Behnken deneme planı.....	28
Tablo 3.4. AF analizi için kullanılan HPLC şartları	30
Tablo 4.1. Farklı fortifikasyon seviyelerine sahip fındık püresi numunelerinde AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 ve AFT'nin yöntem doğruluk verileri ve validasyon sonuçları.....	35
Tablo 4.2. BBD tasarımı ve tasarım sonucu elde edilen yanıtlar.....	37
Tablo 4.3. Yanıtlardan elde edilen regresyon katsayıları ve p değerleri.....	38
Tablo 4.4. Optimize edilmiş AF'lerin bozulma süreci için farklı düzeylerdeki faktörler ve bunların yanıtları.....	50

ULTRASES UYGULAMALARININ FINDIK PÜRELERİNDE AFLATOKSİNLERİN DETOKSİFİKASYONU VE KALİTE PARAMETRELERİNE ETKİSİ

ÖZET

Aflatoksinler (AF'ler), küflerin toksik ikincil metabolitleri olup fındık ve fındık ürünleri gibi birkaç gıda maddesinin kalitesini düşürebilen maddelerdir. Bu çalışmada, ultrases teknolojisi kullanılarak fındık pürelerinde AF'lerin parçalanma düzeyinin optimizasyonu ve kalite parametrelerinde meydana gelen değişikliklerin ortaya konulması amaçlanmıştır. AF'ler için veriler, çoklu regresyon analizi kullanılarak polinom yanıt modellerine uyarlanmış, her bir aflatoksin türü için yüksek determinasyon katsayıları (0.8917 ile 0.9674 arasında R² değerleri) ile sonuçlanmıştır. Toplam aflatoksinler (AFT) ve AFB₁ için maksimum bozulma yüzdesine ulaşmak için optimal koşulların, 80W US gücü, 2.5 U/g numune enzim işlemi ve 12.5 µg/kg AFT koşulları için 20 dakika US uygulaması olduğu grafiksel ve sayısal optimizasyonlar sonucunda belirlenmiştir. Optimum koşullar, sırasıyla AFT% ve AFB₁ için %44.33 ve %45.58 bozulma sağlamış, tahmin edilen değerler ise sırasıyla AFT% ve AFB₁ için %43.93 ve %44.17 olmuştur. Veriler, enzim işlemlerinin AFB₁% ve AFT% için önemli olmadığını, ancak AFB₂ ve AFG₂ için önemli olduğunu göstermiştir. Başlangıçtaki AFT konsantrasyonuna bağlı olarak, mevcut tasarım parametreleriyle %50'den fazla bozulma oranına ulaşılmıştır. Çalışma sonuçları, US işleminin fındık ezmesinin belirli kalite parametrelerini değiştirebileceğini, aroma değişiklikleri, bronzlaşma indeksinde azalma ve peroksit değerinde hafif bir artış gibi sonuçlar göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin, Degradasyon, Enzim, Fındık, Ultrases

THE DETOXIFICATION OF AFLATOXINS AND THE EFFECT ON QUALITY PARAMETERS IN HAZELNUT PASTES BY ULTRASONIC APPLICATIONS

SUMMARY

Aflatoxins (AFs) are toxic secondary metabolites of filamentous fungi which can reduce the quality of several food commodities like hazelnut and hazelnut products. In this study, it was aimed to optimize the degradation level of AFs in hazelnut purees using ultrasound technology and to reveal the changes in quality parameters. For the AFs, the data were fitted to polynomial response models using multiple regression analysis, resulting in high coefficients of determination (R^2 values ranging from 0.8917 to 0.9674) for each type of aflatoxins. The optimal conditions for achieving maximum degradation percentages for total aflatoxins (AFT) and AFB1 were determined to be US power of 80W, enzyme treatment of 2.5 U g sample, and 20 minutes of US application for 12.5 $\mu\text{g kg}$ AFT conditions after graphical and numerical optimizations. The optimum conditions resulted in 44.33% and 45.58% degradation for AFT% and AFB1 respectively, with predicted values of 43.93% and 44.17% for AFT% and AFB1. The data exhibited that, enzyme treatments were not significant for degradation for AFB1% and AFT%, whereas significant for AFB2 and AFG2. Depending on the initial AFT concentration, more than 50% degradation rate was achieved by current design parameters. Study results indicated that US treatment can alter certain quality parameters of hazelnut paste, including changes in aroma, a decrease in browning index, and a slight increase in peroxide value.

Keywords: Aflatoxin, Degradation, Enzyme, Hazelnut, Ultrasound

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Fındık (*Corylus avellana* L.), sert kabuklu meyveler arasında en popüler olan yemişlerden biri olup dünya çapında çok çeşitli şekil ve formlarda tüketilebilen (Oliveira ve ark., 2008), iyi bir yağ, karbonhidrat, protein, diyet lifi, vitamin ve mineral kaynağı olması bakımından da insan beslenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Ozdemir ve Akıncı, 2004).

Tarih boyunca insan beslenmesinde önemli bir yer tutmuş olan fındık, ilk zamanlar hiç işlem görmeden tüketilmiş ancak teknolojinin gelişmesi ile günümüzde değişik işlemlerden geçirilerek çok çeşitli fındık ürünleri halinde tüketime sunulmaktadır. Fındık günümüzde çiğ ve kavrulmuş olarak tüketilebildiği gibi, soyma, beyazlatma, dilimlere ayırma, parçalama, öğütme, pasta veya püre haline getirme gibi işlemler yanında, emülsiyon, sütlü karışımlar ve diğer gıda maddeleri karışımı halinde de tüketilebilmektedir. Ayrıca, fındığın şekerleme, çikolata, kek ve pasta gibi ürünlere katılarak veya tuzlanarak hazırlanması yaygın kullanma şekilleri arasında yer almaktadır. Gıda ambalajlama teknolojisi ve malzeme biliminde meydana gelen gelişmelerin sonucunda, fındıkların ambalajlı tüketim şekilleri ortaya çıkmış, bu yolla uzun süre muhafazası yanında tazelik ve bileşim özelliklerinin korunması da sağlanabilmektedir (Baş ve ark., 1989).

Türkiye'nin Karadeniz kıyıları çok geniş fındık bahçeleri ile çok büyük bir fındık üretim kapasitesine sahiptir ve bu üretim kapasitesi Türkiye'yi dünyanın en büyük fındık üreticisi haline getirmektedir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAOSTAT) verilerine göre, Türkiye'nin ortalama kabuklu fındık üretimi 2000'den 2019'a kadar yaklaşık 545.000 metrik tondur (bu değer toplam dünya üretiminin yaklaşık %70'ine karşılık gelmektedir). İtalya (%13), Amerika (%3,9) ve Azerbaycan

(%3.4), Türkiye'yi kabuklu fındık üretiminde belirtilen üretim oranları ile takip eden diğer üretici ülkelerdir (FAOSTAT, 2021).

Mikotoksinler, genellikle *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* ve *Alternaria* küf türlerinin sekonder metabolitleri olup 300'den fazla fungal metabolitin gerek insan gerekse de hayvan sağlığı açısından potansiyel risk oluşturduğu bilinmektedir. Dünya genelinde tarımsal ürünlerin yaklaşık %25'inin mikotoksinlerden kaynaklanan problemler nedeniyle kullanılamaz hale geldiği bilinmekte ve olumsuz şartlar altında toksijenik küf gelişimine maruz kalmış ve mikotoksin içeren bu tarımsal ürünler tüketildiğinde insan ve hayvanlarda toksik etkiler oluşturmaktadır (Şen ve Nas, 2010). Varlığı belirlenen mikotoksin sayısı ve çeşidi sürekli artarken, gıda ve yemlerde bunların varlığını kontrol altına almak amaçlı gerçekleştirilen yasal düzenleme sayısı da hızla artmaktadır (Znedine ve Manes 2009). Dünya genelinde yapılan araştırmalara en çok konu olan mikotoksinler; Afler (B1, B2, G1 and G2), Okratoksin A (OTA), fumonisinler (FB1, FB2), Deoxynivalenol (DON), Zearalenone (ZEN), T-2 ve HT-2 toxinleridir (Park ve ark., 2001).

Fındıkta uygun koşullarda yapılmayan hasadın, tekniğine uygun yapılmayan kurutma, depolama ve işlemenin küf gelişimini tetikleyebileceği belirtilmektedir. Bunun sonucunda, küflerin fındıkta gelişmesine bağlı olarak ürettiği en önemli sekonder metabolit olan Aflatoksinlerin (Afler) fındık ve fındık ürünlerinde önemli düzeyde kalite ve ekonomik kayıplara neden olabileceği ve insan sağlığını riske edeceği aşikardır (Özçakmak ve Dervişoğlu, 2007). Fındığın sert kabuğu, fındık meyvesini herhangi bir istila ve/veya kontaminasyona karşı koruyan iyi bir bariyer olarak kabul edilse de aflatoksijenik küf türleri, kurutma veya depolama gibi üretim zincirinin herhangi bir aşamasında daneleri kirletebilir ve Afler üretebilir (Kabak, 2016). Dolayısıyla, fındık gibi sert kabuklu meyveler AF' ler açısından riskli mamullerdir. Bu ürünlerde küf kontaminasyonunun daha bahçede önlenmesi mikotoksin probleminin önüne geçilmesinde hayati bir öneme sahip olsa da bu her zaman mümkün olan bir uygulama olamamaktadır. Ancak bazı önleyici tedbirlerin alınması AF oluşumunun olabildiğince önüne geçilmesi açısından oldukça önemlidir.

Mikotoksinlerin ayıklama, kavurma gibi fiziksel yöntemlerle, kimyasal ve mikrobiyolojik yöntemlerle giderilme çalışmaları son yıllarda üzerinde durulan konulardan birisidir. Ancak, fiziksel yöntemlerin dışında kimyasal ve mikrobiyolojik yöntemlerin pek çoğu özellikle gıda maddesinin gerek tat ve koku gerekse de kimyasal bileşiminde neden olduğu deformasyon nedeniyle tercih edilmemektedir. Bununla birlikte fiziksel metodların hiçbirisi de mikotoksinli ürünü sağlam olanlardan güvenli bir şekilde ayıramamaktadır. Bu bağlamda özellikle mikotoksin oluşabilecek riskli ürünlerde yapılması gereken ilk iş ürüne mikotoksin oluşuktan sonra değil, oluşmadan önce müdahale edilmesidir. Bununla birlikte, AFlerin özellikle fındık püresi gibi katma değeri yüksek, çok önemli bir ara üründen giderilmesi/detoksifikasyonu son derece önemli bir konudur. Mikotoksinlerin detoksifikasyonunu konu alan güncel çalışmalar elektron ışını ışınlaması, sitrik ve laktik asitler, ozon gazı, soğuk plazma ve nötr elektrolitik su uygulamaları gibi konuları ele almıştır. Ultrases ise son yıllarda mikotoksin detoksifikasyonu amacıyla denenmekte olan yeni teknolojilerden biridir. Ultrases uygulamalarında sekonder kirleticiler üretilmediğinden, çevre dostu bir teknoloji olarak değerlendirilmektedir (Liu ve ark., 2019).

Bu çalışmada, ultrases teknolojisi kullanılarak fındık pürelerinde AFlerin parçalanma düzeyinin optimizasyonu ve kalite parametrelerinde meydana gelen değişikliklerin ortaya konulması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Fındık

Kayın ağacıgiller (Fagales) takımının Huş ağacıgiller (Betulaceae) familyası içerisinde yer alan fındık *Corylus* cinsine ait sert kabuklu bir meyve olarak tanımlanmaktadır (Özata, 2021). Kendine özgü iklim istekleri olan uzun ömürlü çalı formunda bir kültür bitkisi olan fındık, 36-41° kuzey enlemleri arasında, ılıman iklim kuşağı olarak değerlendirilen Japonya'dan, Çin, Mançurya, Kafkasya, Türkiye, Avrupa ve Kuzey Amerika'ya kadar uzanan bir bölgede yabani form biçiminde yetiştirilmektedir (Günay ve ark., 2020).

Corylus cinsinin kaç türü olduğu konusunda farklı kaynaklarda farklı sayılar verilmesine rağmen, genellikle bu cinsin 9-25 kadar tür içerdiği kabul edilir. Bu türler, Asya, Avrupa, Kuzey Amerika ve Güney Amerika gibi çeşitli coğrafyalarda yaygın olarak bulunabilir (İslam, 2019). Bu türlerin birçoğu, fındık üretimi için ekonomik olarak önemlidir. *Corylus* cinsine ait fındık türlerinden *Corylus avellana* L. (adi fındık), *Corylus colurna* L. (Türk fındığı) ve *Corylus maxima* mill (lambert fındığı) meyvecilik bakımından önemli olan ve ekonomik olarak kültürü yapılan önemli fındık türleridir (TEPGE, 2021). Türkiye’de Tombul, İncekara, Kargalak, Uzunmusa, Palaz, Kalınkara, Çakıldak, Mincane, Foşa, Değirmendere, Yassı Badem, Yuvarlak Badem, Sivri, Kan, Acı, Cavcava gibi fındık çeşitleri olmasına karşın (Çakır, 2020) ekonomik açıdan önemli ve yaygın olarak yetiştirilen çeşitler Tombul, Çakıldak, Palaz, Foşa ve Mincane’dir (İslam, 2019). Ayrıca gerek üniversitelerde gerekse de araştırma enstitülerinde verimi yüksek, kuraklığa dayanıklı yeni fındık çeşitlerinin ıslahına yönelik araştırmalar yürütülmektedir. Yüksek verimli, kaliteli fındık çeşitlerinin ıslahı ve ekonomiye kazandırılması da son derece önemli bir konudur. Islah edilen yeni çeşitlerin tescillenerek üreticiler tarafından kullanımının yaygınlaştırılması fındık verimini arttıracaktır.

2.2. Türkiye’de ve Dünya’da Fındık Üretimi

Fındık, dünya genelinde en çok tüketilen kuru yemişlerden biridir ve aynı zamanda üretici ülkeler açısından önemli bir ihraç ürünüdür. Fındık üretimi, özellikle Türkiye, İtalya, ABD ve İspanya gibi ülkelerde yaygın olarak gerçekleştirilmektedir. Türkiye’de fındık üretimi 33 ilde gerçekleştirilmesine rağmen, üretimin neredeyse tamamı 6 ilde yoğunlaşmıştır. Bu iller Ordu, Giresun ve Trabzon olarak adlandırılan eski üretim bölgeleri olmak üzere Sakarya, Düzce ve Samsun ise yeni üretim bölgesidir. Bu 6 il, Türkiye’nin fındık üretiminin %85’ ini oluşturmaktadır (Sıray, 2010).

2001-2021 yılları arasında dünyanın ortalama kabuklu fındık üretim miktarı yaklaşık 872.000 metrik ton olup, Türkiye toplam üretimin %66’sını karşılamaktadır. Türkiye’yi daha düşük üretim miktarlarıyla İtalya (%13), ABD (%4.3), Azerbaycan (%3.7) ve Gürcistan (%2.8) takip etmektedir (FAO, 2023).

Son yıllarda Azerbaycan ve ABD’nin fındık üretiminde artış olduğu ifade edilmektedir (www.tmo.gov.tr). Dünyadaki fındık üretim miktarları Tablo 2.1 de gösterilmiştir. 2016-2020 yılları arası veriler dikkate alındığında Türkiye’nin Dünya üretiminde en önemli ülke olduğu açıkça görülmektedir.

Tablo 2.1. Dünya fındık üretimi (kabuklu/bin ton) (www.tuik.gov.tr,www.fao.org)

ÜLKELER	2016	2017	2018	2019	2020	Ortalama
Türkiye	420000	675000	515000	776000	665000	610200
İtalya	130000	90000	125000	65000	160000	114000
Gürcistan	60000	80000	50000	38000	50000	55600
Azerbaycan	50000	65000	68000	42000	50000	55000
ABD	39000	27000	4600	39500	56600	41680
İspanya	20000	19000	16000	12400	4500	14380
Diğerleri	60500	74600	93300	114500	128500	94280
Toplam	779500	1030600	913600	108.400	1114600	985140

2016-2020 yılları arasında ülkemizin yaklaşık 610 bin ton ile toplam dünya üretiminin %62' sini karşıladığı, diğer ülkelerin ise 375 bin ton ile toplam Dünya üretiminin %38'ini karşıladığı görülmektedir. Türkiye'de dekar başına fındık verimi 2014-2019 yılları arasında 96 kg olarak gerçekleşmiş olup, fındık veriminde ABD, Ermenistan ve Fransa ilk 3 sırayı paylaşmaktadır (Anonim, 2022). FAO verilerine göre; 10 yıllık ortalama fındık verimi ABD'de 261 kg/Da, Yunanistan'da 219 kg/Da, Çin' de 200 kg/Da olarak gerçekleşmiştir (Anonim, 2022).

Fındık, Türkiye'de ekonomik olarak önemli bir yere sahip olup, en yüksek döviz getiren, ülke ekonomisine katkıda bulunan başlıca ürünlerdendir. Ülkemizde yıllık ortalama 350000 ton işleme kapasiteli 40 fabrika fındık işleme faaliyeti gerçekleştirmektedir (Öztürk ve ark., 2017). Türkiye 2020 yılı verilerine göre 2.80 metrik ton fındık ihracatı gerçekleştirerek yaklaşık 2 milyar dolar gelir elde etmiştir (www.kib.org.tr). Yıllara göre Türkiye'nin ülkelere göre fındık ihracat rakamları Tablo 2.2 de verilmiştir.

Tablo 2.2. Türkiye'nin ülkelere göre fındık ihracat rakamları (bin ton) (www.kib.org.tr)

Ülke Adı	2016	2017	2018	2019	2020	Ortalama (Ton)
ALMANYA	100.628	127.086	141.371	146.954	134.880	130.184
İTALYA	103.070	108.868	102.342	167.797	112.868	118.989
FRANSA	44.936	45.718	36.999	45.438	38.652	42.349
POLONYA	17.470	20.178	19.755	23.971	24.044	24.084
HOLLANDA	15.318	20.256	22.315	22.412	21.979	20.456
KANADA	22.004	22.762	18.904	17.132	16.863	19.533
AVUSTURYA	17.612	17.772	16.580	18.699	20.487	18.230
İSVİÇRE	18.378	17.348	17.733	18.361	18.793	18.123
BELÇİKA	15.000	20.432	17.129	14.886	15.616	16.613
DİĞER	100.696	138.826	165.374	163.895	157.666	145.292
TOPLAM	455.112	539.246	558.502	639.545	561.848	553.853

Türkiye'de yaklaşık 18 fındık çeşidinin hasadı gerçekleştirilmektedir. Bu çeşitlerden bazıları Acı, Cavcava, Çakıldak, Foşa, Ham, İncekara, Palaz, Sivri, Tombul ve Uzun'dur. Bu çeşitler arasında Tombul fındık toplam fındık üretiminin %25-30'unu

oluşturmakta olup, üstün kalite özelliklerine sahiptir. Özellikle Giresun kalite tombul fındık, yüksek yağ içeriği, özgün tat ve aroma, kavurma sonrası kolay zar atması sebebiyle bu fındık çeşidine yurt içi ve yurt dışında yoğun bir talep mevcuttur (Alasalvar ve ark., 2003).

2.3. Fındığın Kullanım Alanı

Fındık, Türkiye ve dünya genelinde atıştırmalık olarak yaygın bir şekilde tüketilmektedir. Çıtlatıldıktan sonra tuzlanıp kavrulmasıyla elde edilen çerez formunun yanı sıra, fındık içi doğal veya beyazlatılmış olarak sunulmakta ve çeşitli işlemlerden geçirilerek üretilen fındık ürünleri olarak piyasada bulunmaktadır. Bu ürünlerin küresel kullanım alanları řu şekildedir: %80'i çikolata sektöründe kullanılırken, %15'i sütlü, meyveli, sebzeli tatlılarda, aşurelerde, kek, bisküvi, pasta, dondurma, şekerleme, nuga, draje, helva üretiminde, tavuk, balık, sebze, erişte, makarna gibi ürünlerde sos olarak, kokteyl ve kanepelerde, ayrıca kahvaltılarda ekmek üzerine sürülerek, peynir ezmelerinde, şurup üretiminde, buğday ve çavdar ununa katılarak ekmek üretiminde, yoğurtlarda ve sütlerde aroma sağlayıcı olarak kullanılırken %5'i de çerez olarak pazarlanmaktadır (Köksal ve ark., 2006; Kırca ve ark., 2018; www.kib.org.tr). Fındığın Türkiye'deki kullanım alanlarına göz atıldığında, %70'i çikolata sektöründe, %20'si pasta ve tatlı üretiminde ve %10'u da çerez olarak satışa sunulmaktadır (Uzundumlu ve ark., 2019).

Kırılmış, vurgunlu ya da ezik iç fındıklar genellikle yemeklik fındık yağı olarak kullanılırken; gizli çürük, çürük ya da acılaşmış fındıklar kozmetik ve sabun endüstrisinde gliserin ve stearin üretiminde değerlendirilmektedir. Bozuk fındıklardan elde edilen yağlar ise boya endüstrisinde kullanılmaktadır. Yağ ayrıldıktan sonra geriye kalan küspe, kümes hayvanları ve süt hayvanları için yem üretiminde kullanılırken, natürel fındığın etrafını saran ve kavrulduktan sonra uzaklaştırılan zar ise hayvan yemlerinde değerlendirilmektedir (Köksal ve ark., 2006; Kırca ve ark., 2018).

2.4. Fındığın Besin Değeri

Diğer sert kabuklu meyvelerle karşılaştırıldığında, fındık besin açısından önemli bir kaynak olarak öne çıkmaktadır. 100 gram fındığın 634 kalori sağladığı belirtilirken, fındığın yaklaşık 600-700 kalori enerji içerdiğini ifade eden çalışmalar da mevcuttur (Köksal, 2018).

Fındık, içerdiği besin öğeleri açısından zengin bir profil sunmaktadır. Karbonhidrat bakımından %10-22 arasında değişen bir içeriğe sahiptir. İç fındığın protein oranı ise %10-24 arasında değişmekte olup, 100 gram iç fındık tüketimi günlük protein ihtiyacının %22'sini karşılayabilir. Fındığın kuru madde içeriğinin %2.8-7.9'u toplam şeker içermektedir. Fındık içerisinde bulunan organik asitler arasında en fazla malik asit bulunmakta olup, galaktronik, süksinik, levulinik, sitrik, asetik ve bütirik asitler de düşük miktarlarda mevcuttur. Fındıktaki toplam yağ miktarı 100 gram fındıkta 50-73 gram arasında değişim gösterir. Fındık yağ asitleri açısından incelendiğinde, en yüksek oranda oleik asit bulunur ve bunu sırasıyla linoleik, palmitik, stearik ve linolenik asit izler. Oleik asidin kandaki kolesterol düzeyini azaltıcı etkisi vardır, linoleik asit ise damar içi daralmasını önlemeye yönelik bir etkiye sahiptir. Ayrıca, fındıktaki linoleik ve linolenik asitlerin kandaki lipit ve gliserid düzeyini düşürerek hipertansiyonu azaltıcı etki gösterdiği bildirilmektedir (Özdemir ve ark., 2014; Köksal, 2018).

Ağaçta yetişen kuru yemişler arasında, fındık en zengin E vitamini kaynağıdır. Sadece günde 40 gram fındık tüketmek, yetişkinler için gereken E vitamini miktarının tamamını karşılamaktadır. Vitamin E, vücuttaki en güçlü antioksidanlardan biridir (Alasalvar ve ark., 2003). Fındık, zengin mineral içeriğine ek olarak B1, B6 vitaminleri, niasin ve α - tokoferol gibi önemli vitamin kaynakları arasında bulunmaktadır (Köksal, 2006).

Fındığın mineral madde içeriğine ilişkin birçok çalışma bulunmaktadır. Fındıkta en fazla bulunan minerallerin K, P, Ca ve Mg olduğu bildirilmiş; Fe, Zn ve Cu'nun varlığı ve yüksek K/Na oranı, fındığı insan beslenmesi ve özellikle elektrolit dengesi

açısından ilginç bir kabuklu yemiş olduğu ifade edilmiştir (Köksal ve ark., 2006). 16 fındık çeşidinden elde edilen ortalama kimyasal bileşim Tablo 2.3’ de ifade edilmiştir.

Tablo 2.3. Fındığın yaklaşık kimyasal bileşimi (Köksal ve ark., 2006)

Bileşenler	Ortalama Değerleri	Bileşenler	Ortalama Değerleri
Nem (%)	4.29	Folik asit (µg/100g)	43
Protein (%)	17.4	Retinol (mg)	3.25
Yağ (%)	61.66	Thiamin (B1 vit.) (mg)	0.27
Sodyum (mg)	2.6	Riboflavin (B2 vit.) (mg)	0.05
Potasyum (mg)	863	Vitamin B6 (mg)	0.50
Kalsiyum (mg)	186	Vitamin E (mg)	24.7
Magnezyum (mg)	173	Fenilalanin (mg)	637
Fosfor (mg)	287	Arjinin (mg)	2000
Demir (mg)	4.2	Lisin (mg)	454
Bakır (mg)	2.3	Serin (mg)	719
Çinko (mg)	2.90	Tirozin (mg)	471
Mangan (mg)	5.60	Doymamış/Doymuş yağ	13.1

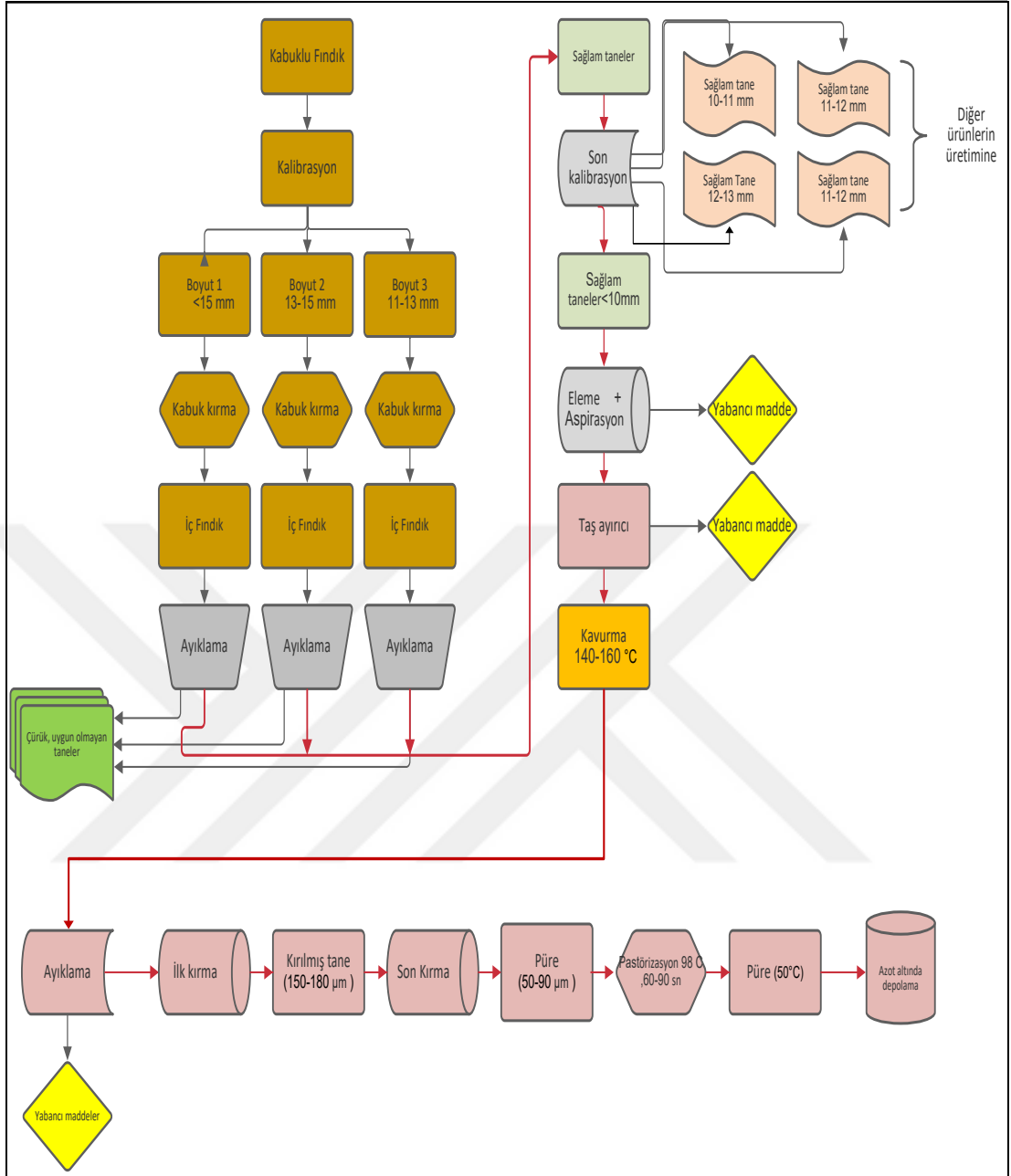
2.5. Fındık Püresi

Fındık püresi (ayrıca sanayide fındık füresi olarak da adlandırılır), fındık çekirdeklerinin öğütülmesiyle elde edilen kremamsı yapıya ve homojen bir kıvamına sahip endüstriyel bir yarı mamuldür. Genellikle çikolata ürünleri, çikolata kremaları, şekerlemeler, fırın ürünleri, salatalar ve tatlılar gibi birçok üründe içerik olarak kullanılmaktadır (Ozçelik ve Karaali 2002; Senyuva ve Gilbert 2005).

Fındık ezmesinin genel üretim akış şeması Şekil 2.1’de verilmiştir. Kısacası, kabuklu fındık soyulduktan sonra boyutlarına göre sınıflandırılmakta, ardından, sağlıklı çekirdeklerden uygun olmayanları (örneğin küflü çekirdekler gibi) ayırmak için bir ayıklama işlemi gerçekleştirilmektedir. Daha büyük boyuttaki fındık çekirdekleri (10 mm çapından büyük) atıştırmalıklar, çikolata üretimi ve tatlılar için kullanılırken, daha

küçük çekirdekler (gelişmemiş veya daha az gelişmiş çekirdekler) fındık püresi üretimi için kullanılır (Bonvehi ve Coll 2009; Şen ve Civil 2022). Kavrulma işleminden sonra küçük boyuttaki çekirdekler üzerine isteğe bağlı olarak bir aspirasyon işlemi uygulanır ve koyu renkli zarları (ince kabuk) çıkarılır. Daha sonra kavrulmuş çekirdekler değirmenler aracılığıyla ortalama 50-90 mikrometreye kadar öğütülür. Öğütülerek neredeyse sıvı hale getirilmiş olan fındık püresi, pastörize edilir ve pazarlanıncaya kadar azot gazı altında büyük tanklarda depolanır. Son ürünün içeriği %50'den fazla yağ ve %1'den az su içermektedir (Ercan ve Dervisoglu, 1998; Ozçelik ve Karaali, 2002).

Genellikle kabuklu fındığın dış kabuğu ve çekirdeği kaplayan koyu kahverengi ince zar, fındık çekirdeklerini kontaminasyon ve istilaya karşı koruyan çok iyi bir bariyer olarak görev yapar. Ancak, özellikle kabuklar böcekler, memeliler veya mekanik kuvvetler tarafından hasar gördüğünde, belirli küf türleri, özellikle aflatoksinler (AF'ler) üretebilen küf türleri, üretim sürecinin herhangi bir aşamasında çekirdekleri AF'lerle kontamine etme potansiyeline sahiptir (Kabak, 2016).



Şekil 2.1. Fındık püresi üretim akış şeması

Karadeniz Bölgesi'nde yüksek kapasiteli modern kurutma tesislerinin yetersizliği nedeniyle üreticiler, örneğin beton veya çim yüzeyler üzerinde güneş altında kurutma gibi yöntemler kullanarak ürünlerini geleneksel yöntemlerle kurutmak zorunda kalmaktadır. Bu, üretim hacminin büyük olması nedeniyle yeterli kapasite bulunmamasından kaynaklanmaktadır (Turan ve Karaosmanoğlu, 2019). Bölgedeki hava genellikle yağışlı olup, kabuklu fındığın kuruma döneminde nem yüksektir. Kuruma süreci yağışlı ve nemli hava koşullarına denk gelirse, fındık çekirdeklerinin

uygun nem içeriğine (yaklaşık %6) ulaşması daha uzun sürebilir ve bu da ürünü mikotoksin üretebilen küflerin istilasına daha duyarlı hale getirebilmektedir (Kabak, 2016). Ayrıca, yüksek nem ve sıcaklık gibi uygun olmayan depolama koşulları, küf gelişimine ve dolayısı ile de AF'lerin oluşumuna yol açabilmektedir (Ozay ve ark., 2008; Houshyarfard ve Javadi, 2018).

2.6. Fındık ve Fındık Mamüllerinde Mikotoksin Sorunu

Fındıkta küf kontaminasyonu yaygın bir durumdur ve bazı küf türlerinin fındık üzerinde gelişmesi ve ürettikleri sekonder metabolitler ile insan ve hayvan sağlığını tehdit etmektedir. Fındık gibi sert kabuklu meyvelerde mikotoksin problemi uzun süredir bilinmekte ve önlem alınmadığı takdirde üretici ülkelerin ekonomisine büyük zararlar vermektedir (Şen, 2017).

Fındık ve fındık mamullerinde en sık rastlanan mikotoksin AF'lerdir. AF'lerin hayvanlar üzerinde kanserojenik, mutajenik ve immüno-supresif etkileri olduğu birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuş, epidemiyolojik çalışmalar ise insanların günlük diyetlerindeki AF seviyesi ile karaciğer kanseri görülme sıklığı arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermiştir (Ragmanoli ve ark., 2009). Fındıkların erken hasat edilmesi, naylon çuvallarda nemli ortamda bekletilmesi ve toprak üzerinde kurutulması durumunda aflatoksin miktarında bir artış olabileceği, yağışlı hava koşullarında ise çiftçi harman alanlarında kurutma işleminin uzun sürmesi durumunda üründe belirlenen limitlerin üzerinde aflatoksin oluşabileceği ifade edilmektedir (Akpınar, 2008).

Mikotoksin üreten funguslar ile fındığın kontamine olması, fındıkta mutlaka mikotoksin bulunacağı anlamına gelmemektedir. Çünkü toksin üretimi çevresel şartlar, çeşit, meyvenin besin içeriği, mikrobiyal yükü ve küf türü (mikotoksijenik olup olmaması) gibi pek çok faktöre bağlıdır. Fungal gelişimi destekleyen şartların mikotoksin oluşumundan da sorumlu olması şeklinde bir yargıda bulunmak doğru değildir (Jackson ve Al- Taher, 2008). Ancak mikotoksin oluşumu açısından uygun ortamın (nem ve sıcaklık gibi) olması durumunda fındıkta AF'lere rastlanabilmektedir (Özçakmak ve Dervişoğlu, 2007).

Fındık gibi sert kabuklu meyveler AF'ler açısından riskli mamullerdir. Bu ürünlerde küf kontaminasyonunun daha bahçede önlenmesi mikotoksin probleminin önüne geçilmesinde hayati bir öneme sahip olsa da bu her zaman mümkün olan bir uygulama olamamaktadır. Ancak bazı önleyici tedbirlerin alınması AF oluşumunun olabildiğince önüne geçilmesi açısından oldukça önemlidir. Bu önleyici tedbirler birincil üretimden, işlemeye, dağıtımdan depolamaya kadar olan tüm aşamalarda İyi Tarım Uygulamaları (GAP), İyi Hijyen Uygulamaları (GHP), İyi Üretim Uygulamaları (GMP), İyi Depolama Uygulamaları (GSP) ve HACCP sistemini de içeren bir çerçevede düşünülmeli ve uygulanmalıdır (Şen, 2017). Bu bağlamda fındığın hasadı ve hasat sonrası işlemleri ve depolanması aşamalarında alınabilecek bazı önleyici tedbirler aşağıda verilmiştir.

i) Hasat ve hasat sonrası işlemler

- Fındığın hasadı yetkililerin öngördüğü süre zarfında mümkün olduğunca kısa sürede yapılmalıdır.
- Fındık toplama aşamasında mümkün olduğunca toprakla teması kesilmelidir.
- Fındık toplandıktan sonra zurufların uzaklaştırılacağı alana taşınmalı, taşıma sırasında fındıkların hava alabileceği nitelikte ve daha önceden kullanılmamış temiz çuvallar kullanılmalıdır.
- Fındıklar taşınırken kullanılan araçlar kuru ve temiz olmalı, gözle görülebilir nitelikte küf bulaşısı içermemelidir. Eğer hasat edilen fındık hemen taşınmıyor ise kuru ve temiz bir alanda muhafaza edilmelidir.
- Fındık zuruflarının uzaklaştırılması için kullanılan patozların makine ayarları fındığın çeşit ve büyüklüğüne uygun yapılmalıdır.
- Zuruflara soldurma işleminin gerekli olduğu durumlarda ürün ince bir tabaka halinde serilmeli, ürüne böcek, küf, kimyasal madde bulaşmaları önlenmelidir. Yağışlı havalarda ürünün ıslanmasını engellemek amacıyla mümkünse soldurma işlemi çardak altında yapılmalıdır. Soldurma işleminde ürünün yeniden nem alması ve havalandırmanın yetersiz olması AF oluşum riskini

oldukça arttıracığından bunun için gerekli önlemlerin alınması son derece önemlidir.

- Zuruflarından ayrılan fındıklar eğer güneşte kurutuluyor ise kurutma akşam saatlerinde sonlandırılmalıdır ve yağışlı havalarda ürünün nem alması engellenmelidir.
- Fındık mekanik kurutucularda kurutulacak ise kurutma sıcaklığı 40 °C' nin üzerine çıkmamalıdır. Kurutma sonunda fındığın nem ve aw değerleri kontrol edilmelidir. Kurutma sonunda nem değeri %5 ve aw değeri ise 0.70' in altında olmalıdır.
- Fındık işleme tesislerinde gerekli hijyenik önlemlerin alınması son derece hayatidir. Fındık işleme tesislerinde kullanılan ekipmanlar işletmenin her bir bölümü için ayrı olmalı, personele gerekli hijyenik eğitim verilmelidir.
- Hasarlı, uygun olmayan fındıkların ayrılması için elektronik sistemler kullanılmalıdır.
- İşletmeler etkin bir şekilde HACCP sistemini uygulamalıdır.

ii) Depolama

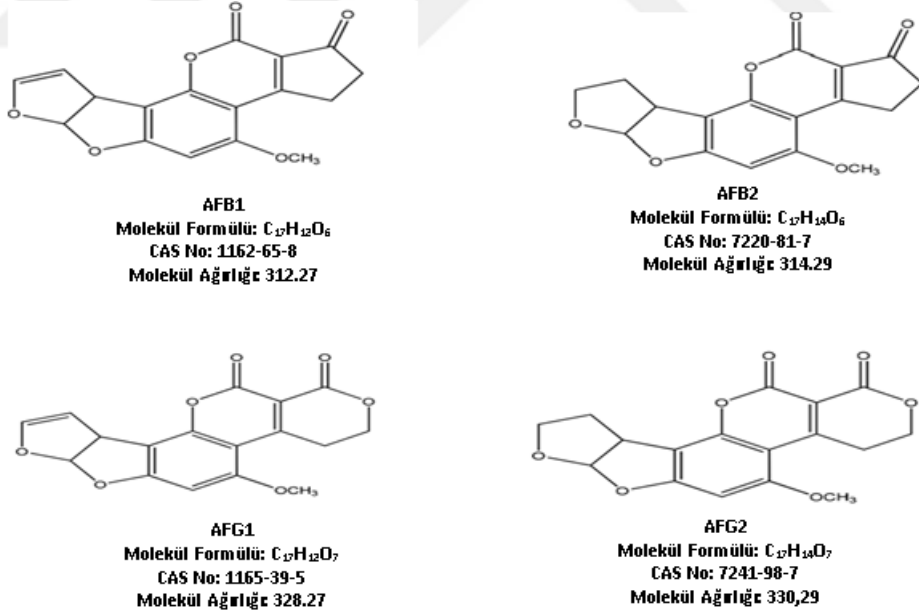
- Fındık depolama alanları, temiz ve kuru olmalı, bağıl nemin %70' in altında olması sağlanmalıdır.
- Küf çoğalmasının önüne geçmek amacı ile eğer imkan varsa depo sıcaklığı 0-10 °C aralığında tutulmalıdır.
- Depolarda tescilli insektisit ve fungusitler kullanılarak küf ve zararlıların depolama alanlarında çoğalmaları engellenmelidir.

Mikotoksinlerin ayıklama, kavurma gibi fiziksel yöntemlerle, kimyasal ve mikrobiyolojik yöntemlerle giderilme çalışmaları son yıllarda üzerinde durulan konulardan birisidir. Ancak, fiziksel yöntemlerin dışında kimyasal ve mikrobiyolojik yöntemlerin pek çoğu özellikle gıda maddesinin gerek tat ve koku gerekse de kimyasal bileşiminde neden olduğu deformasyon nedeniyle tercih edilmemektedir. Bununla birlikte fiziksel metodların hiçbirisi de mikotoksinli ürünü sağlam olanlardan güvenli bir şekilde ayıramamaktadır. Bu bağlamda özellikle mikotoksin oluşabilecek riskli

ürünlerde yapılması gereken ilk iş ürüne mikotoksin oluştuğundan sonra değil, oluşmadan önce müdahale edilmesidir (Şen, 2017).

2.7. Aflatoksinler

AF'ler beyaz kristal formda, kloroform metanol ve dimetil sülfoksit gibi kısmen polar çözücülerde çözünebilir ve suda ise 1 ile 20 µg/ ml oranında çözünebilir bileşiklerdir. Kimyasal olarak AF'ler ultraviyole ışıktaki floresans özellik gösteren (362 nm' de) 18 adedi bilinen bir seri bisulfuran polisiklik bileşiklerdir (Desphande 2002). AF'ler, UV ışığını (362 nm) kuvvetle absorblarlar ve AFB1 ve AFB2 için 425 nm de; AFG1 ve AFG2 için ise 450 nm de floresans emisyonu oluştururlar. 18 adet AF bileşiği içerisinde doğada en sık rastlanan AF bileşikler AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2' dir. Oluşturdukları toksik etki gücüne göre sıralama ise AFB1 > AFG1 > AFB2 > AFG2 şeklindedir. AF'lerin toksisiteleri molekülün terminal furan halkasının 8. ve 9. pozisyonlarında bulunan çift bağlardan kaynaklanmaktadır (Stroka, 2001). AF'lerin moleküler yapıları Şekil 2.2'de gösterilmiştir.



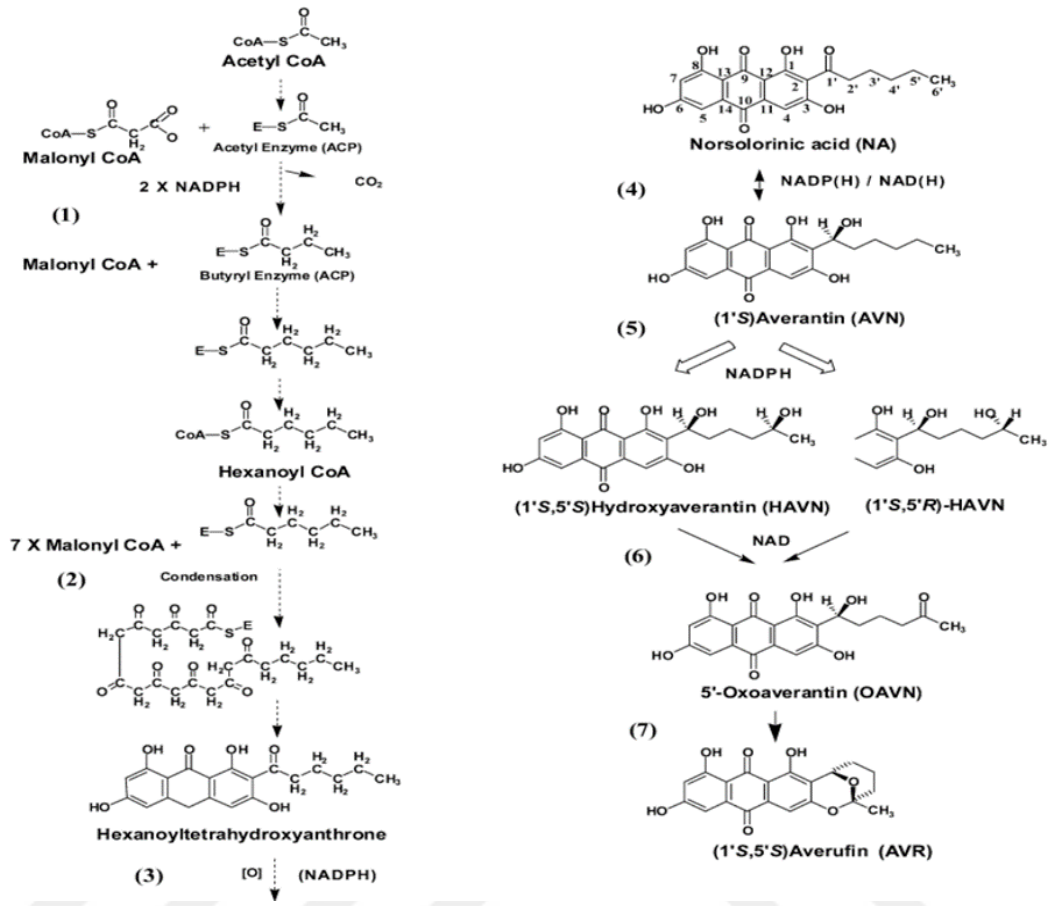
Şekil 2.2. Aflatoksinlerin moleküler yapıları

AF'lerin biyosentezi çoklu enzimatik reaksiyonları içeren kompleks bir süreçtir. Yapılan çalışmalar AF'lerin biyosentetik yolunda AFB1 ve AFB2' nin

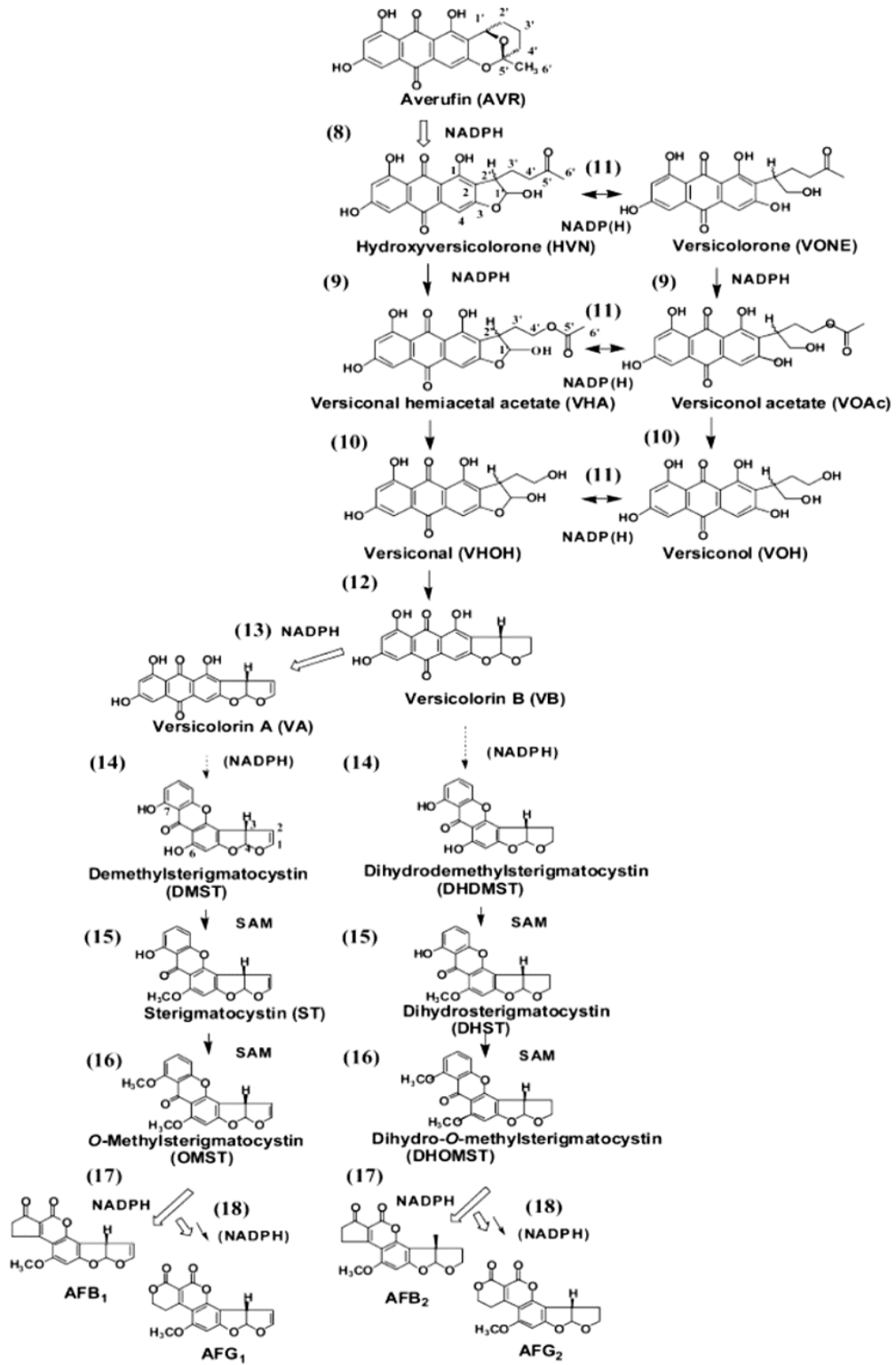
Sterigmatosistin ve O-metilsterigmatosistinden, AFB2 ve AFG2' nin ise dihidro-O-metilsterigmatosistinden meydana getirildiği belirlenmiştir. AF' lerin oluşumunda kullanılan biyosentetik yol Şekil 2.2 ve Şekil 2.3'de gösterilmiştir. Bu durum AF'lerin oluşum mekanizmasında Sterigmatosistin (ST)' in AFB1' in öncü maddelerinden biri olduğu ve AFB1 ile aynı biyosentetik yolu kullandığı belirlenmiştir (Yabe ve Yakajima, 2004; EFSA, 2013).

AF biyosentetik yolu incelendiğinde *A. nidulans* ve *A. versicolor*' un ST'i O-metilsterigmatosistin'e dönüştüremediği, bununla birlikte *A. flavus* ve *A. parasiticus*' un bunu gerçekleştirebildiği dolayısıyla da AF' leri üretebildiği belirlenmiştir (EFSA, 2013).

AFB1' in oluşumunda ilk ara ürün norsolorinik asittir. Norsolorinik asit iki aşamalı bir reaksiyonla önce averantin, daha sonra da averufin'e dönüştürülür. Bir sonraki biyosentetik proses, averufin halka yapısının açılması ve bunu takip eden bir dehidrasyon, epoksidasyon ve epoksid düzenleme ile versikonal hemiasetal A' dan versikolorin A oluşumudur. Versikolorin A bir oksidoredüktaz enzimi vasıtası ile son büyük ara ürün olan ST'e dönüştürülür. Tüm aflatoksinlerin yapısında bulunan o-metoksi grubu S-adenosil metiltransferaz'ın katalizlediği bir metil donörü olan S-adenosilmetiyonin' den kaynaklanmaktadır. Enzim ST'i O-metilsterigmatosistin' e dönüştürmektedir. Versikolorin A, sterigmatosistin, ve AFB1' deki bisfuran halkasının oluşumu, versikonal hemiasetal asetat'ın ester bağlarının hidrolizi ile asetil grubun eliminasyonu ve bunu takiben halkanın kapanmasını içermektedir (Şekil 2.3 ve Şekil 2.4). Bu olay terminal hidroksil grubun hemiasetal yapı ile sonuçlanan aldehit oluşturmak için oksidasyonu ile gerçekleşmektedir (Desphande, 2002).



Şekil 2.3. Aflerin biyosentetik oluşum yolu- Avefurin oluşum basamağı



Şekil 2.4. Avefurin' den AF'lerin oluşum yolu

Aflatoksinler, özellikle *Aspergillus flavus* ve *A. parasiticus* türlerine ait olan, belirli küf türleri tarafından üretilen toksik ve kanserojen sekonder metabolitlerdir (EFSA, 2020). Aflatoksinlerle kontamine olmuş çeşitli ürünlerin tüketilmesi nedeniyle, özellikle gelişmekte olan ülkelerde, küresel insan nüfusu sık sık bu toksinlere düşük seviyelerde kronik maruziyetle karşı karşıyadır. Dünya genelinde tahmini olarak 4.5 milyar birey, başta aflatoksinle kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi yoluyla bu maruziyetten etkilenmektedir (Pickova ve ark., 2021). Şu ana kadar 18'den fazla farklı aflatoksin türü tanımlanmış olsa da, tarım ürünlerini genellikle AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2 türleri kontamine etmektedir (Benkerroum, 2020; Kabak, 2021). Ayrıca, eğer yemler aflatoksinle kontamine ise, süt hayvanları bu kontamine yemi alabilir ve AFB1 ve AFB2, hidroksile formları AFM1 ve AFM2'ye hayvanlar tarafından metabolize edilebilir, ki bu bileşikler de hayvanların sütlerinde tespit edilebilir (Turner ve Alatraktchi, 2023).

Yapılan araştırmalar, AF'lerin toksik özelliklerinden dolayı insanlarda ve hayvanlarda mutajenik, immünsüpressif, hepatokarsinojenik ve teratojenik etkilere neden olabileceğini göstermektedir. Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı (IARC), AFB1'i Grup-1 karsinojenler olarak sınıflandırmıştır (IARC 1993). Deneysel hayvan çalışmaları sonucunda, AFB1, G1 ve M1'in karsinojenik etkileri için yeterli kanıt sağlanmış, AFB2 için sınırlı kanıt bulunmuş ve AFG2 için yetersiz kanıt bulunmuştur (IARC, 2012). AFB1'in tarım ürünlerinde en yaygın olarak karşılaşılan aflatoksin türü olduğu, diğer üç türün (AFB2, AFG1 ve AFG2) genellikle AFB1'in varlığı olmadan gözlemlenmediği tahmin edilmektedir (Knutsen ve ark., 2018).

2.1.1. AF'ler için mevcut yasal düzenlemeler ve fındık püresinde mevcut durum

Bugüne kadar, aflatoksinle kontamine gıdaların detoksifikasyonu için çok başarılı yöntemler bulunamamış olması, tarımsal ürünlerin ithalat ve ihracatında aflatoksinle kontamine birçok ürünün tespit edilmesi, hem insan tüketimi için sunulan gıdaların hem de yemlerin mikotoksinlere karşı kontrol edilmesini zorunlu hale getirmiştir (Şen, 2017).

Fındıkla ilgili olarak ülkemizde rapor edilen ilk mikotoksin sorunu, 1967 yılında, Kanada'ya gönderilen 10 ton iç fındıkta aflatoksin tespit edilmesi sonucunda geri çevrilmesiyle başlamıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), 1960'ların sonlarında ilk kez 30 µg/kg'dan daha fazla aflatoksin içeren gıdaların ithal edilmemesi kararını almışlardır (Hacıbekiroğlu, 2013). Bu aflatoksin limit değerleri zamanla düşürülmüştür. Bu kararlara uygun olarak, Avrupa ülkeleri bu iki kurumun belirlediği limitlerden daha düşük sınırlar belirlemiş, UNICEF gibi kuruluşlar da çocukların tüketimine sunulan gıdalarda daha düşük değerlerin benimsenmesine katkıda bulunmuştur. Avrupa Birliği ülkelerinde her gıda grubu için belirlenen limitler farklıdır ve bu sınırlar, 1881/2006 sayılı Komisyon Tüzüğü'nde belirtilmiştir.

165/2010 sayılı Avrupa Birliği Komisyon Tüzüğü'nde ve son olarak da 925/2023 sayılı tüzükte, 1881/2006 sayılı Komisyon Tüzüğü'nde yer alan AF limitlerinde değişiklik yapılmış ve son halini almıştır. Bu tüzüğe göre, doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer bir fiziksel işleme tabi tutulacak olan fındıklar için AFB1 ve toplam AF limitleri sırasıyla 8 µg/kg ve 15 µg/kg olarak belirlenmiştir. Ayrıca doğrudan insan tüketimine sunulan ve gıda bileşeni olarak kullanılan fındıklar için ise AFB1 ve toplam AF limitleri sırasıyla 5 µg/kg ve 10 µg/kg olarak belirlenmiştir.

2002 ile 2022 yılları arasındaki RASFF raporları incelendiğinde, sistemdeki toplam 159.555 bildiriden, 12.326'sinin (%7.7) mikotoksinlerle ilgili olduğu ve bunların da 830'unun (%6.7) Türkiye menşeli fındık ve fındık ürünlerinde AF'lerin varlığı ile ilgili bildirimler olduğu belirlenmiştir (EC, 2022). Ayrıca, yapılan son bir çalışma, 2011 ile 2021 arasındaki RASFF bildirimlerine göre, yaklaşık 3000 bildirimin "Fındık, Fındık Ürünleri ve Tohumlar" hakkında olduğunu ortaya koymuştur. "Fındık, Fındık Ürünleri ve Tohumlar" için toplam bildirimlerin %10'u (n=311) fındık ve fındık ürünleri ile ilgiliyken, bunlardan 11'i fındık püresi/ezmesi ile ilgilidir (Owolabi ve ark., 2023). RASFF sistemi tarafından rapor edilen fındık püresi ürünleri için nispeten düşük insidansın temel nedenlerinden biri, yüksek seviyede AF içeren fındık püresi ürünlerinin AF içermeyen ürünlerle karıştırılması olabilir. Bu uygulama sonucunda,

nihai ürünün AB mevzuatı tarafından belirlenen limit değerlerinden daha düşük AF seviyelerine sahip olması sağlanmaktadır. Diğer yandan, fındık ezmesi, şekerleme endüstrisinde popüler bir malzeme olarak, sıkça sahteciliğe maruz kalmaktadır. Fındık püresinde tağşişe yönelik olası yöntemler arasında nohut unu eklemek (Suman ve ark., 2021), yer fıstığı eklemek (Europol, 2017) veya rafine/rafine edilmemiş bitkisel yağlarla seyreltmek (Bonvehi ve Coll, 2009) bulunmaktadır. Bu nedenle, özellikle bitkisel yağların fındık püresinde tağşiş amacıyla kullanılması, sadece ürün tağşişi için değil, aynı zamanda fındık püresindeki AF seviyelerini düşürmek amacıyla da kullanılabilir.

Ayrıca, literatürde fındık ezmesindeki AF'lerin varlığıyla ilgili çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Imperato ve ark., (2011) (n=5), Baltacı ve ark., (2012) (n=619) ve Şen ve Civil (2022) (n=202) AF'lerin insidansının fındık püresi örneklerinde oldukça yüksek bir olduğunu rapor etmelerine rağmen, çok az sayıda örneğin belirlenen maksimum yasal limitleri aştığı bildirilmiştir (%2'nin altında). Bu çalışmalar (aynı zamanda RASFF raporları da dahil olmak üzere), fındık püresi örnekleri için daha yüksek insidansın (ancak AF'lerin maksimum izin verilen limitlerinin altındaki daha düşük kontaminasyon seviyeleriyle) daha düşük kaliteli fındık kullanılmasından veya ürünün AF seviyelerini AF içermeyen ürünlerle karıştırarak veya başka bir katkı maddesi kullanarak düşürmeye dayalı olabileceğini göstermektedir

2.8. AF'lerin Degradasyonu

Tarımsal gıda ürünlerinde AF kontaminasyonunun önlenmesi için son birkaç on yılda hasat öncesi ve sonrası yaklaşımlar tartışılmaktadır. Önleyici yaklaşım, küflere dayanıklı doğru ürün çeşitlerinin seçilmesini, tarlanın iyi tarım uygulamaları gibi metotlarla yönetilmesini, hasat sonrası işlemlerin (ayıklama veya kurutma gibi) yapılmasını ve uygun depolama koşullarının sağlanmasını içermektedir. Ancak bu önleme yöntemleri oldukça zorlu olup, birçok değişkeni bir araya getirmek gerekmekte ve aflatoksin içermeyen ürünler elde etmeyi garanti etmemektedir (Peng ve ark., 2023). Bu durum, AF kontaminasyonunun yönetilmesinde hasat sonrası detoksifikasyon tekniklerinin öneminin altını çizmektedir.

Mikotoksin dekontaminasyonuna yönelik geleneksel yöntemler arasında adsorpsiyon, pişirme, kavurma, fırınlama ve kızartma gibi fiziksel tekniklerin yanı sıra kimyasal maddeler, amonyaklama ve ozonlamayı içeren kimyasal yaklaşımların yanı sıra fermentasyon, mikrobiyal metabolizasyon ve enzim bazlı uygulamalar gibi biyolojik yöntemler yer alır (Pankaj ve ark., 2018). Ayrıca yapılan son çalışmalarda alternatif yöntemler olarak mikrodalga uygulamaları, ışınlama, darbeli ışığa maruz bırakma, vurgulu elektrik alan uygulaması, ultrason uygulamaları ve soğuk plazma teknolojisi gibi birçok yenilikçi yaklaşım araştırılmıştır (Peng ve ark., 2023).

2.9. Ultrases Teknolojisi

Ultrases (US), son yıllarda dikkat çeken, termal olmayan bir gıda işleme tekniğidir. US terimi, insanların duyabileceğinden daha yüksek frekanslara sahip, genellikle 20 KHz ile 10 MHz arasındaki ses dalgalarını ifade etmektedir. Ses dalgaları, sıkıştırma ve genişleme arasında geçiş yaparken kavitasyon kabarcıkları oluşturabilir. Rektifiye difüzyon gibi fizikokimyasal süreçler, enerji emilim sınırlamaları nedeniyle mikrokabarcıkların kritik bir boyutta şiddetli bir şekilde patlayana kadar hızla büyümesine neden olur (Adebo ve ark., 2021).

Kavitasyon baloncukları çöktüğünde, geçici bir sıcak nokta oluşturur ve bu bölgede yüksek lokalize sıcaklık ve basınç ortaya çıkar. Bu olay, çevresel ortamdaki kimyasal reaktiviteyi artırabilir ve tahmini sıcaklıkların ve basınçların 5000 K ve 5000 atm'ye kadar ulaştığı gözlemlenebilir (Pingret ve ark., 2013; Hashemi Moosavi ve ark., 2021). Bu koşullar, büyük molekülleri daha küçük bileşiklere parçalayabilen mikrokabarcıkların çökmesi nedeniyle daha hızlı kimyasal reaksiyonlara ve güçlü kesme kuvvetlerine yol açabilir (Suslick ve ark., 2011; Pingret ve ark., 2013; Adebo ve ark., 2021). Ekstrem koşullar üreten böyle bir olay, ortamda bulunan kirletici maddelerin bozunmasına neden olabilir. Ultrasonik (US) işleminin kullanımı, gıda ve kimya endüstrilerinde emülsifikasyon, homojenleştirme, ekstraksiyon, temizleme/sterilizasyon ve mikotoksinler gibi kirletici maddelerin bozunması gibi

fiziksel ve kimyasal etkiler yaratan çeşitli uygulama alanlarına sahiptir (Adebo ve ark., 2021).

US ile işleme, mikotoksijenik fungusları kontrol etme ve mikotoksinleri parçalama potansiyeli gösteren çevre dostu bir teknolojidir. Sulu ortamda ultrason uygulaması sırasında sudaki kovalent bağların kırıldığı ve OH[•] radikallerinin oluştuğu tahmin edilmektedir. Bundan sonra bu radikaller sulu ortamdaki AFB1, Deoksinivalenol, Zearelenon ve Okratoksin A gibi kirletici maddeleri okside etmektedir (Liu, ve ark., 2019).

US kullanılarak mikotoksin dekontaminasyonuna ilişkin önceki çalışmalar, mikotoksinin başlangıç konsantrasyonunun, katı-sıvı oranının, ultrasonik yoğunluğun ve uygulama süresinin AF' lerin degradasyonu için çok önemli parametreler olduğunu göstermiştir (Liu ve ark., 2022).

2.10. Enzim Uygulamaları

Lakkazlar, peroksidazlar, redüktazlar ve laktonazlar hem in vitro hem de gerçek numunelerde gıda ve yem sistemlerinde mikotoksinlerin parçalanması için kullanıldığı en çok rapor edilen enzimlerdir (Loi ve ark., 2017; Kumar ve ark., 2022; Yang ve ark., 2022). Bu enzimler arasında lakkaz, son birkaç on yılda gıda endüstrisindeki çeşitli uygulamalar için en kapsamlı şekilde çalışılan enzim olmuştur. Bu uygulamalar arasında içecek işleme, şarap stabilizasyonu, bira stabilizasyonu, fırınlamada hamur kıvamının iyileştirilmesi ve şeker pancarı pektininin jelleştirilmesi yer alır (Mayolo-Deloisa ve ark., 2020). Üstelik birçok araştırmacı, bu enzimin kullanımının, enzimin kaynağı, pH, ortamın sıcaklığı ve uygulama süresi gibi faktörlere bağlı olarak AF' leri çeşitli derecelerde parçalayabildiğini öne sürmüştür (Loi ve ark., 2017; Roychoudhury ve ark., 2022; Song ve ark., 2021; Yang ve ark., 2022). Enzimatik yolla AF degradasyonu işlemlerinin çoğu, biyoteknolojik uygulamalar dışında bu enzimleri in vitro olarak AF toksisitesini ortadan kaldırdığı belirlenmiş olsa da bunların endüstriyel üretimlerinin yapıp gerçek gıda sistemlerinde kullanımı yakın gelecekte mümkün görünmemektedir (Zaccaria ve ark., 2023).

Fındık ezmesi bağlamında bu enzimlerin proste kullanılması bazı riskleri beraberinde getirebilir. α -dikarbonil bileşikleri ile amino asitler arasındaki etkileşimin Maillard reaksiyonunda çok önemli bir rol oynadığı ve Strecker bozunması yoluyla hem aroma hem de renk gelişimine katkıda bulunduğu bilinmektedir (Yaylayan 2003). α -Dikarbonil bileşikleri, polimerizasyon reaksiyonlarının başlatılmasında önemlidir ve karbonhidrat bazlı melanoidinlerin oluşmasında görev alır. Fındığın kavrulması sırasında α -Dikarbonil bileşiklerinin ve amino asitlerin aroma ve renk gelişimindeki rolü daha önce yapılan bir çalışmada ortaya konmuştur (Göncüoğlu Taş ve Gökmen, 2017). AF'lerin parçalanması için önerilen çoğu enzim tipinin (örneğin, lakkazlar (Kumar ve Chandra, 2018), peroksidazlar (Thipraksa ve Chaijak, 2023) ve redüktazlar (Zhang ve ark., 2019) aynı zamanda Maillard reaksiyon ürünlerini parçalama yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla, fındık püresinin ana kalite parametrelerinin aroma ve renk olduğu düşünüldüğünde, bu enzimlerin kullanımı üründe kaçınılmaz bir kalite kaybına neden olabilir. Ticari olarak temin edilebilen herhangi bir AF degradasyon enziminin yokluğunda, belirli ticari amilaz enzimlerinin atık buğday ekmeğindeki AF'leri ayrıştırmadaki etkinliği literatürde daha önce test edilmiştir (Torabi ve ark., 2021).

US uygulamasının çeşitli gıda kategorilerinde mikotoksin degradasyonu üzerindeki etkisini araştırmak zorlu bir iştir. Olumlu sonuçlar elde etmek ve çalışma bulgularının sektörde başarılı bir şekilde uygulanabilmesi için her ürün için optimum parametrelerin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır.

Yanıt yüzeyi metodolojisi (RSM), karmaşık süreçleri modellemek ve optimize etmek için kullanılan yararlı bir istatistiksel tekniktir. RSM genellikle mühendislik, kimya ve biyoloji gibi çeşitli alanlarda, bir prosesin istenen çıktıyı elde etmesi için en uygun koşulları belirlemek amacıyla kullanılır. Bir RSM aracı olan Box-Behnken tasarımı (BBD), deneysel denemeleri optimize etmek için sıklıkla kullanılır. Box-Behnken tasarımı, deneylerdeki fiziksel sınırlamalar nedeniyle test edilmesi pratik olmayan kübik bölgedeki uç noktaları hariç tutar. Box-Behnken tasarımı (BBD), farmasötik, biyoproses, gıda mühendisliği ve tarım kimyasalları gibi endüstrilerde insan tüketimi için farklı kaynaklardan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda yaygın olarak

kullanılmaktadır. Bu bileşikler polisakkaritleri, fenolik bileşikleri ve proteinleri içerir (Ahmad ve ark., 2020).



BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu araştırmada doğal kontamine fındık püresi numuneleri (yaklaşık 5 µg/kg, 12.5 µg/kg ve 20 µg/kg toplam AF içeren) Yavuz Gıda, Giresun, Türkiye'den temin edilmiştir. Numuneler sırasıyla 6.93 µg/kg, 12.85 µg/kg ve 20.82 µg/kg toplam AF içermektedir. Tablo 3.1'de her seviyeye ait örneklerin AF konsantrasyonları gösterilmektedir. Her numuneye ait parti yaklaşık 5 kg ağırlığında olup ve kullanımdan önce homojen bir numune sağlamak için bir Waring blender ile 2 dakika karıştırılmıştır.

Tablo 3.1. Her seviyeye ait örneklerin başlangıç AF konsantrasyonları

Örneklerin başlangıç toplam (AFT) konsantrasyonları (µg/kg),	6.93	12.85	20.82
<i>AFG2</i> (µg/kg)	0.43	0.802	1.05
<i>AFG1</i> (µg/kg)	2.89	4.654	7.11
<i>AFB2</i> (µg/kg)	0.38	0.968	1.32
<i>AFB1</i> (µg/kg)	3.23	6.43	11.34

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneysel tasarım

Fındık püresinin kalite parametrelerindeki değişiklikleri değerlendirirken AF'lerdeki maksimum bozulma yüzdesini optimize etmek ve değerlendirmek için RSM kullanılmıştır. Dört bağımsız değişkenin etkileri [US gücü 30-80 W, 20 kHz (0.46-0.91 W.cm⁻³), enzim uygulaması [(50-250 µL.50g⁻¹); g örnek başına 0.5-2.5U enzim], uygulama süresi (10-30 dakika) ve başlangıçtaki toplam AF konsantrasyonları (5-20 µg. kg⁻¹)] yanıtlar üzerinde araştırılmış ve fındık püresinde göreceli kalite

kaybıyla birlikte AF'lerin degradasyon yüzdesini (özellikle toplam AF'lerde ve AFB1'de) maksimum seviyede gözlemek için RSM'nin Box-Behnken deneysel tasarımı kullanılmıştır. AF'lerin degradasyon oranı (%), aroma değişimi, peroksit değeri değişimi, toplam renk farkı ve sıcaklık değişimi üzerindeki etkileri belirlemek için kullanılan dört faktörün ve üç seviyenin deney tasarımı Tablo 3.2'de, Box-Behnken deneme planı ise Tablo 3.3 de gösterilmiştir

Tablo 3.2. Box-Behnken (BBD) deneysel tasarım parametreleri

<i>Bağımsız Değişkenler</i>	<i>Seviyeler</i>		
	(-1)	(0)	(+1)
US Gücü (W), A	30	55	80
(Güç Yoğunluğu, W cm ³)	(0.46 W cm ⁻³)	(0.67 W cm ⁻³)	(0.91 W cm ⁻³)
Enzim uygulaması (µL/50g), B	50	150	250
(U /g örnek)	(0.5)	(1.5)	(2.5)
Uygulama süresi (min), C	10	20	30
<i>Bağımlı Değişkenler</i>			
<i>AFT degradasyon yüzdesi (AFT%), R₁</i>			
<i>AFG2 degradasyon yüzdesi (AFG2%), R₂</i>			
<i>AFG1 degradasyon yüzdesi (AFG1%), R₃</i>			
<i>AFB2 degradasyon yüzdesi (AFB2%), R₄</i>			
<i>AFB1 degradasyon yüzdesi (AFB1%), R₅</i>			
<i>Aroma indeksi değişimi% (ΔAI%), R₆</i>			
<i>Peroksit sayısı değişimi, (ΔPV) R₇</i>			
<i>Browning index değişimi (ΔBI), R₈</i>			
<i>Sıcaklık değişimi (ΔT), R₉</i>			

3.3. AF Degradasyon Koşullarının Saptanması

Tek tek faktörlerin ve etkileşimlerinin yanıtlar üzerindeki etkisini göstermek için seçilen en uygun model, full quadratik polinom (Denklem 1) modelidir (Tan ve ark., 2012; Cheng ve ark., 2016).

Tablo 3.3. Box-Behnken deneme planı

Run	US Gücü (W)	Enzim miktarı ($\mu\text{L } 50\text{g}^{-1}$)	US süresi (dk)	Başlangıçl AFT konsantrasyonu ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
1	55	250	20	5
2	30	150	30	12.5
3	55	150	10	20
4	55	250	30	12.5
5	55	50	20	5
6	55	150	20	12.5
7	80	150	10	12.5
8	55	150	10	5
9	55	150	20	12.5
10	55	50	10	12.5
11	55	250	20	20
12	30	150	20	20
13	30	150	20	5
14	80	150	30	12.5
15	80	250	20	12.5
16	80	50	20	12.5
17	55	150	30	20
18	55	50	20	20
19	80	150	20	20
20	55	150	20	12.5
21	30	250	20	12.5
22	30	50	20	12.5
23	55	250	10	12.5
24	55	150	20	12.5
25	55	150	30	5
26	55	150	20	12.5
27	30	150	10	12.5
28	55	50	30	12.5
29	80	150	20	5

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (3.1)$$

$\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}$ ve β_{ij} sırasıyla kesim noktası ve model katsayılarını, x_i ve $x_i x_j$ değişkenleri ve ε ise hata terimini temsil etmektedir. Tasarım, Design Expert® Software 11.0 (Stat-Ease, Minneapolis, USA) yazılımı kullanılarak oluşturulmuştur. Tasarım, her biri yüksek, merkezi ve düşük seviyelerdeki faktörlere atanmış altı seviyenin yanı sıra 11 merkez noktası replikasyonunu içeren 29 set test koşulu içermektedir (Tablo 3.3). Deneyler önyargıyı azaltmak için rastgele yapılmış ve her faktörün önemli etkilerine yönelik yanıtları analiz etmek için tutarlı bir yazılım kullanılmıştır. Yanıt ile faktörler arasındaki ilişkiyi temsil eden bir model geliştirmek için katsayılar kullanılmıştır. Modelin önemi varyans analizi (ANOVA) kullanılarak değerlendirilmiş, işleme

koşulları, grafiksel ve sayısal analizler kullanılarak modelin istenilirlik fonksiyonuna göre optimize edilmiştir.

3.3.1. Örneklerin US uygulamasına hazırlanması

Sonikasyon denemeleri için 3 mm problu (MS73) 100 W'lık bir ultrasonik işlemci (Bandelin 4050 HD, Bandelin Electronic GmbH, Berlin, Almanya) kullanılmıştır. Her örnek için 20 kHz sabit frekans uygulanmış, güç yoğunluğunun etkisini değerlendirmek için enerji girişi değiştirilmiş ve elde edilen güç yoğunluğu değerleri, fındık püresi örneklerinin ortalama güç yoğunluğuna dönüştürülmüştür. (W/cm³). Tüm işlemler US cihazında sürekli modda gerçekleştirilmiştir.

Fındık püresi numunelerinin güç yoğunluğunu belirlemek amacıyla (W cm-3) aşağıdaki formül (Denklem 3.2) kullanılmıştır

$$\frac{P}{V} = \frac{CAT}{\Delta t} \quad (3.2)$$

Where;

P/V Güç yoğunluğu (W cm⁻³)

C Fındık püresinin özgül ısı kapasitesi $\frac{J}{kg.K}$ (2090 $\frac{J}{kg.K}$) (ASHRAE, 2006)

ΔT Sıcaklık ölçümleri arasındaki fark (K)

ΔT değerleri, çeşitli ultrasonik (US) güç seviyelerinde gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda gözlemlenen sıcaklık farklarının ortalaması alınarak belirlenmiştir. Ardından, üç farklı güç seviyesinde (sırasıyla 30 W (0.46 W cm-3), 55 W (0.67 W cm-3) ve 80 W (0.91 W cm-3) güç yoğunluğu değerleri hesaplanmış ve Tablo 3.2' de gösterilmiştir.

Fındık püreleri 200 g olacak şekilde erlenmayer içerisine tartılmış ve daha sonra tasarımı belirtilen miktarda enzim ilave edilmiştir (Tripathi ve Mishra, 2011). Numuneler çalkalayıcı su banyosu vasıtasıyla 50 °C'de 200 rpm'de 3 saat karıştırılmıştır. Daha sonra her numune US cihazına aktarılmış ve deneysel tasarıma

göre her bir örneğe, değişen sürelerde ve çeşitli güç seviyelerinde 20 kHz'de US uygulanmıştır.

3.3.2. AF'lerin ekstraksiyonu ve tespiti

Fındık püresi numuneleri için önerilen ekstraksiyon prosedürü Senyuva ve Gilbert (2005) tarafından önerilen metotta küçük modifikasyonlar ile aşağıdaki şekilde uygulanmıştır; 50 g fındık püresi numunesi ilk önce 4 g NaCl içeren 100 mL ultra saf su ile bir Waring blender kullanılarak 1 dakika karıştırılmış, 150 mL metanol ilave edilerek 2 dakika boyunca karıştırmaya devam edilmiştir. Elde edilen karışım daha sonra Whatman No.4 filtre kağıdı kullanılarak süzölmüş ve süzöntü bir erlenmayere toplanmıştır. İmmünoafinite kolonunu (IAK) saflaştırma aşamasına hazırlanmak için, 5 mL berrak filtrat, 7.3 pH değerinde 15 mL PBS çözeltisi ile seyreltilmiştir. IAK'lar, içlerinden 2-3 mL dk⁻¹ akış hızında 10 mL PBS geçirilerek koşullandırılmıştır. Daha sonra seyreltilmiş ekstraktın 20 mL'si tamamen yerçekimi ile 2-3 mL dk⁻¹ akış hızında IAK'lardan geçirilmiştir. IAK' lar 20 mL ultra saf su ile yıkanmış ve daha sonra kolonlardan hava geçirilerek kuruması sağlanmıştır. Daha sonra IAK' larda tutunan AF' ler 1000 µL methanol ile elue edildikten sonra, IAK'dan 1000 µL ultra saf su geçirilerek eluatlar vialde toplanmıştır. Elde edilen ve vialde toplanan eluat HPLC' de analiz edilinceye kadar 4 °C' de buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir.

Örneklerin analizinde kullanılan HPLC şartları Tablo 3.4' de ifade edilmiştir.

Tablo 3.4. AF analizi için kullanılan HPLC şartları

Elüsyon	İsokratik
Mobil faz	MeOH: H ₂ O (40:60 v/v) + 120 mg KBr /L çözelti + 350 µL of konsantre HNO ₃ /L çözelti (+M)
Kolon	C18 Column 3 µm particle size, LxID: 15 x 4.6 mm with C18 guard column
Akış Hızı	1 mL/min
Kolon Fırın Sıcaklığı	40 °C
Dedektör	Floresans Dedektör: Excitation (Ex) 360 nm ve Emission (Em) 430 nm.
Enjeksiyon Hacmi	100 µL

Yöntem doğrulaması için doğrusalılık, tespit sınırı (LOD), tayin sınırı (LOQ), geri kazanım ve kesinlik dahil olmak üzere çeşitli analitik parametreler belirlenmiştir. Geri

kazanım sonuçları, gün içi ve günler arası tekrarlanabilirlik sonuçlarını belirlemek için kullanılmıştır.

Örneklerin geri kazanımı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır

$$\text{Geri kazanım (\%)} = \frac{\text{measured quantityölçülen miktar}}{\text{zenginleştirme (spike)miktarı}} \times 100 \quad (3.3)$$

US işlemi sonunda AF'lerin degradasyon yüzdeleri ise aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{Degradasyon (\%)} = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100 \quad (3.4)$$

C_i : Başlangıç AF konsantrasyonu (AFT, AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2 için ayrı ayrı hesaplanmıştır)

C_f : US işlemi sonrası son AF konsantrasyonunu ifade eder.

3.4. Fındık Püresi Örneklerinin Kalite Karakteristiklerinin Belirlenmesi

3.4.1. Peroksit değeri

Peroksit değeri (PV), hidroperoksitlerin oluşumunu ölçen fındık püresinin oksidasyon düzeyinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan objektif bir yöntemdir. Örneklerin peroksit değeri, iyot ve sodyum tiyosülfatın kolorimetrik reaksiyonuna dayanan yöntemle göre belirlenmiştir (Spigno ve ark., 2013). 50 g fındık püresi örneğine 100 mL dietil eter ilave edilerek döner çalkalayıcıda (Nuve ST30, Türkiye) 10 dakika karıştırılmış sonra karışım 4000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir (Nuve NF800R, Türkiye). Dietil eter vakum altında çıkarılmış (Büchi R300, Almanya), 1 g ekstrakte edilen yağ, 250 mL'lik bir şişeye tartılmış ve 30 mL'lik bir asetik asit/kloroform (3/2, v/v) ve 0.5 mL doymuş potasyum iyodür karışımı ilave edilmiştir. Numune 1 dakika karanlıkta tutulmuştur. Daha sonra numune 30 mL su ile seyreltilmiş ve indikatör olarak 2-3 damla % 0.5'lik nişasta çözeltisi ilave edilmiştir. Numune 0,01

N Sodyum tiyosülfat ile titre edilmiş ve peroksit değeri, aktif oksijenin milieşdeğeri kg^{-1} olarak ifade edilmiştir.

3.4.2. Renk değişimi

Örneklerin renk ölçümleri, HunterLAB Miniscan (EZ-4500L, Hunter Associates Lab. Inc., Reston, VA, ABD) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cihaz, her ölçümden önce $X = 79.90$, $Y = 84.98$, $Z = 90.90$ renk koordinatlarına sahip siyah ve beyaz standart plakalar kullanılarak standardize edilmiştir. Örneklerin renk değerleri, L (koyuluk/açıklık), a (kırmızılık/yeşillik) ve b (sarılık/mavilik) değerleri belirlenerek ifade edilmiş, her bir örnekten 5 ölçüm alınarak bunların ortalaması alınmıştır. Fındık püresi örnekleri, optik olarak şeffaf 64 mm yüksekliğindeki kristal örnek kabına 25 mm işaretine kadar doldurulmuştur. Potansiyel ışık müdahalelerini ortadan kaldırmak için ölçümler, örnek kabının siyah muhafazası aynı koşullar altında kullanılarak tutarlı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Fındık püresi örneklerindeki renk değişimi, toplam renk değişimi (ΔE) (Saklar ve ark., 2003) ve esmerleşme indeksindeki (Browning Index) (Ng ve ark., 2014) toplam değişim (ΔBI) olarak hesaplanmıştır.

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (3.5)$$

$$BI = \frac{100(x-0.31)}{0.17} \quad (3.6)$$

Bu denklemde;

$$x = \frac{a+1.75L}{5.64L+a-3.012b}$$

$$\Delta BI = BI_f - BI_i \quad (3.7)$$

Burada, ΔBI US işleminin sonrası, başlangıç değerine göre esmerleşme indeksindeki değişimi ifade etmektedir. BI_f , US işleminin sonrası esmerleşme indeksini, BI_i ise örnekleri başlangıç esmerleşme indeksini ifade etmektedir.

3.4.3. Aroma indeksi

Fındık pürelerinin aroma indeksi Brito ve Narain (2003) tarafından önerilen metoda göre belirlenmiştir. 120 g fındık ezmesi numunesi 200 mL distile su ile Waring blender kullanılarak 1 dakika karıştırılmıştır. Bunu takiben karışımdan 90 gramı tartılmış ve bir distilasyon tüpüne aktarılmıştır. Alkali damıtma, %25 NaOH çözeltisi içeren distilasyon ünitesi (Büchi KjelfexK-360, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Distilatın absorbansı spektrofotometre (Shimadzu UV-1800, Japonya) kullanılarak 279 nm'de ölçülmüştür. Spektrofotometre kullanılmadan önce damıtık su ile kalibre edilmiştir. Absorbans sonuçları 100 ile çarpılarak aroma indeksi olarak ifade edilmiştir.

Numunelerdeki aroma indeksi değişiklikleri Denklem 8 kullanılarak hesaplanmış ve ve %AI olarak ifade edilmiştir.

$$\Delta AI\% = \frac{AI_f - AI_i}{AI_i} \times 100 \quad (3.8)$$

Burada, AI_f , US işleminin sonrası aroma indeksini, AI_i ise başlangıçtaki aroma indeksini ifade etmektedir.

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. AF Tespit Metodunun Validasyonu

Çalışmada lineerlik, tayin limiti (LOD), ölçüm limiti (LOQ), tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik gibi HPLC performans parametreleri saptanmıştır (Tablo 4.1). Metodun lineerliği 6 noktalı kalibrasyon eğrisi çizilerek saptanmıştır. Her bir analit için 0.5 ila 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ konsantrasyon aralığında R² değerleri 0.999 üzerinde gerçekleşmiştir. Tayin limiti sinyal gürültü oranının S/N=3/1 olmasında dayanılarak, ölçüm limiti ise sinyal gürültü oranının S/N=10/1 olmasına dayanılarak hesaplanmıştır. Hesaplanan LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0.06-0.09 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ve 0.17-0.26 $\mu\text{g kg}^{-1}$ arasında olup, bu değerler fındık püresinde AF'lerin tespitinde bu metodun kullanılabilmesi için yeterlidir. Metot kesinliğini belirlemek üzere bağıl standart sapma yüzdeleri tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik cinsinden, bir standart konsantrasyonunda aynı gün üç replikasyon ve üç ayrı günde üçer replikasyon olarak hesaplanmıştır. Analizler sonuçlarına göre, spike seviyesine bağlı olarak AF türleri için ortalama geri kazanma oranları %84.1 ila %101.5 arasında değişmektedir. Avrupa Birliği 401/2006 Sayılı Komisyon Tüzüğü'nde belirtilen standartlara göre bu sonuçlar tatmin edici görünmektedir (EC, 2006). Kesinlik veya tekrarlanabilirlik (RSD) AF türleri için %2.2 ila %7.8 ve AFT için %2.6 ila %6.6 arasındadır. Öte yandan, tüm günler arası tekrarlanabilirlikler (%RSDR, n = 9) %13.2'den küçük olup ve 401/2006 Sayılı Komisyon Yönetmeliğinin gerekliliklerini karşılamaktadır. Dolayısıyla fındık pürelerinde AF'lerin tespitine yönelik kullanılan metod oldukça yeterlidir.

Tablo 4.1. Farklı fortifikasyon seviyelerine sahip fındık püresi numunelerinde AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 ve AFT'nin yöntem doğrusalılık verileri ve validasyon sonuçları

Ana lit	Aralık ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Linearity ($y=ax+b$)	R ²	Fortifikasyon düzeyi ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Ortalama geri kazanım (%)	RSD _r %	RSD _R %
AF B1	0.125-2.0	$y=61044.99x-4.55051$	0.9998	0.625	0.09	0.26	101.5	5.7	7.5
				1.25			88.5	2.2	5.1
				2.5			86.6	3.77	7.6
AF B2	0.125-2.0	$y=107208.3x-11.69199$	0.9998	0.625	0.05	0.17	97.6	6.5	10.4
				1.25			89.7	1.5	3.6
				2.5			86.7	3.8	7.6
AF G1	0.125-2.0	$y=65861.47x+39.79701$	0.9999	0.625	0.07	0.25	100.5	7.8	13.2
				1.25			91	2.6	4.4
				2.5			85.9	3.8	5.1
AF G2	0.125-2.0	$y=87909.54x-36.005$	0.9998	0.625	0.06	0.20	97.2	7.2	10.7
				1.25			87.1	3.1	3.8
				2.5			84.1	3.9	5.2
AFT				1			98	2.6	7.4
				2.5			99.2	6.6	10.7
				5			89.0	3.2	3.8
				10			85.5	3.5	5.2

4.2. Yanıt Yüzey Regresyon Analizi

Tablo 4.2, üç seviyede dört faktör kombinasyonu için elde edilen tasarım matrisini ve yanıt değerlerini göstermektedir. Yanıtların analizi, dört faktörün önemini değerlendirmek için birimler kodlanmış şekilde verilmiştir. Katsayılar 0'dan önemli ölçüde saptığında ve p değeri 0.05'ten küçük olduğunda, bir faktörün anlamlı olduğu ve yanıtı etkilediği kabul edilir (Borges ve ark., 2009; Tan ve ark., 2012). Tablo 4.3. her bir yanıt için BBD sonucu elde edilen katsayıları ve p-değerlerini içermektedir.

4.2.1. AF'lerin degradasyonu

Tablo 4.3'te gösterildiği gibi, toplam AF degradasyon yüzdesi (%AFT), $p < 0.0001$ ve 0.022 ($p < 0,05$) değerleriyle en çok US güç yoğunluğundan ve US uygulama süresinden etkilenmiştir. US güç seviyesi, enzim uygulaması ve US uygulama süresi AFG2 (AFG2%) ve AFG1 (AFG1%) degradasyon yüzdelelerini anlamlı bir şekilde etkilerken ($p < 0.05$), AFB2 degradasyon yüzdesi (AFB2%) en fazla US güç yoğunluğu

ve enzim uygulaması işleminden etkilenmiştir ($p<0.05$). Diğer yandan, AFT%'ye benzer bir şekilde, AFB1 degradasyon yüzdesi (AFB1%) US güç yoğunluğu ve US uygulama süresinden anlamlı bir şekilde etkilenmiştir. AFT%, AFG2%, AFG1%, AFB2% ve AFB1% için denklem modelleri aşağıdaki gibi uyarlanmıştır:

$$AFT\% = 38.6 + 7.88A + 1.88C - 4.33AD - 4.18CD + 4.72A^2 - 2.25D^2 + 3.69B^2D - 7.26A^2B^2 - 6.29A^2C^2 \quad (4.1)$$

$$AFG2\% = 38.45 + 6.99A + 8.32B + 8.34C - 3.96AD - 3.29CD + 3.18A^2 - 2.81B^2 + 2.89C^2 - 10.2D^2 - 7.78A^2B - 7.24A^2C - 8.49B^2C - 5.67BC^2 - 7.42A^2C^2 \quad (4.2)$$

$$AFG1\% = 38.40 + 8.07A + 2.71B + 5.67C - 0.1048D - 1.92AB - 2.97AC - 1.62AD - 0.7277BC - 5.41CD + 7.73A^2 - 0.4969B^2 + 2.17C^2 - 4.91D^2 - 4.23A^2B - 8.29A^2C - 5.04A^2D - 2.09AB^2 - 4.19AC^2 - 6.19B^2C - 10.05A^2B^2 - 14.77A^2C^2 \quad (4.3)$$

$$AFB2\% = 37.25 + 11.30A + 2.48B - 2.92C + 3.22AB + 3.93AC - 7.88AD + 4.97CD + 4.48A^2 - 6.03D^2 + 7.35A^2C - 8.05A^2D + 4.35B^2C \quad (4.4)$$

$$AFB1\% = 38.54 + 11.48A + 0.5017B + 2.11C + 1.98D - 0.6413AB + 1.44AC - 6.32AD + 0.3189BD - 4.10CD - 1.49B^2 - 0.014C^2 + 2.07D^2 - 4.27AB^2 - 3.04AC^2 + 3.71B^2D \quad (4.5)$$

Tablo 4.2. BBD tasarımı ve tasarım sonucu elde edilen yanıtlar

Run	US Gücü (W)	Enzim (μL 50g ⁻¹)	US süresi (dk)	Başlangıç AF konsantrasyonu ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	AFT% R1	AFG2% R2	AFG1% R3	AFB2% R4	AFB1% R5	ΔAI R6	ΔPV R7	ΔE R8	ΔBI R9	ΔT R10
1	55	250	20	5	32,9	32,6	32,9	31,6	33,1	4,1	0,2	1,9	-32,3	82,4
2	30	150	30	12,5	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	5,9	0,1	3,1	-75,9	81,2
3	55	150	10	20	38,0	27,3	33,7	25,9	43,1	6,2	0,1	6,7	-67,5	43,5
4	55	250	30	12,5	42,0	42,0	42,0	42,0	42,0	8,8	0,2	7,1	-153,9	83,9
5	55	50	20	5	30,2	18,6	30,1	26,3	32,2	3,9	0,0	3,5	-57,2	76,0
6	55	150	20	12,5	41,0	41,0	41,0	41,0	41,0	4,4	0,1	2,9	-88,1	74,1
7	80	150	10	12,5	43,0	43,0	43,0	43,0	43,0	5,5	0,1	0,2	14,0	78,7
8	55	150	10	5	29,0	16,3	26,3	42,1	31,6	2,9	0,2	2,8	-45,7	44,5
9	55	150	20	12,5	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	6,2	0,0	2,4	-88,2	75,2
10	55	50	10	12,5	36,9	37,0	36,7	37,0	37,0	2,8	0,1	1,5	-0,7	44,6
11	55	250	20	20	41,2	35,3	37,6	32,0	45,1	9,0	0,3	7,4	-101,0	73,9
12	30	150	20	20	34,5	31,6	29,6	26,0	38,9	7,1	0,2	6,0	-94,4	41,3
13	30	150	20	5	28,3	23,3	36,7	26,3	21,7	3,5	0,2	2,6	-43,8	43,1
14	80	150	30	12,5	46,1	46,4	38,1	59,7	49,8	10,0	0,1	3,8	99,8	109,1
15	80	250	20	12,5	40,1	46,4	30,8	58,7	43,2	5,6	0,2	1,5	-17,6	91,9
16	80	50	20	12,5	45,0	45,0	45,0	45,0	45,0	5,9	0,0	3,4	-78,9	80,6
17	55	150	30	20	37,6	37,4	34,2	30,0	40,7	10,4	0,1	11,2	-122,5	97,1
18	55	50	20	20	36,6	16,0	31,4	26,3	42,9	6,9	0,0	8,0	-109,7	65,3
19	80	150	20	20	45,2	34,4	42,5	33,9	49,2	7,8	0,1	7,5	-109,4	85,5
20	55	150	20	12,5	36,0	36,0	36,0	36,0	36,0	3,9	0,1	0,4	-22,1	65,6
21	30	250	20	12,5	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	2,7	0,2	0,9	-11,6	42,1
22	30	50	20	12,5	29,2	29,2	29,2	29,2	29,2	4,3	0,0	2,7	8,2	41,6
23	55	250	10	12,5	39,5	42,7	44,5	36,4	36,0	2,3	0,2	1,1	-10,8	37,1
24	55	150	20	12,5	36,0	36,2	36,0	36,0	36,0	6,8	0,2	5,8	-143,2	74,3
25	55	150	30	5	45,3	39,5	48,4	26,3	45,5	7,3	0,1	1,8	-41,5	93,8
26	55	150	20	12,5	39,0	39,0	39,0	39,0	39,0	8,8	0,1	0,4	-36,0	76,1
27	30	150	10	12,5	29,1	29,0	29,3	29,0	29,0	1,5	0,2	0,3	-14,26	37,1
28	55	50	30	12,5	37,1	37,1	37,1	37,1	37,1	7,3	0,0	1,1	-30,29	81,9
29	80	150	20	5	56,3	41,9	56,1	65,8	57,3	6,3	0,1	1,7	-40,90	102,4

Tablo 4.3. Yanıtlardan elde edilen regresyon katsayıları ve p değerleri

	R1 (AFT%)		R2 (AFG2%)		R3 (AFG1%)		R4 (AFB2%)		R5 (AFB1%)		R6 (AI%)		R7 (Δ PV)		R8 ($\Delta E^{\ddagger}$)		R9 ($\Delta BI^{\ddagger}$)		R10(ΔT)	
Term	C	p	C	p	C	p	C	p	C	p	C	p	C	p	C	p	C	p	C	p
Constant	38,598		38,449		38,4		37,251		38,545		6,116		0,121		607,039		8,726		69,790	
A	7,878	< 0,0001	6,995	< 0,0001	8,068	0,0004	11,301	< 0,0001	11,480	< 0,0001	1,340	0,0007	-0,025	0,077					21,82	< 0,0001
B			8,322	< 0,0001	2,707	0,0208	2,478	0,011	0,502	0,399*	0,1089	0,7519*	0,100	< 0,0001	-0,247	0,973				
C	1,880	0,022	8,338	< 0,0001	5,666	0,0032	-2,925	0,069*	2,115	0,003	2,3747	< 0,0001	-0,025	0,077	23,514	0,004			21,792	< 0,0001
D					-0,1048	0,912			1,979	0,015	1,6146	< 0,0001	0,000	1,000*	49,596	< 0,0001	-1,648	0,012		
AB					-1,921	0,18	3,219	0,048	-0,641	0,531*	0,341	0,593*								
AC					-2,975	0,054	3,928	0,019	1,442	0,171*	0,020	0,975*								
AD	-4,332	0,004	-3,961	0,007	-1,162	0,250	-7,880	< 0,0001	-6,322	< 0,0001										
BC					-0,728	0,59									29,341	0,029	-2,613	0,020		
BD									0,319	0,754*										
CD	-4,176	0,005	-3,290	0,020	-5,406	0,004	4,970	0,004	-4,100	0,001					26,191	0,049				
A ²	4,724	0,008	3,176	0,021	7,730	0,004	4,479	0,001									2,116	0,013		
B ²			-2,806	0,018	-0,497	0,704			-1,486	0,075	-0,843	0,067*								
C ²			2,887	0,033	2,170	0,128			-0,014	0,985*	0,066	0,891*								
D ²	-2,245	0,093*	-10,019	< 0,0001	-4,912	0,006	-6,035	< 0,0001	2,066	0,019					51,049	< 0,0001				
A ² B			-7,776	0,001	-4,227	0,032														
A ² C			-7,242	0,001	-8,287	0,003	7,352	0,003												
A ² D					-5,044	0,015	-8,045	< 0,0001												
AB ²					-2,089	0,290			-4,222	0,010										
AC ²					-4,189	0,06			-3,039	0,050							2,059*	0,061*		
B ² C			-8,492	0,000	-6,189	0,01	4,347	0,057									-3,243	0,005		
B ² D	3,691	0,011							3,714	0,009										
BC ²			-5,668	0,007													-2,820	0,013		
A ² B ²	-7,264	0,004			-10,054	0,006														
A ² C ²	-6,291	0,011	-7,416	0,004	-14,775	< 0,0001														
R ²	0,8917		0,9561		0,9632		0,9524		0,9674		0,8000		0,7197		0,8138		0,6566		0,8854	
.R ² _{adj}	0,8404		0,9121		0,8530		0,9167		0,9298		0,7206		0,6729		0,7630		0,5630		0,8766	

P değerleri istatistiksel olarak farklı anlamlı etkileri belirtir. Kalın yazı tipindeki p değerleri $p \leq 0,05$ 'i, normal yazı tipindeki p değerleri $0,05 \leq p < 0,1$ 'deki anlamlılığı ve “*” olan p değerleri $p \geq 0,1$ 'deki anlamlılığı temsil etmektedir.

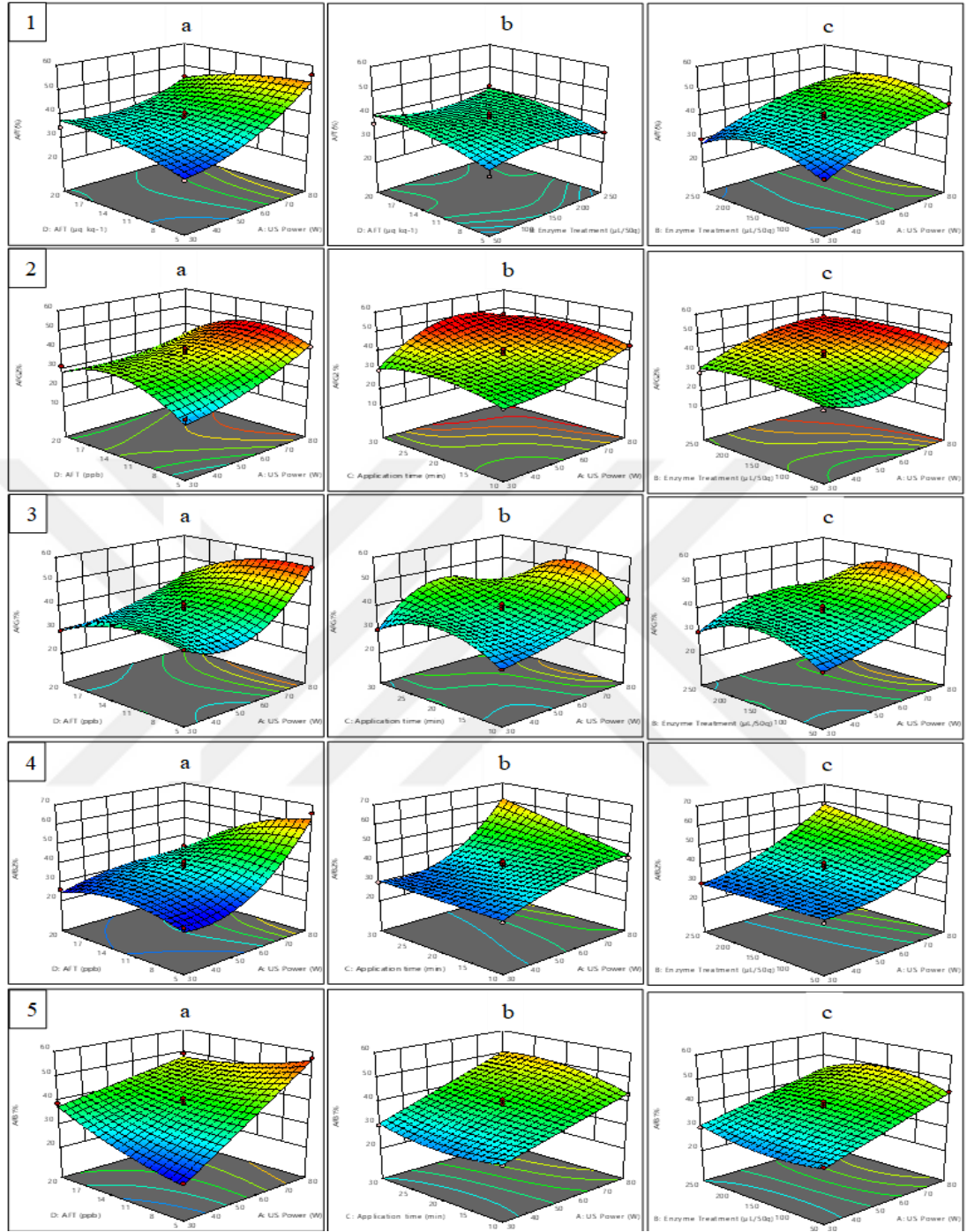
$\Delta E^{\ddagger}$: Katsayılar ve p değerleri tepki değeri dönüşümlerinden sonra elde edilmiştir.

$\Delta BI^{\ddagger}$: Cevap değeri dönüşümleri sonrasında katsayılar ve p değerleri elde edilmiştir.

AF'lerin degradasyon düzeyleri açısından bağımsız değişkenlerden bazılarının etkilerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlenmiştir. AFT% için, 2 lineer katsayı (A ve C), 1 quadratik (A2) ve 5 interaktif/interaktif quadratik (AD, CD, B2D, A2B2, A2C2) katsayıları anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Benzer şekilde, AFB1% için 3 lineer (A, C ve D), 1 quadratik (D2) ve 4 interaktif/interaktif quadratik (AD, CD, AB2 ve BC2) katsayıları anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Diğer yandan, lineer katsayıların yanı sıra AFG2%, AFG1% ve AFB2%, 5'ten fazla interaktif/interaktif quadratic katsayısının denklemleri anlamlı bir şekilde etkilendiği belirlenmiştir ($p < 0.05$). Tüm denklemlerin ANOVA Tabloları EK-1' de verilmiştir.

Deney koşullarına bağlı olarak AFT% yanıtları %28.3 ile %56 arasında değişirken, AFG2%, AFG1%, AFB2% ve AFB1% yanıtları sırasıyla %18.6 ile %46.4, %26.2 ile %56, %25 ile %65 ve %21.7 ile %57.3 arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.2). Şekil 4.1a, 4.1.b ve 4.1c, örneklere uygulanan US gücü ve US süresinin artmasıyla %AFT'nin arttığını göstermektedir. Öte yandan fındık püresi örneklerinde artan enzim konsantrasyonunun %AFT düzeyini anlamlı düzeyde etkilemediği belirlenmiştir.

Torabi ve ark. (2021), hidrolize ekmek atıklarında α amilaz ve glukoamilaz kullanarak AF'lerin enzimatik hidrolizinin potansiyel bozunma etkisini araştırmış ve başlangıç AFB1 konsantrasyonunun 92.5 ng g⁻¹ ve AFT konsantrasyonunun 92.5 ng g⁻¹ civarında olması durumunda amilolitik enzimlerin AFB1'i %75'e kadar giderebildiğini ifade etmişlerdir. Öte yandan bu çalışmaya göre hidrolize ekmek ortamında AFG2 ve AFG1 tespit edilmemiştir. Bizim çalışma sonuçlarımız bu sonuçlarla çelişmektedir. Bu farklılık, farklı deney koşullarında ve tamamen farklı gıda örnekleriyle çalışılmasından kaynaklanıyor olabilir. Çalışmanın AFG1, AFG2 ve AFB2'nin glukoamilaz kullanılarak bozunma düzeylerini ortaya koyan ilk çalışma olması bu kapsamda elde edilen veriler açısından önem arz etmektedir.



Şekil 4.1. a) başlangıç AFT konsantrasyonu ($\mu\text{g kg}^{-1}$ veya ppb) ve US gücü (W), b) US uygulama süresi (min) ve US gücü (W) ve c) Enzim uygulaması ($\mu\text{L 50g}^{-1}$ fındık ezmesi) ve US gücü (W)'nin AF' lerin degradasyonu üzerine 3 boyutlu etkileşim grafikleri; 1) AFT%, 2) AFG2%, 3) AFG1%, 4) AFB2% ve 5) AFB1%

Çalışmada elde edilen sonuçlar fındık püresi örneklerinde glukoamilaz uygulamasının AFG1, AFG2 ve AFB2'nin bozunma sürecini önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. Lakkazların, peroksidazların, oksidazların ve redüktazların AF'lerin parçalanması için en çok araştırılan enzimler olduğu iyi bilinmektedir. Birçok araştırmacı, AF'leri parçalayabilen uygun mikroorganizmaları veya mantarları incelemiş ve bunlardan saf enzimler elde etmek için saflaştırma prosedürleri geliştirmeye çalışmıştır. Ayrıca bazı araştırmacılar, bahsedilen enzim uygulamaları sonrasında AF'lerin degradasyon ürünlerinin yapısını ve toksisitesini de ortaya koymaya çalışmışlardır. Ne yazık ki, bu enzimlerin üretimi ve gıda ve yem endüstrisinde kullanımı pratikte bazı zorlukları beraberinde getirmektedir çünkü üretimin geleneksel fermantasyon ve kültür teknikleriyle yapılması durumunda düşük üretim verimi ve üretim sorunları yaşanabilmektedir (Guo ve ark., 2021). Bu nedenle, gıda endüstrisinde kullanılan konvansiyonel enzimlerin aflatoksin parçalanması üzerindeki etkinliğinin araştırılması pratik yaklaşım açısından önemli bir konudur. Çalışma sonuçlarımız glukoamilazın tek başına AFG2, AFG1 ve AFB2'nin kısmi bozunmasında etkili olduğunu ancak bozunma ürünlerinin yapısını ve toksisitesini ortaya çıkarmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu göstermiştir.

AF'lerin toksisitesi göz önüne alındığında, AFB1'in ve dolaylı olarak AFT'nin degradasyon yüzdesi, diğer üç AF tipinin degradasyon oranlarından daha önemli olmalıdır. Ultrasonun (US) hem güç yoğunluğu hem de uygulama süresi ile karşılaştırıldığında, enzim tedavisinin AFB1% ve AFT% değerleri üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olmadığını vurgulamak önemlidir ($p > 0.05$). Bu nedenle, katsayılar tablosundaki p değerlerine dayanarak, AFB1 degradasyonunun başlangıçtaki AF konsantrasyonlarından önemli ölçüde etkilendiği ($p < 0.05$), diğer aflatoksin türlerinin degradasyonlarında ise enzim uygulamasının degradasyon oranlarına anlamlı düzeyde katkıda bulunduğu sonucuna varılabilir.

Bu zamana kadar US teknolojisi kullanılarak AF'lerin giderilmesine yönelik literatürde sınırlı sayıda araştırmaya rastlanmıştır. Liu ve ark. (2019), sulu ortamda AFB1 dahil olmak üzere çeşitli mikotoksinlerin degradasyonları üzerine 20 KHz'de atımlı ultrasonun etkisini araştırmıştır. Çalışma ayrıca, AFB1 degradasyonunun

ultrason yoğunluğu arttıkça arttığını, ancak başlangıçtaki AFB1 konsantrasyonunun AFB1 parçalanma düzeyini olumsuz etkilediğini ortaya koymuştur. Çalışma sonuçlarımız, bu bulgularla uyumludur. Yapılan güncel bir çalışmada ise, AFB1'in sulu ortamda US uygulamasıyla parçalanması için iki model önerilmiştir. İlk önerilen modele göre, AFB1, sudaki moleküllerden elde edilen hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksitin varlığı nedeniyle sıvı ortamda parçalanabilmektedir. Ancak ikinci modelde, ultrasonik kavitasyon tarafından üretilen H₂O₂ moleküllerinin, AFB1'in lakton halkası ve metoksi grubunun değişikliklerine yol açan epoksidasyon, oksidasyon ve ek reaksiyonları başlattığı ifade edilmiştir (Liu ve ark., 2019).

Öte yandan bu araştırmada kullanılan fındık püresi örneklerinin %1'den az su içerdiğini de belirtmek gerekir. Dolayısıyla AF'lerin bozunma mekanizması, önerilen bozunma mekanizmalarından farklı olabilir. Fındık püresinin yüksek yağ içeriği göz önüne alındığında, US kavitasyonunun bazı yağ asidi yapılarını oksitleyip bozabileceği ve oksidasyonu başlatabileceği, daha sonra OH• radikalleri gibi bazı radikaller üretebileceği ve bu radikallerin örneklerdeki AF'leri parçalamak için kullanılabileceği düşünülmektedir. Bu bulguları doğrulamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

4.2.2. Aroma indeks değişimi (Δ AI%)

Fındık püresi numunelerinin deneysel Δ AI% yanıtları %1.46 ile %10.37 arasında değişmektedir. Tablo 4.3'te gösterildiği gibi, Δ AI% yanıtları, US gücü, enzim uygulaması ve US uygulama süresinin doğrusal ($p < 0,05$) terimleri, US gücü ve enzim tedavisi ve US gücü ve uygulama süresinin interaktif terimleri ($0.05 \leq p$) tarafından önemli ölçüde etkilenmiştir. Enzim uygulaması ve US uygulama süresine göre quadratik terimler ($0.05 \leq p < 0.1$) bulunurken, diğer terimlerin anlamlı olmadığı gözlenmiştir ($p > 0.1$). US gücü (A), enzim uygulaması (B), US uygulama süresi (C) ve başlangıç AFT konsantrasyonunun (D) bağımsız değişkenlerinin Δ AI% üzerindeki etkisini gösteren modelin regresyon denklemi aşağıdaki gibidir:

$$\Delta AI\% = 6.12 + 1.34A + 0.1089B + 2.37C + 1.61D + 0.3411AB + 0.0203AC - 0.8435B^2 + 0.0665C^2 \quad (4,6)$$

Alkil pirazinler kahve, kakao gibi gıdaların ve fındık gibi kavrulmuş kuruyemişlerin kavrulması sırasında meydana gelmeleri nedeniyle endüstriyel açıdan en önemli uçucu bileşiklerden biridir. Fındıkların kavrulması sırasında ısıtma koşullarının (sıcaklık ve süre) aroma gelişimine yol açtığı ileri sürülmektedir (Mazzucotelli ve ark., 2023). Bu nedenle, alkil pirazinlerdeki değişikliklerin izlenmesi, ultrason uygulamasının fındık ezmesinin aroma gelişimi üzerindeki etkisini değerlendirmek için akıllıca bir stratejidir. $\Delta AI\%$ 'nin US güç yoğunluğundan, US uygulama süresinden ve başlangıç AFT konsantrasyonundan önemli ölçüde etkilendiği belirlenmiştir ($p < 0,05$). Ultrason teknolojisinin uygulanması, yüksek frekansta ses dalgalarının oluşturulmasıyla ilgilidir ki bu dalgalar, bir sıvı içine yönlendirildiğinde son derece enerji yüklü baloncuklar oluşturur (Kaseke ve ark., 2021). Bu kavitasyon kabarcıklarının ürün yüzeyindeki çökmeleri, ortama aşırı miktarda enerji salınmasına neden olur, bu da hem sıcaklık artışına hem de aroma indeksi gibi bazı parametrelerin değişmesine neden olur. Şekil 4.2.a, bağımsız değişkenlerin fındık püresinin $\Delta AI\%$ parametresi üzerindeki etkisini göstermektedir. Çalışma sonuçlarımız, fındık püresi örneklerinin $\Delta AI\%$ 'deki ana parametrelerinin US gücü ve uygulama süresi olduğunu göstermiştir. Ayrıca, *A. flavus*, *A. niger*, *A. glaucus*, *Penicillium*, *Mucor* ve *Fusarium* küf türleri çiğ ve kavrulmuş fındık içlerinden en fazla izole edilen küflerdir. *Aspergillus* türlerinin en güçlü aflatoksijenik mantarlar olduğu göz önüne alındığında, küf aktivitesi sadece aflatoksin konsantrasyonunu arttırmakla kalmayıp, büyüme paternleri de fındık tanelerinin kalite özelliklerinde bazı değişikliklere neden olabilir. Önceki çalışmalar küf aktivitesinin kuru madde, düşük yağ içeriği ve tat/aroma kaybı gibi çeşitli kalite kayıplarına yol açtığını göstermiştir (Özdemir ve Devres, 1999). Fındık püresi numunelerindeki daha yüksek başlangıç AF konsantrasyonları, fındık püresi üretiminden önce fındık içlerinde daha yüksek küf oluşumunun göstergesi olabilir. Nitekim örneklerin başlangıç aroma indeks değerlerine bakıldığında aroma indeksinin örneklerin AF içeriği ile ters orantılı olduğu gözlenmiştir.

Başlangıç AFT içeriği 5, 12.5 ve 20 µg kg-1 olan fındık püresi örneklerinin 279 nm'deki başlangıç absorbans değerleri sırasıyla 0.51, 0.34 ve 0.29 olarak tespit edilmiştir. US uygulama yoğunluğu ve uygulama süresi AI'da 1.5-2 birimlik bir değişikliğe yol açsa da, ΔAI%'ye dayalı olarak önerilen modelin, başlangıçtaki AI değerlerinden aşırı derecede etkilendiği tespit edilmiştir (p<0,05).

4.2.3. Peroksit sayısı değişimi (ΔPV)

Önerilen modelin varyans analizi sonuçlarına göre ΔPV enzim uygulamasından anlamlı derecede etkilenirken (p<0.05), diğer parametrelerin etkisi anlamlı bulunmamıştır (Tablo 4.3). Enzimatik uygulamalar gıda endüstrisinde kaliteyi kontrol etmek, fizikokimyasal ve reolojik özellikleri değiştirmek amacıyla veya doğrudan gıda katkı maddesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Literatürde fındık püresinin fizikokimyasal özelliklerine enzimatik uygulamaların etkisini araştıran bir araştırma bulunmamakla birlikte, çalışmaların çoğu bitki dokularından yağ ekstraksiyonunda enzim ön işlemlerinin (hidrolitik enzimler dahil) etkisi üzerine yoğunlaşmıştır. Daha yüksek yağ verimi için pamuk tohumunun amilaz ile ön işlemine odaklanan önceki bir çalışma, enzim işleminin ekstrakte edilen yağ örneklerinin PV'ini önemli ölçüde arttırdığını ortaya çıkarmıştır (Taha ve Hassanein, 2007). Bizim çalışma sonucumuz da bu bulguyla benzerlik göstermektedir. ΔPV için doğrusal denklem modeli aşağıdaki gibidir:

$$\Delta PV = 0.1207 - 0.025A + 0.100B - 0.025C \quad (4.7)$$

Fındık püresi, kimyasal bileşimi zeytinyağına benzerlik gösteren ve fındık tanelerinin çeşidine, iklim, toprak yapısı ve yetiştirme koşullarına göre değişmekle birlikte %50'den fazla yağ içerebilmektedir (Ercan ve Dervişoğlu, 1998; M. Özdemir ve ark., 2001). US uygulamasının yağ kalitesi parametreleri ve oksidatif stabilite üzerindeki etkileri üzerine yapılan bazı çalışmalar çelişkili sonuçlar üretmiştir. Zeytinyağı, ayçiçek yağı ve palm yağları üzerinde yapılan çalışmalar, kısa süreli ultrasonikasyonun (30 dakikanın altında) numunelerin PV'sinde önemli bir artışa neden olmadığını ortaya koymuştur (Halim ve Thoo, 2018; Jiménez ve ark., 2007). Öte yandan ultrason ön

işleminin zeytinyağının kalite parametreleri üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla yakın zamanda bir çalışma yapılmıştır. Araştırma bulguları, zeytinyağının oksidatif stabilitesinin ultrason ön işleminden önemli ölçüde etkilendiğini göstermektedir (Rigane ve ark., 2020). Bu çalışmada önerilen model Jimenez ve ark., (2007) ve Halim ve Thoo (2018)' nun bulgularını desteklemekte ancak Rigane ve ark. (2020) yaptığı çalışma ile çelişmektedir. Öte yandan, yüksek ultrasonikasyon koşullarında fındık ezmesi örneklerindeki peroksitlerin ve yağ asidi kompozisyonunun değişiminin ortaya çıkarılması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

4.2.4. Esmerleşme indeksi değişimi (ΔBI) ve toplam renk değişimi (ΔE)

Renk, özellikle kahverengi renk, kavrulmuş ürünlerde tüketicinin kabul edilebilirliği ve tercihleri açısından önemli bir kalite parametresidir. Renk gelişiminin, hammaddenin pH değeri, kimyasal bileşimi ve kavurma süresi ve sıcaklığı gibi kavurma koşulları gibi birçok faktörden etkilenen karmaşık bir olgu olduğu iyi bilinmektedir. Yanıtlarda herhangi bir dönüşüm yapılmadan ΔBI ve ΔE 'ye uygun önerilen herhangi bir model belirlenememiştir. Daha sonra her iki yanıt da Design Expert programının dönüşüm arayüzü kullanılarak en uygun uyum istatistikleri elde edilinceye kadar dönüştürülmüştür.

ΔBI and ΔE için önerilen model eşitlikleri aşağıdaki gibidir:

$$(\Delta E + 52.6)^{1.6} = 607.04 - 0.2472B + 23.51C + 49.6D + 29.34BC + 26.19CD + 51.05D^2 \quad (4.8)$$

$$(\Delta BI + 154)^{0.5} = 8.73 - 1.65D - 2.61BC + 2.12A^2 + 2.06AC^2 - 3.24B^2C - 2.82BC^2 \quad (4.9)$$

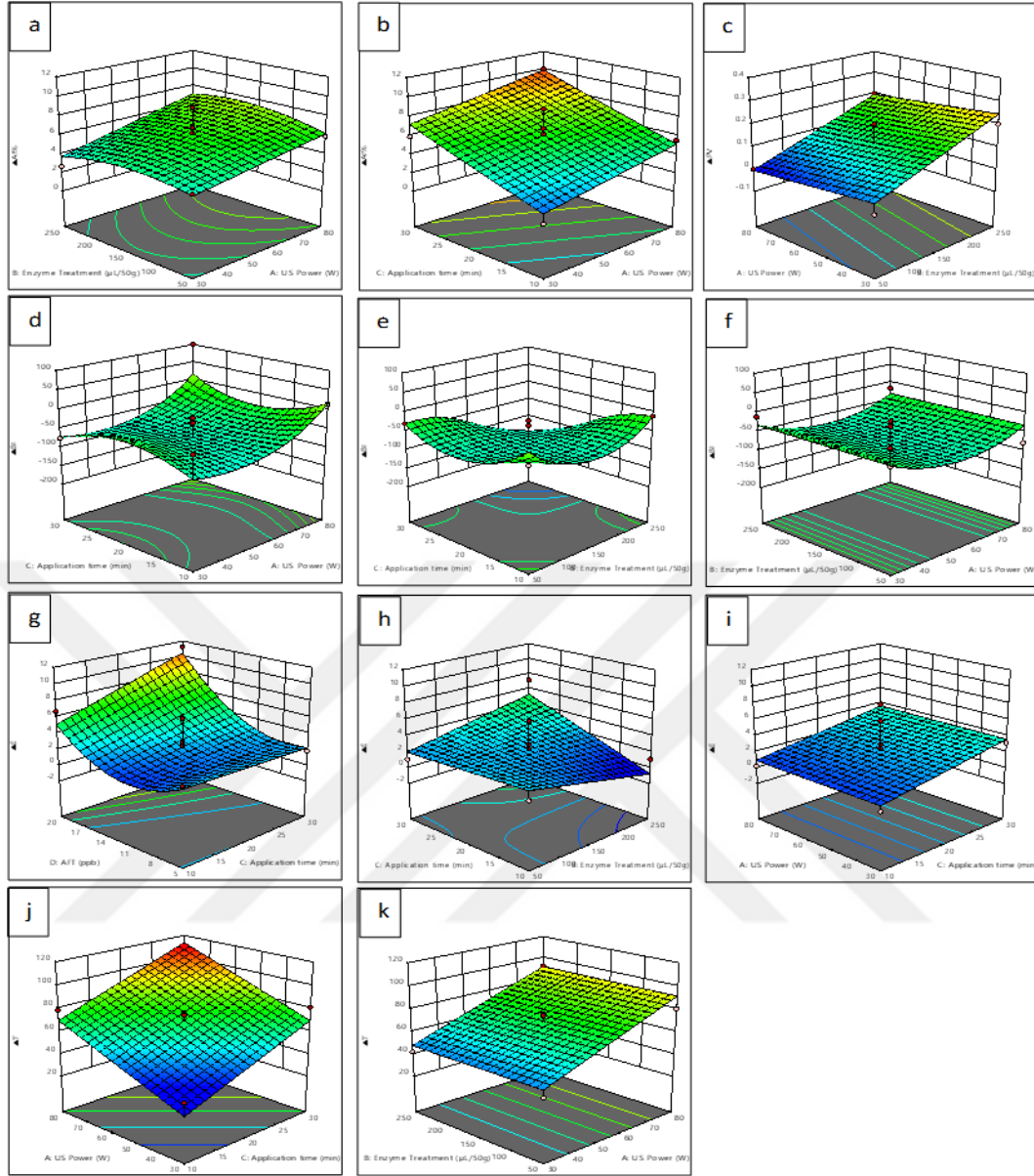
Tablo 4.3'e göre, ΔE parametresi üzerinde en büyük etkiye sahip değişkenler, US uygulama süresinin doğrusal terimleri ($p < 0.05$) ile ΔE yanıtı üzerinde çok anlamlı bir parametre olan başlangıç AFT'sinin ($p < 0.05$) lineer ve quadratic terimleri olmuştur. Enzim uygulaması ve uygulama süresi (BC) ($p < 0.05$), uygulama süresi ve başlangıç

AFT (CD) ($p<0.05$) etkileşimlerinin ΔE yanıtı üzerinde anlamlı parametreler olduğu tespit edilmiştir. Burada başlangıç AFT konsantrasyonu faktörünün hem ΔBI hem de ΔE için çok önemli olduğunu belirtmek gerekir. Özellikle yoğun mevsimlerde fındık püresinin küçük, kalitesiz ve nispeten olgunlaşmamış, kusurlu veya küflü daneler kullanılarak üretildiği ve bunun da üründe yüksek düzeylere ulaşabilecek AF'lerin oluşmasına neden olabileceği bilinmektedir. Taneler küflü veya kusurlu olduğunda, kesildiğinde nekrotik lekeler, yüzeyi kaplayan beyaz-gri küf ve çekirdeğin içinde koyu kahverengi lekeler oluşabildiği gibi tamamen çürümüş ve siyah taneler de görülebilmektedir (Battilani ve ark., 2018). Önceki çalışmalar, kusurlu/küflü fındık içlerinin $400 \mu\text{g kg}^{-1}$ 'den fazla AF içerebileceğini göstermiştir (Ekinci ve ark., 2014; Şen, 2021). Dolayısıyla fındık püresi üretiminde küflü/kusurlu iç fındık kullanılması durumunda, ürünlerdeki AF miktarı, renk değerleri gibi hammadde kalitesinden etkilenen tek kalite parametresi olmayacaktır. Bu ΔE artışı, kusurlu çekirdeklerin (daha koyu renklere sahip olan) hücre duvarlarının uzun süreli US etkisi ile kolayca parçalanmasına bağlanabilir, dolayısıyla daha yüksek ΔE değerleri elde edilebilir.

ΔE , gıda maddelerinin belirli proses koşullarındaki toplam renk değişimini göstermek için kullanışlı bir araç olmasına rağmen, renk değişiminin yönünü göstermede yetersizdir. ΔBI değerlerine bakıldığında fındık ezmesi örneklerinin pozitif ΔBI esmerleşmenin arttığını, negatif ΔBI ise esmerleşme indeksinin azaldığını göstermektedir.

US güç şiddeti, uygulama süresi ve enzim konsantrasyonunun ΔBI üzerine bireysel etkilerinin önemli olmadığı ($p>0.05$), başlangıç AF konsantrasyonunun ise fındık ezmesinin ΔBI değerlerini önemli ölçüde etkilediği ($p<0.05$) belirlenmiştir. Diğer taraftan interaktif/interaktif quadratik 4 katsayı (BC , A^2 , B^2C , BC^2)'nın ΔBI üzerindeki etkisi anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Ultrasonikasyon işleminin gıdaların parlaklık (L^*) değerini artırabileceği ve renk özelliklerini iyileştirebileceği ileri sürülmektedir. Dolayısıyla, çalışmamızda US uygulaması L^* değerini artırırken yanıtların ΔBI 'sini (yani uygulanan işlem sonrasında daha düşük kahverengi renk elde edilmesi anlamına gelir) azaltmıştır. Bu, US uygulama süresiyle kararsız koyu pigmentlerin çökmesine ve US uygulaması sırasında bazı pigmentlerin bozunmasına

bağlanabilir. Raf ömrünü uzatmak için ön işlem olarak düşük frekanslı US ile işleme tabi tutulan gulupa pulpu, çalışmamızda gözlemlendiği gibi benzer renk değişiklikleri göstermiştir (Calderón-Martínez ve ark., 2021). En düşük US uygulama süresiyle ve minimum ya da maksimum miktarda enzimle muamele edilen numuneler minimum ΔBI göstermiştir (Şekil 4.2d). Ayrıca, US güç yoğunluğundan bağımsız olarak, en yüksek enzim konsantrasyonu ve maksimum US uygulama süresi ile muamele edilen numuneler en yüksek BI değişimini göstermiştir. Bitki hücre duvarları nişasta, selüloz, hemiselüloz (ksiloglukanlar) ve pektin gibi polisakkaritlerden oluşur. Bunlar hücre içi maddelerin salınımı için bir bariyer oluşturur. Ticari selülaz, amilaz ve pektinaz enzimleri, pigment ve aroma bileşiklerini ekstrakte etmek amacıyla bitkilerin hücre duvarı yapısını çözündürmek için araştırılmıştır (Nadar ve ark., 2018). Bu çalışmada AF'ler üzerindeki potansiyel ayrışma etkilerini araştırmak için ticari glukoamilaz kullanılmıştır. Ultrasonikasyon öncesi glukoamilaz işleminin, ince fındık kabuğunun ve dane içinin hücre duvarlarından sıvı ortama renklendirici pigment transferini artırabileceği unutulmamalıdır. Çalışmada, US güç yoğunluğu ve enzim konsantrasyonundan bağımsız olarak, kısa ultrasonikasyon süresinin ΔBI değerlerinde bir miktar düşüşe yol açtığı, uzun ultrasonikasyon süreleri ile en yüksek konsantrasyonlarda enzim uygulamasının ΔBI (daha açık renk anlamına gelen) üzerinde önemli bir düşüşe yol açtığı bulunmuştur. Fındık ve fındık zarları üzerinde yapılan önceki çalışmalar, fındık zarında en çok bulunan flavonoidlerin flavan-3oller olduğunu ortaya koymuştur (Özdemir ve ark., 2014). Fındık ezmesi üretimine bakıldığında fındık ezmesi, fındık içlerinin zarıyla birlikte ezilmesiyle elde edilmektedir. Böylece fındık ezmesinin rengi sadece fındık içlerinden gelen renklendirici bileşiklerden değil aynı zamanda fındık zarından gelen renklendirici bileşikleri ihtiva etmektedir. Önceki çalışmalar ayrıca flavan-3ollerin yüksek basınçlı homojenizasyon (Özdemir ve ark., 2014) ve ultrason süreçleri (Celotti ve ark., 2020) gibi çeşitli faktörlerle dekompose olduğunu göstermiştir. Daha açık kahverengi renk, flavan-3ollerin parçalanması, yüksek oranda polimerize olmuş melanoidinlerin çökmesi ve uzun süreli US uygulamasından sonra koyu kahverengi olan fındık zarının tahrip olmasıyla açıklanabilir.



Şekil 4.2. Üç boyutlu modeller a) enzim uygulaması ve US gücünün $\Delta AI\%$ üzerindeki ortak etkisi, b) US uygulama süresinin ve US gücünün $\Delta AI\%$ üzerindeki ortak etkisi, c) US gücü ve enzim işleminin ΔPV üzerindeki ortak etkisi, d) US uygulama süresinin ve US gücünün ΔBI üzerindeki ortak etkisi, e) US uygulama süresinin ve enzim işleminin ΔBI üzerindeki ortak etkisi, f) enzim uygulamasının ve US gücünün ΔBI üzerindeki ortak etkisi, g) AFT ve US uygulama süresinin ΔE üzerindeki ortak etkisi, h) US uygulama süresi ve enzim uygulamasının ΔE üzerindeki ortak etkisi, i) US gücü ve US uygulama süresinin ΔE üzerindeki ortak etkisi, j) US gücü ve US uygulama süresinin ΔT üzerindeki ortak etkisi ve k) enzim uygulaması ve US gücünün ΔT üzerindeki ortak etkisi

4.2.5. Sıcaklık değişimi (ΔT)

Şekil 4.2. j ve k fındık ezmesinin ΔT parametresindeki bağımsız değişkenlerini göstermektedir. Şekil 4.2.j, 80 W US gücünde ve 30 dk US uygulama süresi koşullarında ΔT 'nin maksimum seviyeye kadar çıkabildiğini göstermektedir. Öte yandan, enzim uygulaması katkısı yanıtların ΔT 'si üzerinde anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

ΔT için tespit edilen model dekleme şu şekildedir;

$$\Delta T = 69.79 + 21.82A + 21.79C \quad (4.10)$$

US gücü ve US uygulama süresinin ayrı ayrı etkilerinin anlamlı olduğu (Tablo 4.3), ancak diğer parametrelerin ΔT üzerinde anlamlı olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). Fındık örneklerinde daha yüksek US güç seviyeleri ve uzun süreli uygulama süreleri örneklerin sıcaklığının 100 °C'nin üzerine çıkmasına neden olmuştur.

US uygulamasının kavitasyon kabarcıkları oluşturabildiği ve bu kabarcıklar çöktüğünde yüksek miktarda enerji açığa çıktığı ve bu çökmelerin ortamda sıcaklık artışına neden olduğu bilinmektedir (Liu ve ark., 2019). Yani, daha uzun uygulama süreleri ile daha yüksek US güç seviyelerinde daha yüksek ΔT değerleri, kavitasyon kabarcıklarının çökmesi nedeniyle numunelerde ısıya dönüşen daha yüksek enerji salınımlarıyla açıklanabilir. Numunelerde ne kadar enerji açığa çıktığını ve sıcaklık artış miktarını gözlemlemek için çalışma sırasında herhangi bir sıcaklık önleyici sistem kullanılmadığını belirtmek gerekir. Numunelere US uygulanırken harici bir soğutma sistemi ile sıcaklık artışlarının önlenileceği düşünülmektedir.

4.2.6. Model validasyonu

Model validasyonunda AFT konsantrasyonları ML'lerin hemen üzerinde olan fındık püresi numuneleri seçilerek %AFT ve %AFB1 bozunma oranlarını optimize etmek amacıyla; AFT konsantrasyonu ($12.5 \mu\text{g kg}^{-1}$), US süresi (0-30 dk), enzim uygulaması ($50\text{-}250 \mu\text{L } 50\text{g}^{-1}$ fındık ezmesi), uygulama süresi (0-30 dk) gibi parametreler

maksimum AFT% ve AFB1% değerleri için seçilmiştir. AFG1%, AFG2%, AFB2%, Δ PIV, Δ AI%, Δ BI, Δ E ve Δ T ise normal değer aralıklarında (in range) bırakılmıştır. Design expert uygulamasında ağırlık faktörünün 0.1 ila 10 arasında değişmekte ve daha yüksek ağırlık faktörleri kriterlerin önemini vurgulamaktadır (Ghasemi ve Taghian Dinani, 2018).

Tablo 4.4. Optimize edilmiş AF'lerin bozulma süreci için farklı düzeylerdeki faktörler ve bunların yanıtları

Bağımsız değişkenler	Alt limit	Üst limit	Optimizasyon seviyesi	
US gücü (W)	30	80	80	
Enzim uygulaması (μ l 50g ⁻¹) veya (U enzim g ⁻¹ püre)	50 (0,5)	250 (2,5)	250 (2,5)	
Uygulama süresi (dk)	10	30	20	
AFT (μ g kg ⁻¹)	5	20	12,5	
Bağımlı değişkenler	Sınırlamalar	Deneyisel	Tahmin edilen	Fark*
AFT%	Maksimum	44,43 $\pm$ 2,38	43,94 $\pm$ 2,61	-0,49
AFG2%	Aralıkta	43,18 $\pm$ 2,53	46,35 $\pm$ 2,50	3,17
AFG1%	Aralıkta	38,17 $\pm$ 2,17	43,36 $\pm$ 3,15	5,19
AFB2%	Aralıkta	56,98 $\pm$ 3,02	58,72 $\pm$ 3,00	1,74
AFB1%	Maksimum	45,59 $\pm$ 2,19	44,17 $\pm$ 1,99	-1,42
Δ AI%	Aralıkta	9,7 $\pm$ 1,26	7,06 $\pm$ 1,25	-2,64
Δ PIV	Aralıkta	0,20 $\pm$ 0,03	0,19 $\pm$ 0,04	-0,01
Δ E	Aralıkta	2,07 $\pm$ 1,36	2,27 $\pm$ 1,42	0,20
Δ BI	Aralıkta	-44,75 $\pm$ 0,10	-32,13 $\pm$ 4,55	-12,62
Δ T	Aralıkta	96,05 $\pm$ 5,92	91,60 $\pm$ 7,53	-4,45

Fark*= Tahmin edilen değer-Deneyisel değer

AFT% ve AFB1% için ağırlık faktörü 5 seçilmiştir ve diğer yanıtlar için ağırlık faktörü 3 seçilmiştir. Model validasyonunda AFT% ve AFB1% için ağırlık faktörü 5 ve diğer yanıtlar için ağırlık faktörü 3 olarak seçilmiştir.

Tablo 4.4. optimal AFT% ve AFB1% koşullarını göstermektedir. Bağımlı değişkenlerin, modellerden tahmin edilen ve deneysel yolla belirlenen değerlerini karşılaştırmak için oluşturulmuş Tablo 4.4 'teki değerler incelendiğinde, deneysel değerlerin tahmin edilen değerlerle kabul edilebilir bir uyum içinde olduğu görülmektedir.

Dolayısıyla, önerilen BBD modelleri, fındık püresi ürünlerinin belirli kalite parametrelerinin yanı sıra ultrasonikasyon kullanılarak AF'lerin bozulma yüzdesini tahmin etmek için kullanılabilir.



BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ultrason, küresel gıda işleme endüstrisinde potansiyel uygulamalara sahip, dekontaminasyon için umut verici bir yöntemdir. Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız, fındık püresinde endüstriyel enzim ve ultrasonikasyonun birlikte kullanılarak AF'lerin dekontaminasyon düzeylerini ortaya koyan ilk çalışmadır. Literatürde ultrasonikasyonun AF bozunması üzerindeki etkisine ilişkin çalışmaların tamamı sulu ortamda gerçekleştirilmiş olup, gerçek gıda çözeltilerinde çok az çalışma yapılmıştır. Bu nedenle, AF'lerin bozunma ürünlerini ve toksisitesini belirlemek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Ayrıca fındık püresindeki kimyasal değişiklikler, özellikle ultrasonikasyon sonrası yağ bileşimindeki değişiklikler araştırılmalıdır.

Bazı örneklerde AFT degradasyonu %50'nin üzerine çıkmış olsada, çalışma sonuçları AF'lerin başlangıç konsantrasyonunun örneklerdeki degradasyon oranlarını belirgin şekilde etkilediğini göstermiştir. Daha yüksek başlangıç AFT konsantrasyonları, degradasyon verimliliğini olumsuz etkilemiş ve nispeten daha düşük degradasyon değerleri elde edilmesine neden olmuştur. Fındık pürelerinde AF'lerin bozunması US gücünden (veya yoğunluğundan) ve US uygulama süresinden büyük ölçüde etkilenmişken, glukozamilaz konsantrasyonunun önemli mikotoksinler olan AFT ve AFB1'in bozunmasını etkilemediği belirlenmiştir.

Çalışma sonuçları, $\% \Delta A I$ 'nin US güç yoğunluğundan ve numunelere uygulanan sonikasyon süresinden önemli ölçüde etkilendiğini göstermiştir. Başka bir deyişle US yoğunluğu ve uygulama süresi ne kadar yüksek olursa fındık püresinde o kadar aromatik karakterli bileşen oluşmaktadır. Bu nedenle, bu bileşenlerin niteliğini ve miktarını araştırmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Çalışma sonuçları glukoamilaz enzim uygulaması ile PV'nin anlamlı düzeyde arttığını ancak diğer parametrelerin bu artışta etkili olmadığını göstermiştir. Fındık püresinin renk özellikleri dikkate alındığında, fındık püresi örneklerinin ultrasonik uygulama sonrası renk değişimlerinin yorumlanmasında ΔE ve ΔBI terimlerinin birlikte kullanılmasının daha sağlıklı sonuçlara yol açabileceğini göstermiştir.

ΔE ve ΔBI , numunelerin başlangıçtaki AFT konsantrasyonundan önemli ölçüde etkilenmiştir. Ayrıca US uygulaması fındık püresinin BI' sini açıkça azaltmıştır. Daha yüksek US gücünün uygulanması ve uygulama sürelerinin uzaması, fındık örneklerinde sıcaklığın 100 °C'ye kadar çıkmasına neden olmuştur. Bu nedenle, endüstriyel uygulamalarda US kullanılarak AF'lerin degradasyonu göz önüne alındığında, ürün kalitesinin dikkate alınması amacıyla, bu kadar sıcaklık artışını kontrol edebilecek uygun soğutma sistemleri geliştirilmelidir.

Bu çalışmada, fındık püresi örneklerinde AF'lerin degradasyon oranlarını ultrasonikasyon kullanarak tahmin etmek için bir BBD modeli başarıyla uygulanmıştır. Çalışma sonuçları, AF degradasyonunun başarısının büyük ölçüde başlangıçtaki AFT konsantrasyonuna, US yoğunluğuna ve uygulama süresine bağlı olduğunu göstermiştir.

Fındık püresindeki AF'lerin bozunması için ultrasonikasyon umut verici yeni bir yöntem olmasına rağmen hala açıklanması gereken birçok bilinmeyen parametre vardır. Bu nedenle, AF'lerin degradasyonundan kaynaklanan yan ürünlerin kimyasal yapısını ve toksisitesini ortaya çıkarmak, ultrasonikasyon sonrası fındık pürelerinde serbest yağ asidi bileşimi değişiklikleri gibi kalite değişikliklerini tespit etmek için daha ileri araştırmalara büyük ölçüde ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Adebo, O.A, Molelekoa, T, Makhuvele, R, Adebiyi, J.A, Oyedeji, A.B, Gbashi, S, ... Njobeh, P. B.2021. A review on novel non-thermal food processing techniques for mycotoxin reduction. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(1): 13–27.
- Ahmad, A, Rehman, M.U, Wali, A.F, El-Serehy, H.A, Al-Misned, F. A, ... Maodaa, S.N. 2020. Box–behnen response surface design of polysaccharide extraction from rhododendron arboreum and the evaluation of its antioxidant potential. *Molecules*, 25(17): 1-12.
- Akpınar, Ş, 2008. Aflatoksinin fındık ihracatına etkisi. *Ordu’da Gıda Güvenliği*, 2(5): 26-27.
- Alasalvar, C, Shahidi, F, Liyanapathirana, C.M, Ohshima, T. 2003. Turkish tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.). 1. Compositional characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(13): 3790-3796.
- Anonim. 2022. Fındık ürün raporu. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler>
- Ashrae. 2006. Thermal properties of food. In *The American Journal of Physiology*, 182: 369–376.
- Baltacı, C, Ilyasoğlu, H, Cavarar, S. 2012. Aflatoxin levels in raw and processed hazelnuts in Turkey. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*, 5(2): 83–86.
- Baş, F, Ömeroğlu, S, Türdü, S, Aktaş, S. 1986. Önemli Türk fındık çeşitlerinin bileşim özelliklerinin saptanması. *Gıda*, 11(4): 195- 203.
- Battilani, P, Chiusa, G, Arciuolo, R, Somenzi, M, Fontana, M, Castello, G, Spigolon, N. 2018. Diaporthe as the main cause of hazelnut defects in the Caucasus region. *Phytopathologia Mediterranea*, 57(2): 320–333.
- Benford, D., Ceccatelli, S., Cottrill, B., DiNovi, M., Dogliotti, E., Edler, L., ... Wester, P. (2013). Scientific Opinion on the risk for public and animal health related to the presence of sterigmatocystin in food and feed. *Efsa Journal*, 11(6), 1-81.
- Benkerroum, N. 2020. Aflatoxins: Producing-molds, structure, health issues and incidence in southeast asian and sub-saharan african countries. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4): 1215
- Bonvehi, J.S, Coll, F.V. 2009. Detecting vegetable oil adulteration in hazelnut paste (*Corylus avellana* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 44(3): 456–466.

- Borges, K.B, Pupo, M.T, De Freitas, L.A.P, Bonato, P.S. 2009. Box-Behnken design for the optimization of an enantioselective method for the simultaneous analysis of propranolol and 4-hydroxypropranolol by CE. *Electrophoresis*, 30(16): 2874–2881.
- Calderón-Martínez, V, Delgado-Ospina, J, Ramírez-Navas, J.S, Flórez-López, E, Valdés-Restrepo, M.P, Grande-Tovar, C.D, Chaves-López, C. 2021. Effect of pretreatment with low-frequency ultrasound on quality parameters in gulupa (*Passiflora edulis sims*) pulp. *Applied Sciences*, 11(4): 1–15.
- Celotti, E, Stante, S, Ferraretto, P, Román, T, Nicolini, G, Natolino, A. 2020. High power ultrasound treatments of red young wines: Effect on anthocyanins and phenolic stability indices. *Foods*, 9(10): 1344.
- Cheng, Y.-L, Lee, C.-Y, Huang, Y.-L, Buckner, C.A, Lafrenie, R.M, ... Dénommée, J.A. 2016. Application of Central Composite Design with Design Expert v13 in Process Optimization. *Intech*, 11(tourism), 13.
- Commission of the European Communities. 2006. Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 70(401): 12–34.
- Çakır, C. 2020. Aktif karbon ve bentonit uygulamasının fındık sütünün aflatoksin profili ve kalite özellikleri üzerine etkisi. Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği ABD, Yüksek Lisans Tezi.
- Desphande, S.S. 2002. Fungal toxins. In: *Food toxicology*., Marcel Dekker, NY, USA, pp. 387-456.
- EFSA. 2020. Risk assessment of aflatoxins in food. *EFSA Journal*, 18(3): 6040.
- Ekinci, R, Otağ, M, Kadakal, Ç. 2014. Patulin & ergosterol: New quality parameters together with aflatoxins in hazelnuts. *Food Chemistry*, 150: 17–21.
- Ercan, S. N, Dervisoglu, M. 1998. Study of the steady flow behavior of hazelnut paste. *Journal of Food Process Engineering*, 21(3): 181–90.
- Ercan, S.N, Dervisoglu, M. 1998. Study of the steady flow behavior of hazelnut paste. *Journal of Food Process Engineering*, 21(3): 181–190.
- European Commission. 2022. RASFF Annual Reports from 2002 to 2022. https://food.ec.europa.eu/safety/acn/reports-and-publications_en#rapid-alert-system-for-food-and-feed-rasff Giriş Tarihi: 20 Ağustos 2023.
- Europol. 2017. Opson_Vi_Report. <https://www.europol.europa.eu/publications-events/publications/operation-opson-vi-targeting-counterfeit-and-substandard-foodstuff-and-beverage> Giriş Tarihi: 19 Mayıs 2023.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAOSTAT. 2021. <http://www.fao.org/faostat/en/?#data/QC/visualize> Giriş tarihi: 19 Mayıs 2023.
- Ghasemi, Y.Z, Taghian Dinani, S. 2018. Optimization of ultrasound-assisted enzymatic extraction of walnut kernel oil using response surface methodology. *Journal of Food Process Engineering*, 41(5): 1-18.

- Göncüoğlu Taş, N, Gökmen, V. 2017. Maillard reaction and caramelization during hazelnut roasting: A multiresponse kinetic study. *Food Chemistry*, 221: 1911–1922.
- Guo, Y, Zhao, L, Ma, Q, Ji, C. 2021. Novel strategies for degradation of aflatoxins in food and feed: A review. *Food Research International*, 140(2021): 109878.
- Günay, H.F, Uyğun, U, Yardımcıoğlu, F. 2020. Fındık üretimine yönelik mali desteklerin yeterlilik ve çiftçi memnuniyeti yönünden değerlendirilmesi. *Sakarya İktisat Dergisi*, 9(4): 299-332.
- Hacıbekiroğlu, I. 2013. Gıda örneklerinde aflatoksin (G 1, G2, B 1, B2) ve okratoksin a'nın hplc metot validasyonu ve miktar tayinleri, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya ABD, Doktora Tezi.
- Halim, H.H, Thoo, Y.Y. 2018. Effect of ultrasound treatment on oxidative stability of sunflower oil and palm oil. *International Food Research Journal*, 25(5): 1959–1967.
- Hashemi Moosavi, M, Mousavi Khaneghah, A, Javanmardi, F, Hadidi, M, Hadian, Z, ... Jafarzadeh, S. 2021. A review of recent advances in the decontamination of mycotoxin and inactivation of fungi by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 79: 105755.
- Houshyarfard, M, Javadi, D. 2018. The aspergillus flavus susceptibility of hazelnut varieties (*Corylus Avellana* L.) in laboratory conditions. *Journal of Nuts*, 9(2): 181–88.
- Imperato, R, Campone, L, Piccinelli, A.L, Veneziano, A, Rastrelli, L. 2011. Survey of aflatoxins and ochratoxin a contamination in food products imported in Italy. *Food Control*, 22(12): 1905–1910.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 1993. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. World Health Organization, 56.
- International Agency for Research on Cancer IARC. 2012. Chemical agents and related occupations. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans / World Health Organization, International Agency for Research on Cancer.
- İslam, A. 2019. Fındık ıslahında gelişmeler. *Akademik Ziraat Dergisi*, 8(Özel Sayı): 167-174.
- Jackson, L.S, Al-Taher, F. 2008. Factors affecting mycotoxin productions in fruits. In: *Mycotoxins in fruits and vegetables*. Academic Pres, UK, 75- 105.
- Jiménez, A, Beltrán, G, Uceda, M. 2007. High-power ultrasound in olive paste pretreatment. Effect on process yield and virgin olive oil characteristics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14(6): 725–731.
- Kabak, B. 2016. Aflatoxins in hazelnuts and dried figs: Occurrence and exposure assessment. *Food Chem.* 211: 8–16.
- Kabak, B. 2021. Aflatoxins in foodstuffs: Occurrence and risk assessment in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 96: 103734.

- Kaseke, T, Opara, U.L, Fawole, O.A. 2021. Novel seeds pretreatment techniques: effect on oil quality and antioxidant properties: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 58(12): 4451–4464.
- Kırca, L, Tuba, B.A.K, Kırca, S, Karadeniz, T. 2018. Fındığın kullanım alanları ve insan sağlığına etkileri. *Bahçe*, 47 (2): 292–299.
- Knutsen, H.K, Alexander, J, Barreg, L, Ceccatelli, S, Cottrill, B, ... Dinovi, M. 2018. Effect on public health of a possible increase of the maximum level for afl atoxin total from 4 to 10 µg / kg in peanuts and processed products thereof, intended for direct human consumption or use as an ingredient in foodstuffs. *EFSA Journal*, 16(2): 5175.
- Köksal, A.İ, Artik, N, Şimşek, A, Güneş, N. 2006. Nutrient composition of hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties cultivated in Turkey. *Food Chemistry*, 99(3): 509-515.
- Köksal, A.İ. 2018. Türk fındık çeşitleri. İçinde: Fındığın insan beslenmesinde önemi.1. Baskı, Merdiven Reklam Tanıtım, Ankara, 108-112.
- Kumar, V, Chandra, R. 2018. Characterisation of manganese peroxidase and laccase producing bacteria capable for degradation of sucrose glutamic acid-Maillard reaction products at different nutritional and environmental conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(2): 1–18.
- Kumar, Vishal, Bahuguna, A, Ramalingam, S, Dhakal, G, Shim, J.J, Kim, M. 2022. Recent technological advances in mechanism, toxicity, and food perspectives of enzyme-mediated aflatoxin degradation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(20): 5395–5412.
- Liu, Y, Li, M, Liu, Y, Bai, F, Bian, K. 2019. Effects of pulsed ultrasound at 20 kHz on the sonochemical degradation of mycotoxins. *World Mycotoxin Journal*, 12(4): 357–366.
- Liu, Y, Li, M, Liu, Y, Bian, K. 2019. Structures of reaction products and degradation pathways of aflatoxin B1 by ultrasound treatment. *Toxins*, 11(9): 526.
- Liu, Yuanfang, Liu, Y, Zhao, W, Li, M, Liu, N, Bian, K. 2022. Reduction of Aflatoxin B1 and Zearalenone Contents in Corn Using Power Ultrasound and Its Effects on Corn Quality. *Toxins*, 14(12): 1–14.
- Loi, M, Fanelli, F, Liuzzi, V.C, Logrieco, A.F, Mulè, G. 2017. Mycotoxin biotransformation by native and commercial enzymes: Present and future perspectives. *Toxins*, 9(4): 111.
- Mayolo-Deloisa, K, González-González, M, Rito-Palomares, M. 2020. Laccases in Food Industry: Bioprocessing, Potential Industrial and Biotechnological Applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8: 1–8.
- Mazzucotelli, M, Khomenko, I, Betta, E, Cetto, I, Farneti, B, ... Gabetti, E. 2023. Monitoring alkyl pyrazines in roasted hazelnuts by SHS-GC-IMS: IMS response assessment and standardization. *Talanta*, 259: 124568.
- Ng, S, Lasekan, O, Muhammad, K, Sulaiman, R, Hussain, N. 2014. Effect of roasting conditions on color development and Fourier transform infrared spectroscopy

- (FTIR-ATR) analysis of Malaysian-grown tropical almond nuts (*Terminalia catappa* L.). *Cardiovascular Intervention and Therapeutics*, 8(1): 1–11.
- Oliveira, I, Sousa, A, Morais, J.S, Ferreira, I.C.F.R, Bento, A, Estevinho, L, Pereira, J.A. 2008. Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of three hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 46(5): 1801–1807.
- Owolabi, I.O, Karoonuthaisiri, N, Elliott, C.T, Petchkongkaew, A. 2023. A 10-year analysis of RASFF notifications for mycotoxins in nuts. Trend in key mycotoxins and impacted countries. *Food Research International*, 172: 112915.
- Ozay, G, Seyhan, F, Pembeci, C, Saklar, S, Yilmaz, A. 2008. Factors influencing fungal and aflatoxin levels in Turkish hazelnuts (*Corylus Avellana* L.) during growth, harvest, drying and storage: A 3-Year Study. *Food Additives and Contaminants*, 25(2): 209–18.
- Ozdemir, F, Akinci, I. 2004. Physical and nutritional properties of four major commercial Turkish hazelnut varieties. *Journal of Food Engineering*, 63(3): 341–347.
- Özata, A. 2021. Farklı oranlarda fındık zarı ilaveli sürülebilir çikolatanın kalite özelliklerinin araştırılması. Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği ABD, Yüksek Lisans Tezi.
- Özçakmak, S, Dervişoğlu, M. 2007. Fındıkta aflatoksin oluşumuna etkili faktörler, Avrupa Birliği'nin limit değerlerle ilgili düzenlemeleri ve Türk fındığının ihracatına etkileri. *Gıda*, 32(1): 33- 40.
- Özçelik, B, Karaali, A. 2002. Characterization of the texture and flavor of hazelnut puree. *Journal of Food Quality*, 25(6) (2002): 471–576.
- Özdemir, K.S, Yilmaz, C, Durmaz, G, Gokmen, V. 2014. Hazelnut skin powder: A new brown colored functional ingredient. *Food Research International*, 65: 291–297.
- Özdemir, M, Açkurt, F, Yıldız, M, Biringen, G, Gürcan, T, Löker, M. 2001. Effect of roasting on some nutrients of hazelnuts (*Corylus Avellana* L.). *Food Chemistry*, 73(2): 185–190.
- Özdemir, M, Devres, O. 1999. Turkish hazelnuts: Properties and effect of microbiological and chemical changes on quality. *Food Reviews International*, 15(3): 309–333.
- Öztürk, D, Yıldız, S, Topsakal, E. 2017. Analysis of the Current State of Hazelnut Processing Plants in Ordu. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 5(12): 1651-1659.
- Park, D.L, Ayala, C.E, Guzman- Perez, S.E, Lopez-Garcia, R, Trujillo, S. 2001. Microbial Toxins in Foods: Algal, Fungal, and Bacterial. In: *Food Toxicology*. CRC Press LLC, Florida, USA, 94-117.
- Pickova, D, Ostry, V, Toman, J, Malir, F. 2021. Aflatoxins: History, significant milestones, recent data on their toxicity and ways to mitigation. *Toxins*, 13(6): 1–23.

- Pingret, D, Fabiano-Tixier, A.S, Chemat, F. 2013. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*, 31(2): 593–606.
- Rigane, G, Yahyaoui, A, Acar, A, Mnif, S, Salem, R. Ben, Arslan, D. 2020. Change in some quality parameters and oxidative stability of olive oils with regard to ultrasound pretreatment, depitting and water addition. *Biotechnology Reports*, 26: 4–9.
- Romagnoli, B, Menna, V, Gruppionni, N, Bergamini, C. 2009. Aflatoxins in Spices, Aromatic herbs, herb- teas and medicinal plants marketed in Italy. *Food Control* 18: 697- 701.
- Roychoudhury, S, Choudhury, B.P, Choudhury, A.P, Pal, M, Kosgi, R, Mandal, S.C. 2022. Herbal aphrodisiac biomolecules in the management of male reproductive and sexual problems: connecting nature with clinics. In: *Herbal Biomolecules in Healthcare Applications*, Academic Press, 591–611.
- Saklar, S, Ugan, S, Katnas, S. 2003. Microstructural changes in hazelnuts during roasting. *Food Research International*, 36(1): 19–23.
- Senyuva, H.Z, Gilbert, J. 2005. Immunoaffinity Column Cleanup with Liquid Chromatography Using Post-Column Bromination for Determination of Aflatoxins in Hazelnut Paste: Interlaboratory Study. *Journal of AOAC International*, 88(2): 526–535.
- Sıray, E. 2010. Giresun ili merkez ilçede fındık yetiştiren işletmelerin ekonomik analizi, üretim ve pazarlama sorunlarının belirlenmesi üzerine bir araştırma. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Ekonomisi ABD, Yüksek Lisans Tezi.
- Spigno, G, Donsì, F, Amendola, D, Sessa, M, Ferrari, G, De Faveri, D.M. 2013. Nanoencapsulation systems to improve solubility and antioxidant efficiency of a grape marc extract into hazelnut paste. *Journal of Food Engineering*, 114(2): 207–214.
- Stroka, J, 2001. Determination of Aflatoxins in Food and Feed with Simple and Optimised Methods. PhD Thesis. Universität Duisburg-Essen, Fachbereich C-Mathematik und Naturwissenschaften» Chemie» Dissertationen.
- Suman, M, Cavanna, D, Sammarco, G, Lambertini, F, Loffi, C. 2021. Fighting food frauds exploiting chromatography-mass spectrometry technologies: Scenario comparison between solutions in scientific literature and real approaches in place in industrial facilities. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 142: 116305.
- Suslick, K.S, Eddingsaas, N.C, Flannigan, D.J, Hopkins, S.D, Xu, H. 2011. Extreme conditions during multibubble cavitation: Sonoluminescence as a spectroscopic probe. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4): 842–846.
- Şen, L, Civil, O. 2022. Presence of aflatoxins in hazelnut paste in Turkey and a risk assessment study. *Food Additives and Contaminants - Part A*, 39(8): 1474–1486.
- Şen, L. 2017. Fındıkta Aflatoksin ve sterigmatosistin mikotoksinlerinin HPLC ile belirlenmesi. Giresun Üniversitesi BAP raporu, Giresun, 35.
- Şen, L. Nas, S. 2010. Kuru İncir, Üzüm ve Kırmızı Biberlerde Mikotoksin Varlığı, *Akademik Gıda*, 8(3): 24-32.

- Taha, F.S, Hassanein, M.M. 2007. Pretreatment of cottonseed flakes with proteases and an amylase for higher oil yields. *Grasas y Aceites*, 58(3): 297–306.
- Tan, M.C, Chin, N.L, Yusof, Y.A. 2012. A Box-Behnken Design for Determining the Optimum Experimental Condition of Cake Batter Mixing. *Food and Bioprocess Technology*, 5(3): 972–982.
- Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE). 2021. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü Ürün Raporu: Fındık. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler>
- Thipraksa, J, Chaijak, P. 2023. Using of Oxidoreductase Producing Consortium with High Manganese Peroxidase Activity for Melanoidin Degradation and Electricity Generation from Palm Oil Mill Effluent. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 13(3): 1–7.
- Turner, F, Alatraktchi, F.A.Z. a. 2023. Recent advances in electrochemical biosensing of aflatoxin M1 in milk – A mini review. *Microchemical Journal*, 190: 108594.
- Torabi, S, Satari, B, Hassan-Beygi, S.R. 2021. Process optimization for dilute acid and enzymatic hydrolysis of waste wheat bread and its effect on aflatoxin fate and ethanol production. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11(6): 2617–2625.
- Tripathi, S, Mishra, H.N. 2011. Modeling and Optimization of Enzymatic Degradation of Aflatoxin B 1 (AFB 1) in Red Chili Powder Using Response Surface Methodology. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5): 770–780.
- Uzundumlu, A.S., Bilgiç, A, Ertek, N. 2019. Türkiye’nin fındık üretiminde önde gelen illerin 2019-2025 yılları arasındaki fındık üretimlerinin ARIMA modeliyle tahmin edilmesi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 8(Özel Sayı): 115-126.
- Yabe, K, Yakajima, H, 2004. Enzyme reactions and genes in aflatoxin biosynthesis. *Appl Microbiol Biotechnol*. 64: 745–755.
- Yang, P, Xiao, W, Lu, S, Jiang, S, Jiang, S, ... Chen, J. 2022. Characterization of a *Trametes versicolor* aflatoxin B1-degrading enzyme (TV-AFB1D) and its application in the AFB1 degradation of contaminated rice in situ. *Frontiers in Microbiology*, 13: 1–13.
- Yaylayan, V.A. 2003. Recent advances in the chemistry of strecker degradation and amadori rearrangement: Implications to aroma and color formation. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 50(8): 372–377.
- Zaccaria, M, Dawson, W, Russel Kish, D, Reverberi, M, Bonaccorsi di Patti, M.C, Domin, M. 2023. Experimental–theoretical study of laccase as a detoxifier of aflatoxins. *Scientific Reports*, 13(1): 1–10.
- Zhang, Z, Li, D, Zhang, X. 2019. Enzymatic decolorization of melanoidins from molasses wastewater by immobilized keratinase. *Bioresource Technology*, 280: 165–172.
- Zinedine, A, Mañes, J. 2009. Occurrence and Legislation of Mycotoxins in Food and Feed from Morocco. *Food Control* 20: 334- 344.

EKLER

EK-1. Elde edilen modellerin ANOVA Tabloları

ANOVA for Reduced Quartic model

Response 1: AFT %

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	1066,39	9	118,49	17.38	< 0.0001 significant
A-US Power	744,78	1	744,78	109,4	< 0,0001
C-Application time	42,42	1	42,42	6,22	0,0220
AD	75,05	1	75,05	11,01	0,0036
CD	69,76	1	69,76	10,23	0,0047
A ²	59,50	1	59,50	8,73	0,0081
D ²	21,35	1	21,35	3,13	0,0928
B ² D	54,50	1	54,50	7,99	0,0108
A ² B ²	71,69	1	71.69	10,52	0,0043
A ² C ²	53,77	1	53,77	7,89	0,0112
Residual	129,54	19	6,82		
Lack of Fit	108,42	15	7,23	1,37	0,4148 not significant
Pure Error	21,11	4	5,28		
Cor Total	1195,93	28			

Fit Statistics

Std. Dev.	2,61	R²	0,8917
Mean	37,75	Adjusted R²	0,8404
C.V. %	6,92	Predicted R²	0,7018
		Adeq Precision	16,9664

ANOVA for Reduced Quartic model

Response 2: AFG2%

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	1915,67	14	136,83	21,76	< 0,0001 significant
A-US Power	587,08	1	587,08	93,37	< 0,0001
B-Enzyme Treatment	277,00	1	277,00	44,06	< 0,0001
C-Application time	278,07	1	278,07	44,23	< 0,0001
AD	62,75	1	62,75	9,98	0,0070
CD	43,30	1	43,30	6,89	0,0200
A ²	42,48	1	42,48	6,76	0,0210
B ²	44,98	1	44,98	7,15	0,0181
C ²	35,10	1	35,10	5,58	0,0331
D ²	573,60	1	573,60	91,23	< 0,0001
A ² B	120,93	1	120,93	19,23	0,0006
A ² C	104,89	1	104,89	16,68	0,0011
B ² C	144,21	1	144,21	22,94	0,0003
BC ²	64,25	1	64,25	10,22	0,0065
A ² C ²	73,34	1	73,34	11,66	0,0042
Residual	88,02	14	6,29		
Lack of Fit	67,94	10	6,79	1,35	0,4135 not significant
Pure Error	20,08	4	5,02		
Cor Total	2003,69	28			

Fit Statistics

Std. Dev.	2,51	R²	0,9561
Mean	34,63	Adjusted R²	0,9121
C.V. %	7,24	Predicted R²	0,7443
		Adeq Precision	16,1130

ANOVA for Reduced Quartic model

Response 3: AFG1 %

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	1220,10	21	58,10	8,74	0,0034 significant
A-US Power	260,41	1	260,41	39,16	0,0004
B-Enzyme Treatment	58,61	1	58,61	8,81	0,0208
C-Application time	128,43	1	128,43	19,31	0,0032
D-AFT	0,0879	1	0,0879	0,0132	0,9117
AB	14,75	1	14,75	2,22	0,1800
AC	35,40	1	35,40	5,32	0,0544
AD	10,50	1	10,50	1,58	0,2493
BC	2,12	1	2,12	0,3185	0,5901
CD	116,91	1	116,91	17,58	0,0041
A ²	122,57	1	122,57	18,43	0,0036
B ²	1,04	1	1,04	0,1563	0,7043
C ²	19,83	1	19,83	2,98	0,1279
D ²	101,60	1	101,60	15,28	0,0058
A ² B	47,65	1	47,65	7,17	0,0317
A ² C	137,34	1	137,34	20,65	0,0027
A ² D	67,85	1	67,85	10,20	0,0152
AB ²	8,73	1	8,73	1,31	0,2896
AC ²	35,09	1	35,09	5,28	0,0552
B ² C	76,62	1	76,62	11,52	0,0115
A ² B ²	101,08	1	101,08	15,20	0,0059
A ² C ²	218,30	1	218,30	32,82	0,0007
Residual	46,55	7	6,65		
Lack of Fit	25,35	3	8,45	1,59	0,3235 not significant
Pure Error	21,20	4	5,30		
Cor Total	1266,65	28			

Fit Statistics

Std. Dev.	2,58	R ²	0,9632
Mean	36,83	Adjusted R ²	0,8530
C.V. %	7,00	Adeq Precision	13,9641

ANOVA for Reduced Cubic model

Response 4: AFB2 %

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	2885,76	12	240,48	26,69	< 0,0001 significant
A-US Power	1532,66	1	1532,66	170,09	< 0,0001
B-Enzyme Treatment	73,67	1	73,67	8,18	0,0114
C-Application time	34,21	1	34,21	3,80	0,0691
AB	41,46	1	41,46	4,60	0,0476
AC	61,71	1	61,71	6,85	0,0187
AD	248,36	1	248,36	27,56	< 0,0001
CD	98,81	1	98,81	10,97	0,0044
A ²	138,43	1	138,43	15,36	0,0012
D ²	251,35	1	251,35	27,89	< 0,0001
A ² C	108,11	1	108,11	12,00	0,0032
A ² D	258,90	1	258,90	28,73	< 0,0001
B ² C	37,79	1	37,79	4,19	0,0573
Residual	144,17	16	9,01		
Lack of Fit	122,97	12	10,25	1,93	0,2752 not significant
Pure Error	21,20	4	5,30		
Cor Total	3029,93	28			

Fit Statistics

Std. Dev.	3,00	R²	0,9524
Mean	36,61	Adjusted R²	0,9167
C.V. %	8,20	Predicted R²	0,7397
		Adeq Precision	19,7031

ANOVA for Reduced Cubic model

Response 5: AFB1%

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	1529,62	15	101,97	25,73	< 0,0001 significant
A-US Power	527,19	1	527,19	133,00	< 0,0001
B-Enzyme Treatment	3,02	1	3,02	0,7618	0,3986
C-Application time	53,67	1	53,67	13,54	0,0028
D-AFT	31,33	1	31,33	7,90	0,0147
AB	1,65	1	1,65	0,4150	0,5306
AC	8,31	1	8,31	2,10	0,1712
AD	159,85	1	159,85	40,33	< 0,0001
BD	0,4069	1	0,4069	0,1027	0,7538
CD	67,25	1	67,25	16,96	0,0012
B ²	14,86	1	14,86	3,75	0,0749
C ²	0,0014	1	0,0014	0,0004	0,9853
D ²	28,72	1	28,72	7,25	0,0185
AB ²	35,64	1	35,64	8,99	0,0103
AC ²	18,47	1	18,47	4,66	0,0502
B ² D	36,77	1	36,77	9,28	0,0094
Residual	51,53	13	3,96		
Lack of Fit	30,33	9	3,37	0,6359	0,7374 not significant
Pure Error	21,20	4	5,30		
Cor Total	1581,15	28			

Fit Statistics

Std, Dev,	1,99	R²	0,9674
Mean	38,78	Adjusted R²	0,9298
C,V, %	5,13	Predicted R²	0,8392
Adeq Precision 24,0752			

ANOVA for Reduced Quadratic model

Response 6: AI(%)

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	126,27	8	15,78	10,03	< 0,0001 significant
A-US Power	21,56	1	21,56	13,69	0,0014
B-Enzyme Treatment	0,1423	1	0,1423	0,0904	0,7668
C-Application time	67,67	1	67,67	42,99	< 0,0001
D-AFT	31,28	1	31,28	19,87	0,0002
AB	0,4654	1	0,4654	0,2957	0,5926
AC	0,0016	1	0,0016	0,0010	0,9745
B ²	4,91	1	4,91	3,12	0,0926
C ²	0,0306	1	0,0306	0,0194	0,8906
Residual	31,48	20	1,57		
Lack of Fit	15,96	16	0,9977	0,2572	0,9784 not significant
Pure Error	15,52	4	3,88		
Cor Total	157,75	28			

Fit Statistics

Std, Dev,	1,25	R ²	0,8004
Mean	5,79	Adjusted R ²	0,7206
C,V, %	21,65	Predicted R ²	0,5948
		Adeq Precision	11,4151

ANOVA for Linear model

Response 7: Δ PV

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	0,1350	4	0,0338	15,40	< 0,0001 significant
A-US Power	0,0075	1	0,0075	3,42	0,0766
B-Enzyme Treatment	0,1200	1	0,1200	54,77	< 0,0001
C-Application time	0,0075	1	0,0075	3,42	0,0766
D-AFT	2,776E-17	1	2,776E-17	1,267E-14	1,0000
Residual	0,0526	24	0,0022		
Lack of Fit	0,0326	20	0,0016	0,3259	0,9599 not significant
Pure Error	0,0200	4	0,0050		
Cor Total	0,1876	28			

Fit Statistics

Std, Dev,	0,0468	R²	0,7197
Mean	0,1207	Adjusted R²	0,6729
C,V, %	38,78	Predicted R²	0,6191
		Adeq Precision	12,8625

ANOVA for Reduced Quadratic model

Response 8: ΔE

Transform: Power

Lambda: 1.6, Constant: 52.6

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	60671,69	6	10111,95	16,02	< 0,0001 significant
B-Enzyme Treatment	0,7332	1	0,7332	0,0012	0,9731
C-Application time	6634,96	1	6634,96	10,51	0,0037
D-AFT	29516,65	1	29516,65	46,77	< 0,0001
BC	3443,52	1	3443,52	5,46	0,0290
CD	2743,79	1	2743,79	4,35	0,0489
D ²	18332,03	1	18332,03	29,05	< 0,0001
Residual	13883,69	22	631,08		
Lack of Fit	7482,67	18	415,70	0,2598	0,9802 not significant
Pure Error	6401,02	4	1600,26		
Cor Total	74555,38	28			

Fit Statistics

Std, Dev,	25,12	R ²	0,8138
Mean	628,16	Adjusted R ²	0,7630
C,V, %	4,00	Predicted R ²	0,6331
		Adeq Precision	16,4843

ANOVA for Reduced Cubic model

Response 9: ▲BI

Transform: Square Root

Constant: 154

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	182,20	6	30,37	7,01	0,0003	significant
D-AFT	32,58	1	32,58	7,52	0,0119	
BC	27,30	1	27,30	6,30	0,0199	
A ²	31,48	1	31,48	7,27	0,0132	
AC ²	16,96	1	16,96	3,92	0,0605	
B ² C	42,06	1	42,06	9,71	0,0050	
BC ²	31,81	1	31,81	7,35	0,0128	
Residual	95,27	22	4,33			
Lack of Fit	53,42	18	2,97	0,2837	0,9729	not significant
Pure Error	41,85	4	10,46			
Cor Total	277,47	28				

Fit Statistics

Std, Dev,	2,08	R²	0,6566
Mean	9,60	Adjusted R²	0,5630
C,V, %	21,67	Predicted R²	0,4949
		Adeq Precision	12,5687

ANOVA for Reduced Linear model

Response 10: Temperature Change

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	11410,12	2	5705,06	100,43	< 0,0001 significant
A-US Power	5711,60	1	5711,60	100,55	< 0,0001
C-Application time	5698,52	1	5698,52	100,32	< 0,0001
Residual	1476,90	26	56,80		
Lack of Fit	1404,81	22	63,86	3,54	0,1137 not significant
Pure Error	72,09	4	18,02		
Cor Total	12887,03	28			

Fit Statistics

Std, Dev,	7,54	R²	0,8854
Mean	69,79	Adjusted R²	0,8766
C,V, %	10,80	Predicted R²	0,8511
		Adeq Precision	35,9790

ÖZGEÇMİŞ

Onur Civil, ilk, orta ve lise eğitimini Eynesil’de tamamladı. 2010 yılında Eynesil Çok Programlı Lisesi’nden mezun oldu. 2016 yılında Gaziosmanpaşa Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nden mezun oldu. 2021 yılında Giresun Üniversitesi Biyosüreç Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.

