

**ATMOSFERİK BASINÇ SOĞUK PLAZMA UYGULANAN BAZI GIDA
MADDELERİNDE MİKOTOKSİN DETOKSİFİKASYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

MİTHAT DİNÇ

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Doktora Tezi
Danışman: Prof. Dr. Murat TAŞAN
İkinci Danışman: Prof. Dr. İbrahim PALABIYIK
2025**

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ATMOSFERİK BASINÇ SOĞUK PLAZMA UYGULANAN BAZI GIDA
MADDELERİNDE MİKOTOKSİN DETOKSİFİKASYONUNUN ARAŞTIRILMASI

MİTHAT DİNÇ

ORCID: 0009-0009-2690-5856

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Murat TAŞAN

İkinci Danışman: Prof. Dr. İbrahim PALABIYIK

Nisan - 2025

Her hakkı saklıdır.

ÖZET

ATMOSFERİK BASINÇ SOĞUK PLAZMA UYGULANAN BAZI GIDA MADDELERİNDE MİKOTOKSİN DETOKSİFİKASYONUNUN ARAŞTIRILMASI

Mithat DİNÇ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Murat TAŞAN

İkinci Danışman: Prof. Dr. İbrahim PALABIYIK

Bu çalışmada, Atmosferik Basınç Soğuk Plazma (ABSP) teknolojisinin, karışık kuruyemiş, buğday ve mısır gibi gıda matrislerinde mikotoksinler üzerine etkinliği araştırılmıştır. Hedef mikotoksinler arasında Aflatoksin B₁, toplam Aflatoksinler (B₁, B₂, G₁, G₂), Okratoksin A, Zearalenon, Deoksinivalenol ve Fumonisin B₁ ve B₂ bulunmaktadır. Plazma uygulamaları, doğal olarak kontamine olmuş örnekler, spike yapılan örnekler ve standart toksin çözeltilerine 0-16 dakika arasında değişen sürelerde uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre ABSP, karışık kuruyemişlerde, buğday ve mısır örneklerinde mikotoksin seviyelerini etkili şekilde azaltmıştır. 16 dakikalık ABSP ile karışık kuruyemişlerde, toplam Aflatoksin seviyesi doğal örneklerde %22,7, spike örneklerde %72,7 oranında azalmıştır. Standart çözeltilerde toplam Aflatoksin seviyesi 2 dakikada %76,3 azalmıştır. 16 dakikalık ABSP ile buğdayda Okratoksin A seviyeleri doğal örneklerde %52, spike örneklerde %40,3 oranında azalırken, standart çözeltilerde 4 dakikada %70,3 azalma sağlanmıştır. 16 dakikalık ABSP, mısırdaki Zearalenon seviyelerini doğal örneklerde %43,1, spike örneklerde %57,9, standart çözeltilerde %74,3 oranında azaltmıştır. Deoksinivalenol seviyelerinde doğal örneklerde %27,8, spike örneklerde %29,2, standart çözeltilerde %47,0 azalma gözlemlenmiştir. Fumonisin seviyeleri doğal örneklerde %42,7, spike örneklerde %43,4, standart çözeltilerde %51,4 oranında düşmüştür. ABSP, karışık kuruyemişte rutubet içeriğini azaltırken buğday ve mısırdaki rutubeti artırmıştır. Yağ, protein, selüloz ve kül seviyelerinde belirgin bir değişiklik olmamıştır. Serbest yağ asitliği ve peroksit sayısı artış göstermiştir. ABSP uygulaması, mineraller üzerinde belirgin bir değişikliğe neden olmamıştır. Yapılan sitotoksikite testleri, plazma uygulaması sonrası parçalanma ürünlerinin toksisitesinin azaldığını göstermiştir. Bu çalışmada, plazma parametrelerinin optimize edilmesi ve güvenlik değerlendirmelerinin genişletilmesi gerekliliği vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Soğuk Plazma, Mikotoksin, Detoksifikasyon, Sitotoksikite

ABSTRACT

INVESTIGATION OF MYCOTOXIN DETOXIFICATION ON SOME FOODSTUFF BY ATMOSPHERIC PRESSURE COLD PLASMA

Mithat DİNÇ

Department of Food Engineering
PhD Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Murat TAŞAN

Co-Supervisor: Prof. Dr. İbrahim PALABIYIK

In this study, the effectiveness of Atmospheric Pressure Cold Plasma (APCP) technology on mycotoxins in food matrices such as mixed nuts, wheat, and corn was investigated. Target mycotoxins included Aflatoxin B₁, total Aflatoxins (B₁, B₂, G₁, G₂), Ochratoxin A, Zearalenone, Deoxynivalenol, and Fumonisin B1 and B2. Plasma treatments were applied for durations ranging from 0 to 16 minutes on naturally contaminated samples, spiked samples, and standard toxin solutions. The results demonstrated that APCP effectively reduced mycotoxin levels in mixed nuts, wheat, and corn samples. In 16-minute ABSP treatments of mixed nuts, the total aflatoxin level decreased by 22.7% in natural samples and by 72.7% in spiked samples. In standard solutions, the total aflatoxin level was reduced by 76.3% within 2 minutes. In wheat, 16 minutes of APCP reduced Ochratoxin A levels by 52% in natural samples and 40.3% in spiked samples, while a 4-minute treatment resulted in a 70.3% reduction in standard solutions. In corn, 16 minutes of APCP decreased Zearalenone levels by 43.1% in natural samples, 57.9% in spiked samples, and 74.3% in standard solutions. Deoxynivalenol levels dropped by 27.8% in natural samples, 29.2% in spiked samples, and 47.0% in standard solutions. Fumonisin levels were reduced by 42.7% in natural samples, 43.4% in spiked samples, and 51.4% in standard solutions. While APCP reduced moisture content in mixed nuts, it increased moisture levels in wheat and corn. No significant changes were observed in fat, protein, cellulose, and ash levels. However, an increase in free fatty acidity and peroxide value was noted. ABSP treatment did not cause any significant changes in mineral content. Cytotoxicity tests showed that the toxicity of degradation products decreased after plasma application. This study emphasized the need for optimization of plasma parameters and the expansion of safety assessments.

Keywords: Cold Plasma, Mycotoxin, Detoxification, Cytotoxicity

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
TEŞEKKÜR.....	xv
1. GİRİŞ	16
1.1 Mikotoksinler Hakkında Genel Bilgiler	17
1.1.1 Aflatoksin, Okratoksin, Zearalenon, Deoksinivalenol ve Fumonisin Toksinleri.....	18
1.1.2 Mikotoksin Detoksifikasyon Yöntemleri	21
1.2 Plazmanın Mikotoksinler ve Gıdalar Üzerine Etkileri.....	30
1.2.1 Plazma Özellikleri.....	30
1.2.2 Plazma Türleri.....	36
1.2.2.1 Dielektrik Bariyer Deşarjı (DBD).....	36
1.2.2.2 Korona Deşarjı.....	37
1.2.2.3 Mikrodalga Deşarjı (MD).....	38
1.2.2.4 Kayma Arkı Deşarjı.....	39
1.2.2.5 Plazma Jeti.....	39
1.2.3 Gıda Matrislerindeki Gıda Bileşenleriyle Soğuk Plazma Etkileşimleri.....	40
1.2.3.1 Protein / Enzim Üzerine Plazma Etkileri.....	41
1.2.3.2 Lipitler Üzerine Plazma Etkileri.....	44
1.2.3.3 Karbonhidratlar Üzerine Plazma Etkileri.....	45
1.2.3.4 Plazmaya Maruz Kalma Sırasındaki Matris Etkileşimler.....	46
1.2.3.5 Gıda Sistemlerinin Fonksiyonel Özellikleri Üzerinde Plazmanın Etkileri.....	47
1.2.4 Mikotoksinlerin Toksisitesi ve Parçalanma Ürünleri.....	51
1.2.5 ABSP'nin Mikotoksinlerin Detoksifikasyonunu Üzerine Etkisi.....	55
1.2.6 ABSP'nin Geliştirilmesi Gereken Yönleri.....	59
1.3 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı.....	60

2. MATERYAL VE YÖNTEM	62
2.1 Materyal	62
2.2 Yöntem	65
2.2.1 Atmosferik Basınç Soğuk Plazma (ABSP)	66
2.2.1.1 Karışık Kuruyemiş Örnekleri Üzerine ABSP Uygulaması	69
2.2.1.2 Buğday Örnekleri Üzerine ABSP Uygulaması	71
2.2.1.3 Mısır Örnekleri Üzerine ABSP Uygulaması	74
2.2.2. Ürünlerde Yapılan Analizler	76
2.2.2.1 Rutubet Tayini	76
2.2.2.2 Sıcaklık Kontrolü	77
2.2.2.3 Yağ Miktarı Tayini	77
2.2.2.4 Serbest Yağ Asitliği Tayini	78
2.2.2.5 Peroksit Sayısı Tayini	78
2.2.2.6 Protein Tayini	79
2.2.2.7 Selüloz Tayini	80
2.2.2.8 Kül Tayini	81
2.2.2.9 Aflatoksin Tayini	82
2.2.2.10 Okratoksin A Tayini	84
2.2.2.11 Zearalenon Analizi	86
2.2.2.12 Deoksinivalenol Analizi	88
2.2.2.13 Fumonisin B1 ve B2 Analizleri	91
2.2.2.14 Mineral Analizleri	93
2.2.2.15 Sitotoksikite Testi	95
2.2.2.16 İstatistiksel Analizler	99
3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	100
3.1 Karışık Kuruyemişte Gerçekleştirilen Analizler	100
3.1.1 AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂ ve TopAF Analiz Sonuçları	100
3.1.2 AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂ ve TopAF Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması	104
3.1.3 Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları	108
3.2 Buğday Örneklerinde Gerçekleştirilen Analizler	113
3.2.1 OTA Analiz Sonuçları	113
3.2.2 OTA Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması	115
3.2.3 Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları	118
3.3 Mısır Örneklerinde Gerçekleştirilen Analizler	123
3.3.1 ZON Analiz Sonuçları	123

3.3.2 ZON Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	125
3.3.3 DON Analiz Sonuçları.....	129
3.3.4 DON Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	131
3.3.5 FUMO B1 ve B2 Analiz Sonuçları.....	135
3.3.6 FUMO B1, B2 ve Toplam FUMO Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	140
3.3.7 Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları.....	147
3.4 Mikotoksinler Üzerine ABSP Etkilerinin Karşılaştırılması.....	154
3.5 Mikotoksin Sitotoksisite Testi (MTT)	155
3.5.1 TopAF Sitotoksisite Testi Sonuçları	156
3.5.2 OTA Sitotoksisite Testi Sonuçları.....	157
3.5.3 ZON Sitotoksisite Testi Sonuçları.....	159
3.5.4 DON Sitotoksisite Testi Sonuçları.....	159
3.5.5 FUMO B1 ve B2 Sitotoksisite Testi Sonuçları	160
3.5.6 Sitotoksisite Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	162
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	166
KAYNAKLAR	168
EK-1. Aflatoksin HPLC Kromatogram Çıktısı.....	188
EK-2. Okratoksin A HPLC Kromatogram Çıktısı.....	189
EK-3. Zearalenon HPLC Kromatogram Çıktısı.....	190
EK-4. Deoksinivalenol HPLC Kromatogram Çıktısı.....	191
EK-5. Fumonisin B1 ve B2 HPLC Kromatogram Çıktısı.....	192
EK-6. Mikotoksinler Üzerine ABSP Uygulanması Sonrası % Değişim Oranları.....	193
EK-7. Mikotoksin Degradasyonu İlgili Yürütülen Araştırmaların Özetleri	194
TEZDEN ÜRETİLMİŞ ESERLER.....	197

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Soğuk plazmada oluşan bileşenler ve oluşum reaksiyonları	32
Çizelge 2.1. Atmosferik Basınç Soğuk Plazma cihaz spesifikasyonları	68
Çizelge 2.2. Aflatoksin analizi LOQ değerleri, ölçüm belirsizliği ve geri kazanım.....	83
Çizelge 2.3. Okratoksin A analizi LOQ değerleri, ölçüm belirsizliği ve geri kazanım.....	85
Çizelge 2.4. Zearalanon analizi LOQ değerleri, ölçüm belirsizliği ve geri kazanım.....	87
Çizelge 2.5. Deoksinivalenol analizi LOQ değerleri, ölçüm belirsizliği ve geri kazanım.....	89
Çizelge 2.6. Fumonisin analizi LOQ değerleri, ölçüm belirsizliği ve geri kazanım.....	92
Çizelge 2.7. Mineral analizi LOQ değerleri, ölçüm belirsizliği ve geri kazanım.....	94
Çizelge 2.8. Sitotoksikite analizi çalışma koşulları	97
Çizelge 2.9. L-929 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi amacıyla kullanılan toksin standartları.....	99
Çizelge 3.1. ABSP uygulamasının doğal toksin içeren karışık kuruyemiş örneklerinde AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ ve AFG ₂ ile TopAF üzerine etkisi.....	100
Çizelge 3.2. ABSP uygulamasının yapay (spike) toksin içeren karışık kuruyemiş örneklerinde AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂ ve TopAF üzerine etkisi.....	101
Çizelge 3.3. ABSP uygulamasının standart toksin içeren çözeltilerde AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂ ve TopAF üzerine etkisi.....	102
Çizelge 3.4. ABSP uygulamasının doğal ve spike örneklerde AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂ ve TopAF üzerine etkisi.....	104
Çizelge 3.5. ABSP uygulamasının standart çözeltide AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂ ve TopAF üzerine etkisi.....	105
Çizelge 3.6. ABSP uygulamasının karışık kuruyemiş örneklerinde rutubet, yağ miktarı, serbest yağ asitliği, peroksit sayısı, protein, selüloz, kül üzerine etkisi.....	108
Çizelge 3.7. ABSP uygulamasının karışık kuruyemiş örneklerinde mineral analizleri (Cr, Hg, Pb, As, Mg, Fe, Cu, Zn, Cd, Sn) üzerine etkisi.....	111
Çizelge 3.8. ABSP Uygulamasının Buğday Örneklerinde OTA Üzerine Etkisi	113
Çizelge 3.9. ABSP uygulamasının doğal, spike örneklerinde ve standart çözeltide OTA üzerine etkisi.....	115
Çizelge 3.10. ABSP uygulamasının buğday örneklerinde rutubet, yağ miktarı, protein, selüloz, kül üzerine etkisi.....	118

Çizelge 3.11. ABSP uygulamasının buğday örneklerinde mineral analizleri (Cr, Hg, Pb, As, Mg, Fe, Cu, Zn, Cd, Sn) üzerine etkisi.....	120
Çizelge 3.12. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde ZON üzerine etkisi.....	123
Çizelge 3.13. ABSP uygulamasının doğal, spike örneklerinde ve standart çözeltide ZON üzerine etkisi.....	125
Çizelge 3.14. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde DON üzerine etkisi	129
Çizelge 3.15. ABSP Uygulamasının doğal, spike örneklerinde ve standart çözeltide DON üzerine etkisi.....	131
Çizelge 3.16. ABSP uygulamasının doğal toksin içeren mısır örneklerinde FUMO B1 ve B2 üzerine etkisi.....	135
Çizelge 3.17. ABSP uygulamasının yapay toksin içeren mısır örneklerinde FUMO B1 ve B2 üzerine etkisi.....	137
Çizelge 3.18. ABSP uygulamasının FUMO B1 ve B2 standart çözeltisi üzerine etkisi.....	139
Çizelge 3.19. ABSP uygulamasının doğal, spike örneklerinde ve standart çözeltide FUMO B1, FUMO B2 ve Toplam FUMO üzerine etkisi.....	141
Çizelge 3.20. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde rutubet, yağ miktarı, serbest yağ asitliği, peroksit sayısı, protein, selüloz, kül üzerine etkisi	148
Çizelge 3.21. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde mineral analizleri (Cr, Hg, Pb, As, Mg, Fe, Cu, Zn, Cd, Sn, Na, P, K, Ca) üzerine etkisi.....	150

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Gıda zincirinde mikotoksinlerin oluşumunu etkileyen faktörler	16
Şekil 1.2 Mikotoksinlerin kimyasal yapıları	20
Şekil 1.3. Atmosferik Basınç Soğuk Plazma	33
Şekil 1.4 Dielektrik Bariyer Deşarjı (DBD)	37
Şekil 1.5 Korona Deşarjı.....	38
Şekil 1.6 Mikrodalga Deşarjı (MD)	38
Şekil 1.7 Kayma Arkı Deşarjı.....	39
Şekil 1.8 Plazma Jeti	40
Şekil 1.9 Soğuk plazma ile işlemden sonra Aflatoksin B ₁ bozunma ürünleri.....	53
Şekil 1.10 Soğuk plazma ile işlemden sonra Zearalenon bozunma ürünleri	53
Şekil 1.11 Soğuk plazma ile işlemden sonra Deoksinivalenol bozunma ürünleri	54
Şekil 1.12 Soğuk plazma ile işlemden sonra Okratoksin A bozunma ürünleri	54
Şekil 1.13 ABSP'nin mikotoksinleri parçalama etkinliğini etkileyen faktörler	55
Şekil 2.1. Karışık kuruyemiş, buğday, mısır örnekleri	63
Şekil 2.2. Öğütme işlemlerinde kullanılan ekipmanlar	64
Şekil 2.3. Karışık kuruyemiş, buğday, mısır örnekleri	65
Şekil 2.4. Çalışmada kullanılan ABSP cihazı	66
Şekil 2.5. ABSP cihazının şematik görünümü	67
Şekil 2.6. Karışık kuruyemiş örneğinde soğuk plazma uygulaması.....	69
Şekil 2.7. Soğuk plazma için hazırlanan numuneler.....	70
Şekil 2.8. Soğuk plazma sonrası tüplere alınan karışık kuruyemiş numuneleri	70
Şekil 2.9. Buğday örneğinde soğuk plazma uygulaması	71
Şekil 2.10. Soğuk plazma için hazırlanan numuneler	73
Şekil 2.11. Soğuk plazma sonrası tüplere alınan buğday numuneleri	73
Şekil 2.12. Mısır örneğinde soğuk plazma uygulaması.....	74
Şekil 2.13. Soğuk plazma için hazırlanan numuneler	75

Şekil 2.14. Soğuk plazma sonrası tüplere alınan mısır numuneleri.....	76
Şekil 2.15. HPLC Cihazı, Dionex Ultimate 3000 (Aflatoksin Analizi).....	84
Şekil 2.16. HPLC Cihazı, Dionex Ultimate 3000 (Okrotoksin A Analizi)	86
Şekil 2.17. HPLC Cihazı, Dionex Ultimate 3000 (Zearalenon Analizi)	88
Şekil 2.18. HPLC Cihazı, Agilent 1100 (Deoksinivalenol Analizi)	90
Şekil 2.19. HPLC Cihazı, Dionex Ultimate 3000 (Fumonisin Analizi)	93
Şekil 2.20. Nexion 350 X ICP-MS (Mineral Analizi).....	95
Şekil 2.21. Agilent BioTek Epoch 2 Microplate Spectrophotometer.....	98
Şekil 3.1. ABSP uygulamasının Aflatoksin üzerine etkisinin karşılaştırılması.....	103
Şekil 3.2. Soğuk plazma etkisiyle doğal örnek, spike örnek ve standart örneklerdeki AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂ ve TopAF miktarlarının % değişim oranlarının karşılaştırılması.....	106
Şekil 3.3. ABSP uygulamasının karışık kuruyemişte besinsel kompozisyona etkisinin % değişim oranlarının karşılaştırılması.....	109
Şekil 3.4. ABSP uygulamasının karışık kuruyemiş örneklerinde mineral kompozisyona etkisinin karşılaştırılması.....	111
Şekil 3.5. ABSP uygulamasının buğdayda OTA üzerine etkisinin karşılaştırılması.....	114
Şekil 3.6. 4 dakika soğuk plazma etkisiyle doğal örnek, spike örnek ve standart örneklerdeki OTA miktarlarının % değişim oranlarının karşılaştırılması.....	116
Şekil 3.7. ABSP uygulamasının buğdayda besinsel kompozisyona etkisinin % değişim oranlarının karşılaştırılması.....	119
Şekil 3.8. ABSP uygulamasının buğday örneklerinde mineral kompozisyona etkisinin karşılaştırılması.....	121
Şekil 3.9. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde ZON üzerine etkisinin karşılaştırılması.....	124
Şekil 3.10. 4 ve 8 dakika soğuk plazma etkisiyle doğal örnek, spike örnek ve standart örneklerdeki Zearalenon miktarlarının % değişim oranlarının karşılaştırılması.....	127
Şekil 3.11. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde DON üzerine etkisinin karşılaştırılması.....	130
Şekil 3.12. 4 ve 8 dakika soğuk plazma etkisiyle doğal örnek, spike örnek ve standart örneklerdeki DON miktarlarının % değişim oranlarının karşılaştırılması.....	132
Şekil 3.13. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde doğal olarak bulunan Fumonisin üzerine etkisinin karşılaştırılması.....	136

Şekil 3.14. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde yapay Fumonisin üzerine etkisinin karşılaştırılması.....	138
Şekil 3.15. ABSP uygulamasının std çözeltide Fumonisin üzerine etkisinin karşılaştırılması.....	140
Şekil 3.16. 4 ve 8 dakika soğuk plazma etkisiyle doğal örnek, spike örnek ve standart örneklerdeki FUMO B1 miktarlarının % değişim oranlarının karşılaştırılması.....	142
Şekil 3.17. 4 ve 8 dakika soğuk plazma etkisiyle doğal örnek, spike örnek ve standart örneklerdeki FUMO B2 miktarlarının % değişim oranlarının karşılaştırılması.....	144
Şekil 3.18. 4 ve 8 dakikalık ABSP uygulamasının doğal, spike ve standart örneklerdeki Toplam FUMO miktarlarının % değişim oranlarını karşılaştırmaktadır.....	145
Şekil 3.19. ABSP uygulamasının mısırdaki besinsel kompozisyona etkisinin % değişim oranlarının karşılaştırılması.....	159
Şekil 3.20. ABSP uygulamasının mısırdaki mineral kompozisyona etkisinin karşılaştırılması.....	152
Şekil 3.21. TopAF standardının ve soğuk plazma uygulanmış TopAF standart çözeltisinin L-929 hücrelerinde 24 saat inkübasyon sonucu sitotoksik etkisi.....	156
Şekil 3.22. OTA standardının ve soğuk plazma uygulanmış OTA standart çözeltisinin L-929 hücrelerinde 24 saat inkübasyon sonucu sitotoksik etkisi.....	157
Şekil 3.23. ZON standardının ve soğuk plazma uygulanmış ZON standart çözeltisinin L-929 hücrelerinde 24 saat inkübasyon sonucu sitotoksik etkisi.....	159
Şekil 3.24. DON standardının ve soğuk plazma uygulanmış DON standart çözeltisinin L-929 hücrelerinde 24 saat inkübasyon sonucu sitotoksik etkisi.....	160
Şekil 3.25. Toplam FUMO (B1+B2) std ve soğuk plazma uygulanmış Toplam FUMO (B1+B2) standart çözeltisinin L-929 hücrelerinde 24 saat inkübasyon sonucu sitotoksik etkisi.....	161

SİMGELER DİZİNİ

>	Büyüktür
dk	Dakika
rpm	Dakikadaki dönme sayısı
IC50	Enzim aktivitesini yarıya düşüren inhibitör konsantrasyonu
g	Gram
kg	Kilogram
kHz	Kilohertz
<	Küçüktür
L	Litre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
meq	Miliekivalan
mg	Miligram
ml	Mililitre
ppb	Milyarda bir (part per billion) µg/kg
ppm	Milyonda bir (part per million) mg/kg
°C	Santigrat Derece
W	Watt
%	Yüzde

KISALTMALAR DİZİNİ

ABSP	Atmosferik Basınç Soğuk Plazma
AFB ₁	Aflatoksin B ₁
AFB ₂	Aflatoksin B ₂
AFG ₁	Aflatoksin G ₁
AFG ₂	Aflatoksin G ₂
AOAC	Resmî Analitik Kimyagerler Derneği
DBD	Dielektrik Bariyer Deşarjı
DON	Deoksinivalenol
EN	Avrupa Standardı
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
FUMO	Fumonisin
HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
ICP-MS	İndüktif Eşleşmeli Plazma-Kütle Spektrometresi
ISO	Uluslararası Standardizasyon Örgütü
LOD	Tespit Limiti
LOQ	Kantitatif Belirleme Sınırı
MTT	3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NASA	Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesi
OTA	Okratoksin A
PS	Peroksit Sayısı
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SYA	Serbest Yağ Asitliği
TopAF	Toplam Aflatoksin
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
TS	Türk Standardı
UV	Ultraviyole
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ZON	Zearalenon

TEŞEKKÜR

Doktora tezimin hazırlanmasında bilgisi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren ve katkılarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Murat TAŞAN'a ve Prof. Dr. İbrahim PALABIYIK'a, tez çalışmam sırasında desteğini esirgemeyen Gülnihal DOĞANAY'a, Selman GÜLER'e ve İpek GÜRKEBABÇI'ya, desteği ve sevgisiyle her zaman yanımda olan değerli eşim Fatma ÇELİK DİNÇ'e teşekkür ederim.

Mithat DİNÇ

Gıda Yüksek Mühendisi



1. GİRİŞ

Mikotoksinler, gıda ve yemlerde yaygın olarak bulunan, mikroorganizmalar tarafından üretildiği bilinen toksik metabolitlerdir. Bu toksik bileşikler, insan sağlığı üzerinde ciddi etkiler oluşturabilir ve doğrudan veya dolaylı yollardan insan metabolizmasına zarar verebilir. Mikotoksinlerin tüketimi sonucunda; kanser, immünosüresyon (bağışıklık sistemi baskılanması), mutasyonlar, karaciğer hastalıkları, hormonal bozukluklar ve çeşitli diğer rahatsızlıklar görülmektedir.

Dünya genelinde gıda maddelerinde rastlanabilecek en önemli mikotoksinler aflatoksinler, okratoksinler, zearalenonlar, trikotekenler, fumonisinler ve patulin olarak sıralanabilir. Mikotoksinlerin zararlı etkileri, hem ekonomik kayıplara hem de halk sağlığı risklerinin artmasına neden olmaktadır. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nın verilerine göre, dünya genelinde hububat ürünlerinin yaklaşık %25'i mikotoksin kontaminasyonuna maruz kalmaktadır. Bu durum, sadece gıda zincirini etkilemekle kalmayıp aynı zamanda tarım ve hayvancılık gibi önemli ekonomik faaliyetlere de zarar vermektedir.

Hububat, dünya çapında temel beslenme kaynaklarından biri olarak kabul edilir ve buğday, arpa, mısır, pirinç gibi ürünlerin hem insan beslenmesinde hem de hayvan yemi olarak önemi oldukça büyüktür. Bununla birlikte, bu ürünler, tüm hasat ve depolama süreçlerinde *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* gibi toksin üreten küf türlerine maruz kalabilirler. Bu küfler tarafından üretilen mikotoksinler, hem ürün kalitesini hem de güvenliğini olumsuz etkileyerek önemli kayıplara yol açmaktadır [1]. Mikotoksinler yemlerle hayvanlara ve besin zinciri ile de son tüketici olan insanlara ulaşırlar (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Gıda zincirinde mikotoksinlerin oluşumunu etkileyen faktörler

Mikotoksinlerin gıdalardaki varlığını ortadan kaldırmak veya etkisini azaltmak çeşitli geleneksel ve modern yöntemlerle mümkün hale gelmiştir. Konvansiyonel yöntemler (kimyasal, fiziksel ve biyolojik işlemler) belirli ölçülerde etkili olmakla birlikte genellikle ürünlerin besin değerini düşürmekte, toksik kalıntılar bırakabilmekte ve maliyet açısından çok verimli olmayabilmektedir. Bu nedenle, mikotoksinleri etkisiz hale getirmek için daha etkin, çevre dostu ve ekonomik yöntemlere olan ihtiyaç giderek artmıştır.

Günümüzde soğuk plazma teknolojisi, yenilikçi bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Soğuk plazma; iyonize gazlar, radikaller, elektronlar ve UV fotonları gibi birçok aktif bileşenin bir arada bulunduğu bir ortam oluşturarak, gıdalardaki zararlı mikroorganizmaların ve toksinlerin etkisiz hale getirilmesinde çevre dostu bir alternatif sunmaktadır. Düşük sıcaklıkta çalışması sayesinde, gıdaların yapısal ve besin özelliklerini bozmadan mikrobiyal kontaminasyonu ve toksinleri etkili bir şekilde azaltabilmektedir [2].

Son yıllarda yapılan çalışmalar, soğuk plazmanın aflatoksin, okratoksin ve zearalenon gibi çeşitli mikotoksinlerin detoksifikasyonunda etkili olduğunu göstermiştir. Plazmanın aktif bileşenleri, toksinlerin kimyasal yapılarını bozarak toksisitelerini azaltmakta ve bunun sonucunda daha güvenli gıdalar elde edilmesini sağlamaktadır. Bununla birlikte, teknolojinin endüstriyel ölçekte uygulanabilirliği, maliyet etkinliği ve uzun vadeli etkileri üzerine yapılacak daha fazla araştırma önemini korumaktadır [3].

Bu çalışma, soğuk plazma teknolojisinin mikotoksinlerin indirgenmesindeki potansiyelini ortaya koymayı amaçlamaktadır. Literatürdeki güncel bulguların ışığında, teknolojinin uygulama mekanizmaları, avantajları ve sınırlılıkları detaylı bir şekilde ele alınmıştır. Mikotoksinlerin detoksifikasyonu ve soğuk plazmanın bu süreçteki rolü, insan sağlığı ve gıda güvenliği açısından kritik bir öneme sahiptir.

1.1. Mikotoksinler Hakkında Genel Bilgiler

Tarımsal ürünler, hasat sonrası işleme ve depolama aşamalarında ortam koşulları, bileşimleri ve su içeriklerine bağlı olarak çeşitli küflerle kontamine olabilir. Bu süreçte küflerin gelişimiyle birlikte, misellerinde ürettikleri ve bulundukları ürüne salgıladıkları toksik metabolitler hem insan hem de hayvan sağlığını tehdit etmektedir. Bu durum yalnızca ekonomik bir sorun oluşturmakla kalmayıp aynı zamanda ciddi sağlık riskleri taşır. Bu zararlı metabolitler "mikotoksin" olarak adlandırılmaktadır [4, 5].

Mikotoksin kontaminasyonunu önlemek, zorlukları nedeniyle gıda endüstrisi için karmaşık bir süreçtir. Ayrıca, geleneksel mikotoksin uzaklaştırma yöntemlerinin verimsizliği bu durumu daha da zorlaştırmaktadır. Son yıllarda, mikotoksinlerin parçalanması ve mikotoksin üreten küflerin inaktivasyonu için etkili bir yöntem olarak soğuk plazma önerilmektedir. Soğuk plazmanın etkinliğini inceleyen mevcut çalışmalar, mikotoksinlerin indirgenmesi konusunda umut vaat etmektedir. Bununla birlikte, bu teknolojinin mekanizmaları, avantajları, dezavantajları ve endüstriyel uygulama potansiyelleri hala araştırılmaktadır. Ayrıca, mikotoksin içermeyen ürünlerin üretimi için bu teknolojinin gıda bileşenleri üzerindeki etkileri ve ileri proses optimizasyonunun değerlendirilmesi gerekmektedir. Teknolojinin endüstriyel kullanıma adaptasyonu için ekonomik analizlerin yapılması ve karşılaşılan zorlukların aşılması önemlidir [6].

Mikotoksinler, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. ve *Fusarium* spp. gibi çeşitli fungus türleri tarafından üretilir. Bu maddeler, düşük molekül ağırlıklı, termal olarak stabil, oldukça toksik ve karsinojenik ikincil metabolitlerdir. İnsan ve hayvan sağlığı üzerinde ciddi olumsuz etkileri bulunan mikotoksinler, aynı zamanda büyük ekonomik kayıplara yol açarak uluslararası düzeyde gıda güvenliği açısından önemli bir sorun teşkil etmektedir. Bu nedenle, gıda ve yemlerde mikotoksinleri azaltacak ya da tamamen ortadan kaldıracak, güvenli ve besinsel kaliteyi etkilemeyen yöntemlere acil ihtiyaç vardır.

Gıda endüstrisi, mikotoksinlerin giderilmesi için genellikle termal olmayan fiziksel teknolojilere yönelmektedir. Konvansiyonel termal uygulamalara kıyasla, termal olmayan detoksifikasyon yöntemleri daha kolay uygulanabilir, daha etkili ve tarımsal ürünlerin besinsel değerine çok az zarar verir. Bu yeni detoksifikasyon teknolojilerinin avantajları, sınırlamaları ve gelecekteki potansiyeli üzerine yapılan çalışmalar artmaktadır. İlerleyen dönemlerde, her bir detoksifikasyon teknolojisinin uygulama koşullarının standartlaştırılması, oluşan degradasyon ürünlerinin güvenliğinin değerlendirilmesi ve sinerjik etkilerin artırılması amacıyla farklı teknolojilerin birleştirilmesi önerilmektedir [7].

1.1.1. Aflatoksin, Okratoksin, Zearalenon, Deoksinivalenol ve Fumonisin Toksinleri

Aflatoksinler, başlıca *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* türlerinin bazı suşları tarafından üretilen ikincil metabolitlerdir. Bunun yanı sıra, *Aspergillus nomius* ve *Aspergillus tamarii* gibi diğer türler de aflatoksin üretme kapasitesine sahiptir [8, 9, 10]. Aflatoksinler, ultraviyole ışık altında mavi floresans gösteren AFB₁ ve AFB₂ ile yeşil floresans

yayan AFG₁ ve AFG₂ olmak üzere dört ana gruba ayrılır. Bu gruplar arasında AFB₁, en toksik olanı olarak öne çıkmaktadır. Aflatoksinler, mısır, yer fıstığı, ceviz, Brezilya fıstığı, keten tohumu ve karbonhidrat bakımından zengin diğer gıda maddelerinde sıklıkla bulunmaktadır. Bu toksinlerle kontaminasyon, ekimden tüketime kadar her aşamada meydana gelebilir [11, 12]. İnsanlar, bu toksinlere doğrudan maruz kalabildiği gibi, kontamine yemlerle beslenen hayvanlardan elde edilen ürünler yoluyla dolaylı olarak da etkilenebilir. Aflatoksinlerin, tüm canlılarda karsinojenik, teratojenik ve mutajenik etkiler gösterdiği bilinmektedir. Bu toksinler, DNA, RNA ve protein sentezini engelleyerek metabolik süreçlerde ciddi bozukluklara yol açmaktadır. Özellikle AFB₁, Uluslararası Kansere Araştırma Ajansı (IARC) tarafından Grup I karsinojen olarak sınıflandırılmıştır [8, 13, 14].

Okratoksinler, *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri tarafından üretilen mikotoksinlerdir. Bunlar arasında en yaygın olanı, Okratoksin A'dır (OTA). OTA; arpa, mısır, buğday, çavdar, yulaf, fasulye, incir, kuru üzüm, zeytin, kahve tohumu ve baharatlar gibi birçok gıdada bulunabilir. Ayrıca bira gibi fermantasyon ürünlerinde de rastlanmaktadır [8, 15]. OTA kontaminasyonu genellikle ılıman iklim koşulları ve uygun olmayan depolama süreçleriyle ilişkilidir. Toksin üretimi, sıcaklık, rutubet ve substrat özelliklerine bağlıdır. OTA, insan sütünde de bulunabilmektedir, bu da emziren annelerin kontamine gıdalardan toksin alabileceğini göstermektedir [16].

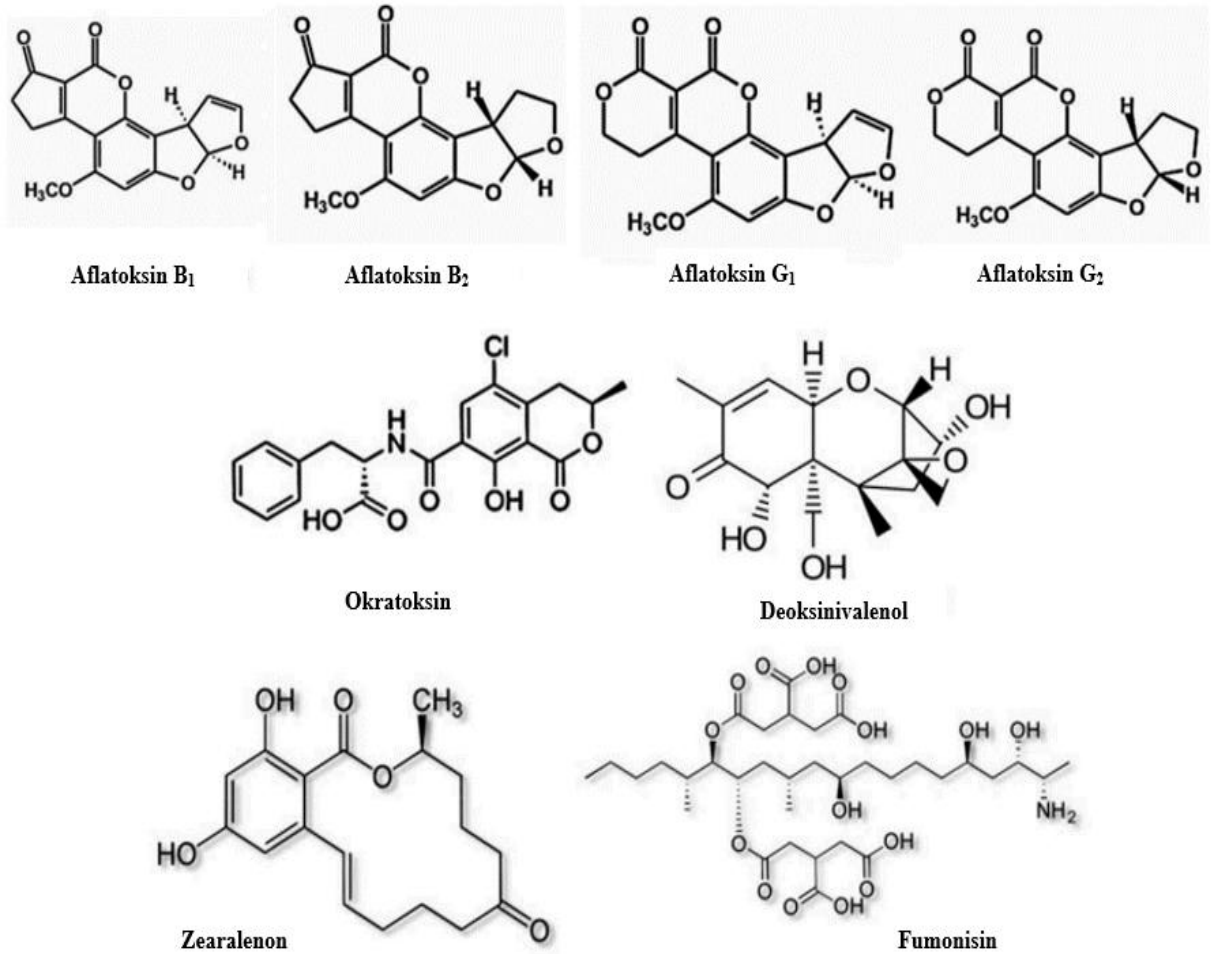
Zearalenon (ZON), *Fusarium* türleri tarafından üretilen ve östrojenik yapıya sahip bir mikotoksindir. ZON mısır, arpa, yulaf ve buğday gibi tahıllarda yaygın olarak bulunur. Bu toksin, düşük akut toksisiteye sahip olmakla birlikte, hayvanlarda belirgin östrojenik ve anabolik etkiler göstermektedir. İnsanlarda ise östrojenik reseptörlerle etkileşimi nedeniyle potansiyel sağlık riskleri bulunmaktadır. ZON'un karsinojenik etkileri hakkında çelişkili veriler bulunmakta olup bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır [17, 18].

Trikotesenler, *Fusarium*, *Trichoderma* ve *Stachybotris* gibi mantar türleri tarafından üretilen seskiterpenoit yapısındaki mikotoksinlerdir. Tarım ürünlerinde en yaygın olanları T-2 toksini, Deoksinivalenol (DON) ve Nivalenoldür (NIV). Trikoteseenler, tahıllarda sıkça bulunmakta ve cilt yanıkları, kaşıntı, kusma, gastroenterik nekroz gibi toksik etkiler göstermektedir. Bu toksinler, düşük sıcaklıklarda oluşmakla birlikte uygun koşullarda yüksek sıcaklıklarda da üretilir. İnsan sağlığı ve ekonomi üzerinde ciddi tehditler oluşturmaya devam etmektedir [19, 20].

Fumonisinler, özellikle *Fusarium moniliforme* tarafından üretilen mikotoksinlerdir. Bu toksinler, mısır gibi tahıllarda sıkça bulunur ve nörotoksisite, hepatotoksisite, nefrotoksisite gibi çeşitli sağlık sorunlarına yol açar. Fumonisinler, normal yiyecek hazırlama işlemlerine dayanıklı yapıları nedeniyle gıda güvenliği açısından ciddi bir sorun teşkil etmektedir. Kontaminasyonu azaltmak için öğütme ve kimyasal işlemler gibi yöntemler kullanılabilmektedir [14, 19, 21, 22].

Son olarak, mikotoksinlerle kontamine olmuş gıdaların tüketimi sonucu ortaya çıkan sağlık sorunlarına "mikotoksikozis" adı verilir. Mikotoksikozis; kanser, embriyonal hasar, sinir sistemi bozuklukları, karaciğer ve böbrek hasarları gibi çeşitli sorunlara yol açabilir. Bu durum, dünya genelinde hem sağlık hem de ekonomik açıdan önemli bir problem olarak varlığını sürdürmektedir [23].

Tez kapsamında çalışılan Aflatoksin, Okratoksin, Zearalenon, Deoksinivalenol ve Fumonisin toksinlerinin kimyasal yapıları Şekil 1.2’de sunulmuştur.



Şekil 1.2 Mikotoksinlerin kimyasal yapıları [24]

1.1.2. Mikotoksin Detoksifikasyon Yöntemleri

Mikotoksinlerin zararlı etkilerini azaltmak, oluşumlarını engellemek veya mevcut mikotoksinleri yok etmek amacıyla farklı teknikler kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında kontamine gıdaların ortamdaki çıkarılması, ısıtma işlemleri, çöktürme yöntemleri, ozon uygulamaları, radyasyon teknolojileri, katkı maddelerinin kullanımı ve biyolojik yöntemler bulunmaktadır. Ancak, bu yaklaşımların her biri belirli düzeylerde etkili olsa da, yeterli dekontaminasyon seviyesine ulaşamama, gıdalarda besin kaybına yol açma, kalıntı bırakma, yüksek maliyet gerektirme ve toksik yan ürünlerin oluşmasına neden olma gibi önemli dezavantajları bulunmaktadır. Bu nedenlerle, işlem verimliliğini artırmak, uygulama süresini kısaltmak ve toksik etkileri azaltmak için daha etkili ve ekonomik yeni tekniklerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır [25].

Günümüzde kullanılan yöntemlerin çoğu, laboratuvar ölçekli, yüksek maliyetli ekipmanlara dayanmaktadır ve endüstriyel ölçekte uygulanabilirlikleri sınırlıdır. Özellikle ürün depolama sırasında kayıplara neden olan küflerin inaktivasyonu için yenilikçi tekniklerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bunun en verimli yolu, aflatoksin oluşumunu ürünlerin ekiminden itibaren engellemektir. Birçok ülkede, aflatoksin detoksifikasyonu uygulanmış ürünlerin tüketimi yasaklanmış olup, bu tür işlemler ek maliyetler gerektirmektedir. Ayrıca, tüketici eğilimi daha az işlem görmüş ürünlere yönelik olduğundan, dekontaminasyon sürecinde kullanılacak yöntemlerin etkili ve güvenilir olması birincil öneme sahiptir.

Son dönemlerde, ürünlerin besinsel değerini ve dokusal özelliklerini etkilemeyen, termal olmayan yöntemlere dayalı yenilikçi teknolojik yaklaşımlar öne çıkmıştır. Bu yöntemler arasında en dikkat çeken, zararlı materyallerin inaktivasyonu veya dekontaminasyonu için kullanılan plazma uygulamalarıdır. Bu teknolojinin güvenilirliğini kanıtlayan önemli bir örnek, Ulusal Havacılık ve Uzay Dairesinin (NASA) uzay araştırmalarında sterilizasyon amacıyla plazma destekli sistemler kullanmasıdır [26].

Gıda kalitesini korumak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılan yöntemler arasında ısıtma, dondurma, hidrostatik basınç ve termal olmayan teknolojiler bulunmaktadır [27]. Özellikle, yüksek kaliteli, güvenli ve hijyenik taze gıda ürünlerine olan talebin artması, darbeli ultraviyole teknolojisi, ultrasonikasyon, ışınlama, yüksek hidrostatik basınç, süperkritik teknoloji, darbeli elektrik alanı, soğuk plazma teknolojisi, biyokoruyucular ve aktif paketlenme gibi termal olmayan yöntemlerin araştırılmasına olan ilgiyi artırmıştır [28, 29]. Ancak, gıda

ürünlerinin kalitesini, duyuusal indekslerini ve besin özelliklerini minimum düzeyde etkileyen yöntemlerin tercih edilmesi gerekmektedir [30]. Bu noktada, termal olmayan yöntemlerden biri olan atmosferik basınçlı plazma, farklı gazların uygulanmasında yüksek verimi, düşük maliyeti, geniş mikroorganizma spektrumuna etkili olması ve kullanım kolaylığı gibi avantajlarıyla öne çıkmaktadır [31, 32].

Soğuk plazma teknolojisi, antimikrobiyal amaçlarla kullanılabilen ve gıda bozulmasını önlemeyi hedefleyen termal olmayan bir yöntemdir [33, 27]. Fizik bilimlerinde plazma, gaz, sıvı ve katıdan sonra maddenin dördüncü hali olarak bilinmektedir. Plazma; yüklü parçacıklar, elektronlar, pozitif iyonlar, reaktif oksijen ve nitrojen türleri, uyarılmış moleküller ve ultraviyole radyasyon gibi mikroorganizmaları etkisiz hale getiren bileşenlerden oluşur [34, 35, 36].

Mikotoksinlerin azaltılması için kullanılan konvansiyonel stratejiler, önleme ve dekontaminasyonu kapsamaktadır. Ancak gıda ürünlerinde tam aflatoksin degradasyonunu sağlamak için konvansiyonel termal yöntemler yetersiz kalmaktadır. Bu bağlamda, son zamanlarda mikrodalga ısıtma, gama radyasyonu, ultrason, elektrolize su ve soğuk plazma gibi yeni teknolojiler araştırılmış ve etkileri değerlendirilmiştir [37]. Özellikle, soğuk plazma yöntemi farklı substratlarda aflatoksinlerin tamamen parçalanmasını sağlayabilmektedir. Bununla birlikte, bu yöntemlerin gıda ürünleri üzerindeki uygulamaları, toksik yan ürünlerin güvenilirliği ve gıda bileşenleriyle etkileşimleri açısından ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır [38].

Aflatoksin, Okratoksin, Fumonisin, Deoksinivalenol ve Zearalenon gibi mikotoksinler, gıda güvenliği ve kalitesi için önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Bu bağlamda, HACCP prosedürleri gibi önleme yöntemleri mikotoksin kontaminasyonunu azaltmak için faydalı olabilir. Bunun yanı sıra, kimyasal, biyolojik ve fiziksel detoksifikasyon yöntemleri kontamine olmuş ürünler için çözüm sunmaktadır [39]. Ancak artan küf direnci ve konvansiyonel sistemlerde karşılaşılan zorluklar, kısa işlem süreleri ve kaliteyi koruyan yenilikçi stratejilerin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Soğuk atmosferik plazma, bu yenilikçi yaklaşımlardan biri olarak gıda endüstrisinde umut verici bir alternatif sunmaktadır [40, 41].

Deoksinivalenol (DON), en yaygın ve toksikolojik açıdan en tehlikeli mikotoksinlerden biridir. Soğuk atmosferik plazma uygulamaları, DON üzerinde dikkate değer parçalama etkisi

göstermiştir; ancak, bu plazma türlerinin etki mekanizması halen tam olarak anlaşılamamıştır [42].

Aflatoksinler, gıda güvenliği ve toplum sağlığı açısından önemli bir risk teşkil etmektedir. Tarladan sofraya kadar tüm süreçlerde gıdaları kontamine edebilir ve tüketildiğinde immünotoksik, karsinojenik ve mutajenik etkiler gibi geri dönüşü olmayan olumsuz sonuçlara yol açabilir. Bu nedenle, aflatoksinlerin dekontaminasyonu için yeni teknolojilerin geliştirilmesi gıda sanayisi açısından büyük önem taşımaktadır. Soğuk plazma, yeni ortaya çıkan termal olmayan bir teknoloji olarak çevre dostu yapısı, yüksek etkinliği ve düşük maliyetiyle dikkat çekmektedir. Mikroorganizmaların ve mikotoksinlerin inaktivasyonunda etkili olan soğuk plazma, konvansiyonel fiziksel, kimyasal ve biyolojik uygulamalara göre üstünlük sağlamaktadır. Bununla birlikte, soğuk plazma uygulamalarının sınırlamaları ve karşılaşılan zorluklar tartışılmaya devam etmektedir [43].

Mikotoksinler, dünya genelinde gıda ve yem ürünlerinin %80'inde bulunan küfler tarafından üretilen ikincil toksik metabolitlerdir. Hojnik ve arkadaşları [44], yapay olarak AFB₁ ile kontamine edilen mısır tanelerinde, doğrudan olmayan soğuk atmosferik basınç plazma uygulamasıyla aflatoksinin uzaklaştırıldığını rapor etmiştir.

Hasat sonrası dönemde hububat tanelerinde görülen böcek zararlıları ve fungal patojenlerin azaltılması amacıyla çeşitli kimyasal ve fiziksel stratejiler uygulanmaktadır. Ancak, bu yöntemler genellikle taneler üzerinde zararlı kimyasal kalıntılar bırakır ve besinsel içerikte değişikliklere yol açabilir. Kaur ve arkadaşları [45], soğuk plazma ile yapılan çalışmalarda, biyolojik kontaminantların dekontaminasyonunda bu teknolojinin etkili olduğunu vurgulamıştır. Reaktif oksijen, azot türleri, serbest radikaller ve iyonize gaz içeren soğuk plazma, mikroorganizmalara öldürücü etki yaparak gıda yüzeyini dekontamine eder ve raf ömrünü uzatır. Pirinç, buğday, mısır, arpa ve yulaf gibi hububatlar üzerinde yapılan çalışmalar, soğuk plazmanın küf, bakteri ve sporları azalttığını göstermektedir. Ayrıca, soğuk plazmanın mikotoksinleri detoksifiye etme ve böcek zararlılarını kontrol etme potansiyeli olduğu belirtilmiştir. Bu bağlamda, birçok çalışma soğuk plazmanın hasat sonrası depolama süreçlerinde küf, mikotoksin ve zararlı böceklerin kontrolü için umut verici bir yöntem olduğunu ortaya koymuştur [45].

Soğuk plazma, gıda güvenliğini sağlamak ve ürünlerin raf ömrünü uzatmak amacıyla etkili bir çözüm olarak dikkat çekmektedir. Misra ve arkadaşları [46], küfler ve mikotoksinler

üzerinde soğuk plazmanın etkisini, temel mekanizmalarını ve gıda güvenliği ile kalitesini sağlama yollarını açıklamıştır. Soğuk plazma, hücre fonksiyonlarını ve yapısını kayba uğratarak hücre ölümüne neden olurken, mikotoksinleri kimyasal olarak parçalayarak daha az toksik olduğu bilinen degradasyon ürünleri ortaya çıkarır.

Okratoksin A (OTA), *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin ürettiği toksik ve kansere neden olabilen bir mikotoksindir. Soğuk plazma uygulamaları, kahvede toksin üreten mikroorganizmaların inhibe edilmesinde önemli bir alternatif olarak kullanılmaktadır. Kavrulmuş kahve örneklerinde yapılan bir çalışmada, helium gazı kullanılarak 30 W giriş gücü ve 850 V çıkış voltajıyla soğuk plazma uygulanmış ve 6 dakikada küflerin tamamen inhibe olduğu, 30 dakikada ise OTA miktarının %50 oranında azaldığı rapor edilmiştir. Tuzlu su karidesleri kullanılarak yapılan toksisite analizlerinde, soğuk plazma uygulanmamış kahvelerin toksik etkiler gösterdiği, ancak soğuk plazma ile işlem görmüş kahvelerin toksisite seviyesinin azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlar, mikotoksinlerin degradasyonunda soğuk plazmanın alternatif bir yöntem olarak kullanılabileceğini göstermektedir [47].

Darı (*Pennisetum glaucum*) örneklerine ABSP uygulanmış ve bu uygulamanın fiziksel, besleyici ve hidrasyon özellikleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Besleyici özelliklerde, örneğin ham yağ oranında artış gözlemlenirken protein ve rutubet miktarında azalma tespit edilmiştir. Ayrıca, hidrasyon özellikleri, voltaj ve maruz kalma süresiyle doğru orantılı olarak artış göstermiştir [48].

Soğuk plazmanın DON üzerindeki etkileri de detaylı şekilde incelenmiştir. 50 kV ve 8 dakika süreyle hava atmosferinde buğday numunelerinde yapılan uygulamalarda, DON'un %83,99 oranında parçalandığı bulunmuştur. LC/TOF-MS kullanılarak yapılan analizlerde, DON'un toksik epoxy grubu ve hidroksil gruplarının parçalandığı, toplamda 4 molekül ve 7 olası degradasyon ürünü oluştuğu tespit edilmiştir. Ayrıca, soğuk plazmanın buğday numunelerindeki DON üzerinde önemli bir etkisi olduğu ve gıda kalitesini minimum düzeyde etkilediği rapor edilmiştir [49].

ABSP teknolojisi, mikotoksinlerin azaltılmasında hasat sonrası uygulamalarda kullanılan yeni bir termal olmayan yöntem olarak büyük potansiyele sahiptir. DON, özellikle hububat tanelerinde sıkça rastlanan bir mikotoksindir ve hem insan sağlığı hem de tarım ekonomisi için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Yapılan bir çalışmada, ABSP uygulamalarının DON üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. DON çözeltisine (20 µg/ml ACN/su (20/80, v/v))

5 dakika süreyle ABSP uygulandığında, %100 degradasyon sağlanmıştır. Kuru koşullarda (saf toz formunda veya tahıl gibi katı bir yüzey üzerinde bulunması) ise bu oran, 60 dakikada %75,9 olarak tespit edilmiştir. Uygulama sonrası DON'un yapısal değişiklikleri TLC (Thin Layer Chromatography – İnce Tabaka Kromatografisi) ve FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy – Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) analizleriyle belirlenmiştir. Çözelti formunda ABSP uygulamasıyla DON'un fonksiyonel gruplarında önemli değişiklikler gözlemlenmiştir. Ayrıca, ABSP'nin 80°C'de ısı uygulaması ve LED teknolojisiyle birleştirildiği ardışık uygulamalar test edilmiştir. 30 dakikalık ABSP uygulaması %63 oranında DON'u azaltırken, 30 dakika ABSP ve 25 dakika ısı uygulaması bu oranı %64,6'ya çıkarmıştır. LED uygulamaları ise 30 ve 60 dakika süreyle DON konsantrasyonunu sırasıyla %10,7 ve %36,7 oranında azaltmıştır. Ardışık 30 dakika ABSP ve 30 dakika LED uygulaması DON konsantrasyonunu %68,8 oranında azaltmıştır. Bu çalışma, ABSP'nin DON parçalama potansiyeline sahip etkili bir yöntem olduğunu göstermiştir [50].

Fusarium başak yanıklığı hastalığının erken evrelerinde DON üretilmektedir. Bu toksin, yalnızca buğdayın kalite ve güvenliğini etkilemekle kalmaz, aynı zamanda ciddi sağlık sorunlarına da neden olur. DON'un yüksek stabilitesi, üretildikten sonra eliminasyonunu veya azaltılmasını oldukça zorlaştırmaktadır. Soğuk plazma teknolojisi, mikrobiyal inaktivasyon ve mikotoksin degradasyonu için yaygın olarak kullanılan bir termal olmayan prosestir. Bir çalışmada, çözeltide ve buğdayda bulunan DON üzerine dielektrik bariyer deşarjlı (DBD) soğuk plazmanın degradasyon etkisi incelenmiştir. DON'un degradasyon ürünlerinin yapısı ve mekanizması açıklığa kavuşturulmuş, DBD plazmanın buğday kalitesi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. DON çözeltisinde (0,5-5 ppm) yapılan uygulamalarda, optimum koşullar altında (100 V voltaj, 200 Hz frekans) 25 dakikada %98,94 degradasyon oranı elde edilmiştir. Ayrıca, UPLC-TOF-MS/MS cihazı ile 10 degradasyon ürünü (C₁₅H₂₄O₅, C₁₅H₂₂O₆, C₁₅H₂₂O₉, C₁₆H₂₂O₇, C₁₅H₂₀O₇, C₁₅H₂₀O₉, C₁₅H₁₈O₈, C₁₅H₂₂O₅, C₁₆H₂₄O₅ ve C₁₅H₁₈O₉) tanımlanmıştır. DON'un degradasyon mekanizması, bu ürünlerin kimyasal yapıları ve kütleleri temel alınarak ortaya konulmuştur. Buğdayda 15 dakikalık uygulama sonrası DON'un %61 oranında azaldığı ve bu işlem sırasında rutubet, protein ve nişasta gibi parametrelerin minimum düzeyde etkilendiği gözlemlenmiştir [51].

Zearalenone (ZON), hububatları kontamine eden önemli bir mikotoksindir. ABSP, ZON'un degradasyonunda potansiyel bir termal olmayan yöntem olarak değerlendirilmiştir. Bir çalışmada, 30 saniyelik DBD ABSP uygulaması, çözelti formunda ZON'u %100, kuru

koşullarda (saf toz formunda veya tahıl gibi katı bir yüzey üzerinde bulunması durumunda) ise %66,8 oranında degrade etmiştir. ZON degradasyon oranı, substrata bağlı olarak farklılık göstermiştir. Örneğin, kanola tohumunda %91,6, kanola ürününde %83,2 ve arpa tohumunda %64,8 oranında degradasyon sağlanmıştır. 30 dakika boyunca LED ışık darbeleri (395 nm) ve 80°C termal uygulama, ABSP ile sinerjik bir etki göstermemiştir. Kullanılan gaz karışımları arasında en yüksek degradasyon oranı, %85 argon + %15 oksijen gaz karışımı ile elde edilmiştir [52].

Fusarium ve Alternaria toksinleri, buğday ve buğday ürünlerinde yaygın olarak bulunan mikotoksinlerdir. Alternaria toksinlerinin (AOH, AME ve TEN) azaltılması amacıyla soğuk plazma uygulamaları incelenmiştir. 30 saniyeden 180 saniyeye kadar süren uygulamalar sırasında, toksin seviyelerinde maksimum azalma, 6 mm mesafede ve 180 saniyelik uygulama sonunda sırasıyla %60,6, %73,8 ve %54,5 olarak tespit edilmiştir [53].

Fusarium türleri, dünya genelinde bitki patojenleri arasında en yıkıcı olanlardan biridir. Bu türler yalnızca mahsul kayıplarına neden olmakla kalmaz, aynı zamanda ürettikleri mikotoksinlerle insan ve hayvan sağlığını tehdit eder. Bir araştırmada, ABSP'nin Fusarium türleri üzerindeki etkileri hem laboratuvar ortamında hem de canlı organizmalar üzerinde incelenmiştir. İn vitro sonuçlar, ABSP'nin reaktif oksijen ve azot türleri üreterek Fusarium hücre duvarlarını parçalayabildiğini ve mitokondriyal membran depolarizasyonu yoluyla hücre içi reaktif türlerin birikimine neden olduğunu göstermiştir. ABSP, ayrıca *F. graminearum* tarafından DON biyosentezini acetyl-CoA üretimini azaltarak ve trikotesen biyosentez genlerini baskılayarak engellemiştir. İn vivo analizler, ABSP'nin Fusarium sporlarını inaktive ettiğini ve buğday tanesinde DON üretimini azalttığını doğrulamıştır [54].

DON, özellikle arpada yaygın olarak bulunan önemli bir trikotesen mikotoksindir. Yapılan bir çalışmada, ABSP'nin arpadaki DON konsantrasyonunu azaltma etkileri incelenmiştir. 6 ve 10 dakikalık ABSP uygulamaları sonucunda DON konsantrasyonu sırasıyla %48,9 ve %54,4 oranında azaltılmıştır. Rutubet içeriği ve bağıl nem oranlarının DON degradasyonu üzerinde belirgin bir etkisi olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca, arpa tanelerinin ABSP uygulamasından önce ıslatılması degradasyon oranını önemli ölçüde artırmıştır. Kalite parametrelerinde ise belirgin bir değişiklik tespit edilmemiştir. Bu sonuçlar, ABSP'nin kaliteyi etkilemeden DON'u etkili bir şekilde azaltabileceğini göstermektedir [55].

Zheng ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, DBD soğuk plazma, ZON'u degrade etmek için kullanılmıştır. Voltaj ve sürenin artırılmasıyla degradasyon oranının %98'e ulaştığı gözlenmiştir (50 kV, 120 saniye). Ancak, degradasyon ürünlerinin toksisitesi hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle, ileriki çalışmaların hücre veya hayvan modelleri üzerinde toksisite analizine odaklanması gerektiği belirtilmiştir [56].

Nagatsu ve arkadaşları [57], oksijen plazması kullanarak *Bacillus stearothermophilus* ve *Bacillus subtilis* sporlarını 3 dakika içinde inaktive etmeyi başarmışlardır. Vickery ve çalışma arkadaşları [58], hidrojen peroksit plazması kullanarak Hepatit B virüsünün 7 logaritma düzeyinde azaltılabildiğini göstermiştir. Kyenam ve ekibi [59] ise helyum ve oksijen plazması kullanarak *E. coli* ve *S. aureus* gibi bakterilerin, *S. cerevisiae* gibi mayaların ve *B. subtilis* gibi bakteriyel sporların kolayca etkisiz hale getirilebildiğini ortaya koymuştur. Bu yöntemin, yüksek sıcaklık gerektirmemesi ve zararlı gaz salınımına yol açmaması, öne çıkan avantajları arasında yer almaktadır. Moisan ve arkadaşları [60], prion proteinlerinin sterilizasyonunda plazma yöntemini kullanarak, deli dana hastalığına sebep olan bu proteinleri başarıyla inaktive etmişlerdir.

Plazma teknolojisinin gıda güvenliğinde kullanımı oldukça yenidir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, genellikle mikroorganizmaların yüzeyden dekontaminasyonu üzerine yoğunlaşmıştır. Ancak, plazma işleminin gıdaların temel bileşenleri üzerindeki etkileri hakkında daha fazla detaylı araştırma gerekmektedir. Critzer ve arkadaşları [61], elma, kavun ve marul örneklerinde; Montenegro ve arkadaşları [62], elma sularında; Deng ve arkadaşları [63] ile Niemira [64], badem örneklerinde atmosferik basınçlı hava plazması ile bakterilerin etkisiz hale getirildiğini rapor etmişlerdir. Song ve arkadaşları [65] ise peynir ve jambon örneklerinde atmosferik basınçlı helyum plazması kullanarak benzer bulgular elde etmiştir.

Selçuk ve arkadaşları [66], düşük basınçlı SF6 plazma kullanarak hububat ve baklagil tanelerinde bulunan küflerin baskılanma etkisini araştırmışlardır. Başka bir çalışmada, SF6 ve hava plazması kullanılarak fındık yüzeylerine inoküle edilmiş *A. parasiticus* küflerinin dekontaminasyonu sağlanmış ve aflatoksin miktarında azalma gözlenmiştir [67].

Park ve arkadaşları [68], AFB₁, DON ve NIV gibi üç farklı mikotoksini plazma sistemi kullanarak sadece 5 saniye gibi kısa bir sürede degrade etmeyi başarmışlardır. Ayrıca, plazma uygulanmış toksin örneklerinin sitotoksik etkilerini de incelemişlerdir. Kim ve arkadaşları [69], plazma işleminin gıdadaki spor miktarını ve renk değişimlerini nasıl etkilediğini

incelemişlerdir. Wielogorska ve arkadaşları [70], gıdalar ve yemlerde yaygın olarak bulunan altı mikotoksine karşı ABSP'nin dekontaminasyon etkisini incelemişlerdir. AFB₁ ve Fumonisin B₁, mısırdaki %66'ya kadar azaltılmıştır. AFB₁ ve ZON'un degradasyon ürünlerinin insan hepatosellüler karsinom hücreleri üzerinde sitotoksikite artışı göstermediği gözlenmiştir. ABSP'nin mikotoksin detoksifikasyonu açısından umut verici olduğu belirtilmiştir, ancak gıda matrisinin besin değerleri ve güvenliği konularında ileri araştırmalar gerekmektedir [70].

Hünnap suyu üzerinde yapılan bir çalışmada, soğuk plazmanın *Alternaria* mikotoksinlerini degrade ettiği bulunmuştur. 2 dakikalık plazma uygulaması sonucunda, AOH %56, AME ise %68,2 oranında indirgenmiştir. Voltaj 10 kV'dan 30 kV'a çıkarıldığında, AOH degradasyonu %1,3'ten %56'ya, AME degradasyonu ise %8,1'den %62,8'e yükselmiştir. Bu çalışma, plazma uygulamasının meyve suyu üzerindeki toksinleri etkili bir şekilde degrade edebileceğini ve kalite üzerinde az düzeyde negatif etki yaratabileceğini göstermiştir [71].

Iqdam ve arkadaşları [72], atmosferik basınç plazma jet uygulamalarını yerfıstığında aflatoksin seviyesini azaltmak için kullanılan kimyasal ve termal yöntemlere alternatif olarak incelemişlerdir. *Aspergillus flavus* ile inoküle edilen yerfıstığına sabit (1 ve 2 dak) ve karışım (5 dak) olmak üzere iki farklı ABSP uygulaması yapılmıştır. 2 dakika sabit uygulamada aflatoksin miktarı %23 oranında azaltılmış ve sıcaklık 24°C'den 92°C'ye yükselmiştir. 5 dakika karışım uygulamasında ise aflatoksin seviyesi %38 oranında azalmış ve sıcaklık 78°C'ye çıkmıştır [72].

Soğuk plazma uygulamaları ayrıca mahsul tanelerinde bulunan küflerin çeşitliliğini azaltmada etkili olmuştur. Tohumlara düşük basınç radyofrekans sistemi kullanılarak yapılan uygulamalarda, *Alternaria* ve *Epicoccum* gibi filamentli küflerin daha dirençli olduğu gözlenmiştir. Ancak, soğuk plazma uygulamaları, tohum ekiminde olumsuz etkiler gösterebileceğinden, bu tür durumlarda dikkatle değerlendirilmelidir [73].

Soğuk plazma, aynı zamanda pirinç tanelerinin hasat sonrası zararlılardan korunmasında da potansiyel bir alternatif olarak önerilmektedir. Reaktif oksijen ve azot türlerinin oluşumu, gıda kaynaklı patojenlerin ve mikotoksinlerin dekontaminasyonunu sağlamaktadır. Misnal ve arkadaşları [74], soğuk plazmanın mikrobiyal dekontaminasyon, böcek zararlıları ve pirinç üzerindeki fonksiyonel özelliklere etkisini araştırmıştır. Çalışma, bu teknolojinin gıda kaynaklı patojenlerin azaltılmasında başarılı olduğunu göstermiştir.

Gıdalardaki mikotoksin kontaminasyonunun önlenmesi, saha yönetimi, çevresel kontrol ve mikotoksin sentezine müdahale yöntemleriyle sağlanabilir [75, 76]. Ancak, mikotoksinlerin detoksifikasyonu için mikrodalga, ışınlama, yüksek basınç ve darbeli ışık gibi fiziksel yöntemler, kimyasal yöntemler ve biyolojik yöntemler gibi çeşitli yaklaşımlar da kullanılmaktadır [77, 78]. Avrupa Birliği'nde, insan tüketimine yönelik kimyasal ve biyolojik detoksifikasyon yöntemlerine izin verilmediğinden, gıda endüstrisi genellikle fiziksel yöntemlere yönelmektedir [79].

Termal teknolojiler mikotoksin seviyelerini azaltmada etkili olabilse de, termal olmayan teknolojiler, gıdanın besin ve duyuşal özelliklerini koruyarak avantaj sağlamaktadır [80, 81]. ABSP gibi termal olmayan yöntemler, gıdalardaki mikotoksinlerin azaltılmasında umut verici bir geleceğe sahiptir [82, 83].

Soğuk plazma teknolojisi, mikotoksinlerin detoksifikasyonu ve gıda bileşenlerinin iyileştirilmesinde etkili ve yenilikçi bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Bu teknoloji, düşük sıcaklıkta işlem görmesi sayesinde mikrobiyal inaktivasyon, mikotoksinlerin parçalanması ve gıda kalitesinin artırılması gibi avantajlar sunar. Soğuk plazmanın ürettiği reaktif oksijen türleri ve UV ışınları, AFB₁, OTA, ZON ve DON gibi mikotoksinlerin kimyasal bağlarını kırarak toksik yapılarını daha az zararlı ürünlere dönüştürür. Soğuk plazma aynı zamanda proteinlerin köpürme kapasitesini artırarak ve jel oluşturma yeteneklerini geliştirerek gıda işlevselliğini iyileştirebilir; ancak, uzun süreli işlemlerde protein agregasyonu gibi istenmeyen etkiler görülebilir. Yağlarda soğuk plazma uygulaması, kısa zincirli yağ asitlerinin oluşumunu artırabilir ve bazı durumlarda duyuşal değişikliklere yol açabilirken, karbonhidratların şişme kapasitesi, termal özellikleri ve viskozitesinde iyileşmeler sağlanabilir. Özellikle düşük nemli gıdalarda mikotoksinlerin kontrol altına alınmasında etkili olan soğuk plazma, *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* gibi toksin üreten mantarların büyümesini de inhibe edebilir. Çevre dostu ve kimyasal kalıntı bırakmayan bu teknoloji, düşük enerji tüketimi ve termal hasar oluşturmadağı için avantajlıdır; ancak, süreç homojenliği ve büyük ölçekli uygulamalardaki zorluklar çözülmesi gereken önemli konulardır. Soğuk plazma, gıda güvenliğini artırma, mikotoksin kontrolü ve ürün kalitesini iyileştirme potansiyeli ile gelecekte gıda endüstrisinin önemli bir parçası olma yolundadır [84].

1.2. Plazmanın Mikotoksinler ve Gıdalar Üzerine Etkileri

1.2.1. Plazma Özellikleri

Plazma, maddenin katı, sıvı ve gaz halleri dışında yer alan dördüncü bir durum olarak tanımlanır. Plazma oluşumu, yüksek sıcaklık, güçlü elektriksel veya manyetik alanların etkisiyle gerçekleştirilebilir. Aynı zamanda, yoğun bir elektriksel deşarj yardımıyla da plazma meydana getirilebilir. Plazma ortamındaki serbest elektronlar, kazandıkları enerjiyi diğer atom ve moleküllere çarparak aktarır ve bu süreçte ışık yayılımı gerçekleşir. Bu reaksiyonlar sonucunda ortamda çok sayıda yeni molekül, atom, radikal, foton ve iyon meydana gelir. Plazma, gazın sıcaklığına bağlı olarak sıcak plazma ve soğuk plazma (termal olmayan plazma) olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Sıcak plazma, ortamda yoğun bir şekilde iyonların bulunmasıyla karakterize edilirken, soğuk plazmada diğer aktif plazma türleri de önemli ölçüde yer almaktadır [85]. Plazma, 1879 yılında William Crookes tarafından keşfedilmiş, 1929 yılında ise Tonks ve Langmuir tarafından bir plazma üretim sistemi geliştirilmiştir.

Plazmalar, termodinamik özelliklerine, kullanılan jeneratör tipine (örneğin radyo frekansı, düşük frekans veya mikrodalga), boşalım türüne (yük boşalımı, korona boşalımı, dielektrik bariyer boşalımı) ya da çalışma basıncına (düşük veya atmosferik basınç) göre sınıflandırılabilir. Bu yöntem, malzemelerin yüzey özelliklerini değiştirmek için sıkça tercih edilmektedir. Özellikle malzemenin hacimsel özelliklerine müdahale etmeden, ıslanabilirlik, metal yapışması, boyanabilirlik, sertlik, yağlanabilirlik, bakteri ve protein tutulumunun önlenmesi ile biyouyumluluk gibi fiziksel ve kimyasal özelliklerin iyileştirilmesi konusunda büyük bir potansiyel sunmaktadır. Plazma, otomotiv sektörü, mikro-sistemler, ambalajlama, elektronik mühendisliği, optik teknolojiler ve tekstil endüstrisi gibi birçok alanda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Son yıllarda ise, biyomedikal sektörde yüzey modifikasyonu ve sterilizasyon uygulamalarıyla ön plana çıkmıştır. Bu alandaki başarılı uygulamalar, plazma teknolojinin gıda sektöründe de etkili bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koymaktadır [86, 87].

Plazma teknolojisi, günümüzde kullanılan diğer yöntemlere önemli bir alternatif olarak değerlendirilmektedir. Bu durumun temel sebepleri arasında, işlem sırasında toksik maddelerin kullanılmaması ve toksik kalıntı bırakmaması, sterilizasyon sonrasında ek bir işleme ihtiyaç duyulmaması, reaktif türlerin milisaniyeler içinde yok olarak güvenlik riski oluşturmaması yer almaktadır. Ayrıca, işlemin kısa sürede ve oda sıcaklığına yakın koşullarda gerçekleştirilmesi,

düşük maliyetli olması, ambalaj materyallerinde herhangi bir değişikliğe neden olmaması ve çok sayıda sürece uyarlanabilir bir yapıya sahip olması, plazma teknolojisini cazip bir seçenek haline getirmektedir [86, 87].

Plazma sterilizasyonu ile ilgili ilk patent 1968 yılında Menashi tarafından alınmış olup, sonraki süreçte Ashman ve Menashi, Boucher ve Bithell tarafından geliştirilen yöntemlerle ilerleme kaydedilmiştir [88, 89, 90, 91]. Bu uygulamaların büyük bir kısmı genellikle vakum ortamında gerçekleştirilmiş olsa da, son yıllarda atmosferik basınç altında yapılan plazma çalışmalarının da başarılı sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. Plazma ile dekontaminasyon ve sterilizasyon genellikle üç aşamalı bir mekanizmaya dayanmaktadır. İlk aşamada, UV ışınları mikroorganizmaların genetik materyalinde hasara yol açar. İkinci aşamada, yüzeyde atomik bağların kopması ve foton etkisiyle mikroorganizmaların yapısının parçalanması başlar. Üçüncü aşamada ise "etching" etkisiyle mikroorganizmaların yüzeyden atomik düzeyde aşındırılması ve UV ışınlarının etkisiyle tamamen yok edilmesi sağlanır [86, 87].

Plazma fazında en önemli bileşenler, reaktif oksijen ve azot türleridir (O , O_2 , O_3 , NO ve NO_2). Bu türler arasında, hidroksil radikalinin mikroorganizmaları etkisiz hale getirmede en güçlü etkiye sahip olduğu ve oksijen gazının bulunduğu ortamlarda yoğun şekilde olduğu bilinmektedir. Gürol ve arkadaşları, plazma işlemi sırasında ortaya çıkan aktif türlerin milisaniyeler içinde etkisini yitirdiğini ve insan sağlığı açısından herhangi bir tehdit oluşturmadığını ifade etmiştir [92].

Soğuk plazma teknolojisi, termal olmayan yeni bir teknoloji olarak gıda sanayisinde kullanılmaktadır. Bu teknoloji, besleyici olmayan bileşenleri azaltma ve fonksiyonel karakteristikleri geliştirme potansiyeliyle dikkat çekmektedir. Soğuk plazma, gazı enerji verilerek gazdaki moleküllerin bir kısmının nötr kalması, diğerlerinin ise serbest elektronlara, radikallere ve iyonlara ayrılmasıyla oluşur [93, 94].

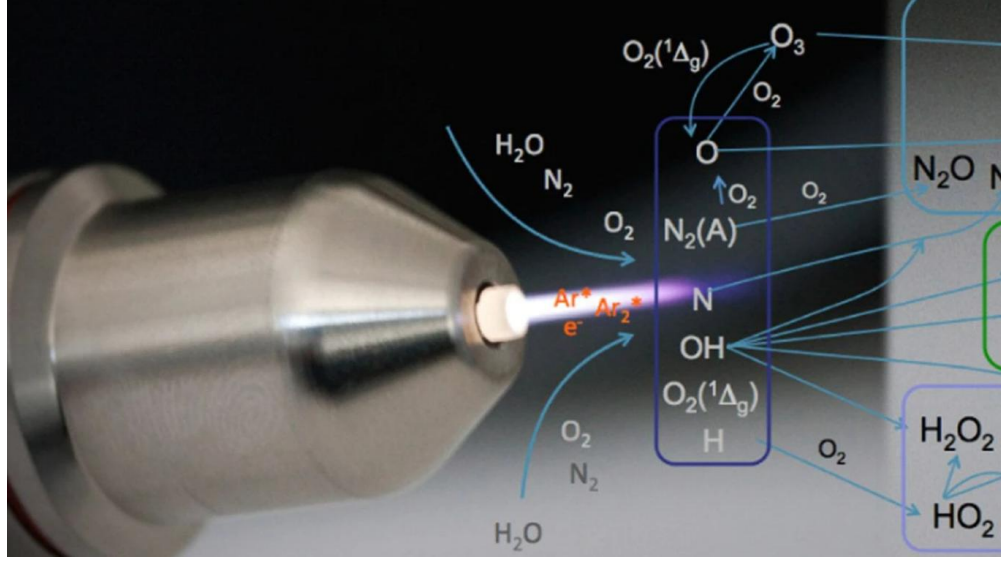
Soğuk plazma uygulaması sırasında kullanılan gazlar oksijen, azot, hidrojen ve karbondioksit gibi atmosferik gazlar ile helyum ve argon gibi soy gazlardan oluşabilir [95, 96]. Uygulanan elektrik enerjisi, elektronların seçici olarak ısınmasını sağlar ve bu sıcaklık, gazın diğer bileşenlerinin sıcaklığından çok daha yüksektir. Bu durum, temas edilen yüzeylerde etkili dekontaminasyon ve sterilizasyon süreçlerini mümkün kılar. Soğuk plazmanın bu özellikleri, özellikle bakterilerin dekontaminasyonu konusunda oldukça etkili bir teknoloji olarak

değerlendirilmesini sağlamaktadır [97, 98, 99, 100]. Soğuk plazmada oluşan bileşenler ve oluşum reaksiyonları Çizelge 1.1’ de sunulmuştur.

Çizelge 1.1. Soğuk plazmada oluşan bileşenler ve oluşum reaksiyonları

Bileşen	Reaksiyon
$N_2(A_3\Sigma_u^+)$	$N_2 + e^- \rightarrow N_2(A_3\Sigma_u^+) + e^-$
N	$N_2 + e^- \rightarrow N + N + e^-$
NO	$N + O + M \rightarrow NO + M$ $O^* + N_2 \rightarrow NO + N$ $N^* + O_2 \rightarrow NO + O$ $N + OH \rightarrow NO + H$
NO ₂	$O + NO + M \rightarrow NO_2 + M$ $O_3 + NO \rightarrow NO_2 + O_2$
N ₂ O	$NO_2 + N \rightarrow N_2O$ $N_2(A_3\Sigma_u^+) + O_2 \rightarrow N_2O + O$ $N_2(A_3\Sigma_u^+) + O + M \rightarrow N_2O + M$
NO ₃	$NO_2 + O + M \rightarrow NO_3 + M$
N ₂ O ₅	$NO_3 + NO_2 + M \rightarrow N_2O_5 + M$
O ₃	$O_2 + e \rightarrow O + O$ $O + O_2 + O_2 \rightarrow O_3 + O_2$
OH	$H_2O + e \rightarrow H \cdot + OH \cdot + e$ $H_2O^+ + e \rightarrow H \cdot + OH \cdot + e$ $N_2(A_3\Sigma_u^+) + H_2O \rightarrow OH + N_2 + H$
HO ₂	$OH + O_3 \rightarrow HO_2 + O_2$
H ₂ O ₂	$OH + OH \rightarrow H_2O_2$
NH	$N + H \rightarrow NH$
NH ₂	$NH + H \rightarrow NH_2$
NH ₃	$NH + H_2 \rightarrow NH_3$ $NH + 2H \rightarrow NH_3$ $NH_2 + H \rightarrow NH_3$

*M: Herhangi bir moleküldür. Reaksiyona diğer atom ve moleküller ile birlikte girerken, reaksiyon sonucu etkileşime girmeden oluşan enerji ile birlikte sistemden çıkar [101, 102].



Şekil 1.3. Atmosferik Basınç Soğuk Plazma

Şekil 1.3'te soğuk plazmanın oluşum ve kimyasal reaksiyon süreçlerini göstermektedir. Görselde, bir plazma jeti sistemi yer almakta olup sistemden çıkan plazmanın gaz molekülleri ile etkileşimleri detaylandırılmıştır. Plazma kaynakları tarafından üretilen reaktif türler arasında atomik oksijen, tekli oksijen, süperoksit anyonu, ozon gibi reaktif oksijen türleri ve atomik azot, uyarılmış nitrojen yer almaktadır. Ortamda yeterli miktarda rutubet bulunması durumunda ise H_2O^+ , OH^- iyonları, hidroksil radikali (OH) veya hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi türevler oluşabilir. ROS arasında ozon, atomik oksijen, tekli oksijen, süperoksit, peroksit ve hidroksil radikallerinin bakterilerin etkisiz hale getirilmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Soğuk plazmanın kimyasal olarak karmaşık yapısı ve etkisi; gazın bileşimi, akış hızı, basıncı, cihaz tasarımı (örneğin, rutubet, sıcaklık, voltaj, frekans), plazmanın işlem süresi ve doğrudan veya dolaylı kullanım gibi çalışma koşullarına bağlıdır [103].

Kullanılan besleme gazının türü, üretilen reaktif türlerin çeşitliliği ve miktarını doğrudan şekillendirebilir. Örneğin, hava gibi bir gazın çalışma ortamında kullanılması halinde yüklü parçacıklar, enerjik iyonlar, ROS ve RNS gibi reaktif türler ortaya çıkabilir ve ultraviyole (UV) radyasyonu oluşumu gözlemlenebilir [97, 104, 105]. Mikotoksinler, gıdalara sıklıkla bulaşan ve sinir sistemi, bağışıklık sistemi gibi hayati sistemlere zarar verebilen, ayrıca çeşitli kanser türlerini tetikleyen filamentli mantarlar tarafından üretilen ikincil metabolitlerdir. Yanlış gıda işleme, taşıma ve depolama süreçleri, mikotoksin kontaminasyonunu artıran önemli faktörlerdir. Bu nedenle, mikotoksinlerin kontrol altına alınması için fiziksel, kimyasal ve biyolojik teknikleri içeren çok yönlü yaklaşımlar gereklidir. ABSP, mikotoksinlerin yok edilmesinde umut verici bir teknoloji olarak öne çıkmaktadır. ABSP, uygun maliyeti, ekolojik

nötrlüğü ve uygulama sonrası gıda ürünlerinin kalitesine minimal zarar vermesiyle klasik yöntemlere kıyasla avantajlıdır [105].

Mikotoksinlerle kontamine olmuş gıdalar, hem insan sağlığı hem de küresel ekonomi için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Mevcut fiziksel, kimyasal ve biyolojik dekontaminasyon yöntemleri, çeşitli iyileştirmelere rağmen hala verimlilik, çevresel etki ve ekonomik uygunluk açısından yetersizlikler gösterebilir. Bu bağlamda, gıda endüstrisi daha etkili mikotoksin dekontaminasyon yöntemleri arayışını sürdürmektedir. ABSP teknolojisi, gıda yüzeyindeki mantarları ve bunların salgıladığı mikotoksinleri etkili bir şekilde yok etme potansiyeline sahiptir. Geleneksel yöntemlere kıyasla, ABSP hem maliyet hem de çevresel etki açısından daha avantajlıdır. Örneğin, en toksik mikotoksinlerden biri olan AFB₁'in dekontaminasyonunda ABSP'nin geleneksel yöntemlere göre daha hızlı ve etkili olduğu gösterilmiştir [105].

ABSP'nin endüstriyel ölçekte uygulanabilmesi için plazma bazlı mikotoksin dekontaminasyonunun moleküler mekanizmaları ve kinetiği daha iyi tanımlanmalıdır. Bu amaçla, farklı plazma çalışma parametreleri ile oluşan spesifik reaktif türler arasında korelasyonların belirlenmesi, plazma bileşimi ile mikotoksin bozunma ürünlerinin yapısı arasındaki ilişkilerin açıklığa kavuşturulması, bozunma ürünlerinin toksisitelerinin belirlenmesi ve plazmanın gıda kalitesi üzerindeki etkilerinin incelenmesi gerekmektedir. Ayrıca, çeşitli gıda türleri için etkili plazma sistemlerinin tasarlanması ve hibrit plazma-geleneksel sistemlerin test edilmesi önem arz etmektedir [105].

ABSP teknolojisinin sanayileşmeden önce standart hale gelebilmesi için, plazma bazlı mikotoksin dekontaminasyonunun moleküler mekanizmalarının ve kinetiğinin daha iyi tanımlanması gerekmektedir. Bu doğrultuda ilave deneysel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Önerilen çalışmalar arasında, farklı plazma çalışma parametreleri ile oluşan spesifik reaktif kimyasal türler arasında korelasyonların belirlenmesi, plazmanın bileşimi ile mikotoksin bozunma ürünlerinin yapısı arasındaki ilişkilerin açıklığa kavuşturulması ve bozunma ürünlerinin toksisitelerinin deneysel olarak belirlenmesi yer almaktadır. Ayrıca, farklı plazma işlemlerinin gıda ürünlerinin besin değeri ve duyu özellikleri gibi kalite parametreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi, çeşitli tür ve boyutlardaki gıda ürünlerinin mikotoksinlerden etkili bir şekilde arındırılmasını sağlayacak plazma sistemlerinin tasarlanması ve hibrit plazma-geleneksel sistemlerin etkinliğinin test edilmesi gibi konular da araştırılmalıdır [105].

Gıda endüstrisi için ticari plazma ekipmanlarının yaygın olmamasına rağmen, tıbbi uygulamalar, çevre koruma, elektronik cihazlar ve malzeme modifikasyonu gibi farklı alanlarda kullanılan ticari plazma ekipmanları piyasada bulunmaktadır. Bu durum, gıda endüstrisi için mikotoksin dekontaminasyonuna yönelik ticari plazma ekipmanlarının geliştirilmesi için önemli bir teşvik oluşturabilir. Soğuk plazma teknolojisi, geleneksel gıda işleme teknolojilerine kıyasla büyük avantajlar sunmasına rağmen, bu teknolojinin yaygın uygulamaları için aşılması gereken bazı sınırlamalar bulunmaktadır [106].

Reaktif türlerin zayıf penetrasyonu, ABSP'nin yüzey dekontaminasyonuna yönelik bir yöntem olarak sınırlı kalmasına neden olmaktadır. Reaktif türlerin düşük penetrasyon derinliği nedeniyle mikroorganizmalar bazı koşullarda etkisiz hale getirilemeyebilir. Özellikle mikroorganizmaların hücre duvarı, reaktif türlerin girişini engelleyebilen koruyucu bir bariyer görevi görür. Ayrıca, mikroorganizmalar plazmaya maruz kalmaktan kaçınmak için yüzey boşluklarında saklanabilir, bu da düzensiz yüzeylerdeki dekontaminasyon etkisini sınırlayabilir [107, 108, 109].

Standardizasyon eksikliği, plazma uygulamalarının bir diğer önemli kısıtlamasıdır. Yeni bir teknoloji olarak ABSP için henüz standartlar geliştirilmemiştir. Mevcut çalışmalar, ABSP ekipmanları ve işleme parametreleri arasında büyük farklılıklar olduğunu göstermektedir. Bu durum, farklı gıdalar için gereken spesifik soğuk plazma dozunun belirlenmesini zorlaştırmaktadır [110, 111].

Uygulama alanlarının sınırlılığı da ABSP'nin yaygın kullanımını kısıtlayan bir diğer faktördür. ABSP hâlâ araştırma ve geliştirme aşamasında olup, uygulamaları çoğunlukla laboratuvar ölçeğiyle sınırlıdır. Büyük ölçekli gıda endüstrisi uygulamaları henüz gerçekleştirilmemiştir. Ayrıca, soğuk plazma ile işlenmiş gıda türleri oldukça sınırlıdır ve bu tür gıdaların uygunluğu yeterince aydınlatılmamıştır. Özellikle C vitamini, E vitamini ve fenolik bileşikler gibi bazı gıda bileşenleri serbest radikalleri temizleyerek plazmanın etkinliğini azaltabilir [112, 113].

Soğuk plazmanın gıdalar üzerindeki olumsuz etkileri de dikkat edilmesi gereken bir konudur. Bazı raporlar, yüksek yağlı gıdalarda uzun süreli plazma işlemlerinin lipid oksidasyonunu artırabileceğini ve bunun yanı sıra renk, doku, lezzet, pH ve asitlik gibi fiziksel ve kimyasal kalite özelliklerini olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir. Bu olumsuz etkiler, soğuk plazmanın gıda endüstrisindeki uygulanmasını geciktirebilir [114, 115].

Son olarak, soğuk plazmanın etkinliği ve mekanizmaları ile ilgili yeterli bilgi bulunmaması önemli bir sınırlamadır. Plazma işleminin etkinliği, mikroorganizmanın özellikleri, işleme parametreleri ve ortam koşulları gibi birçok faktöre bağlıdır. Ayrıca, plazma-matris etkileşimlerinin karmaşıklığı, bu mekanizmaların anlaşılmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, soğuk plazmanın kesin mekanizmasının daha detaylı araştırılması gerekmektedir [116, 117].

1.2.2. Plazma Türleri

Plazma, sıcaklık, iyonlaşma, termodinamik denge, yoğunluk gibi çeşitli faktörlere göre farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Bu faktörler arasında en önemli olanı sıcaklıktır. Termodinamik denge durumuna göre plazma, termal plazma ve termal olmayan plazma olarak iki gruba ayrılır [118]. Termal plazmada, iyonlar, elektronlar ve nötr parçacıklar termodinamik denge halinde bulunur. Bu tür plazmanın sıcaklığı genellikle 4000 ile 20000 K arasında değişir ve yerel denge koşullarında çalışır [112]. Diğer yandan, soğuk plazma, termal olmayan plazma olarak adlandırılır ve sıcaklık aralığı 300-100 K'dir. Bu plazma türü denge dışı bir durumda bulunur. Enerji verildiğinde, gaz farklı reaktif türlere ayrışır ve bu süreçte iyonizasyon ve uyarılma reaksiyonları meydana gelir. Termal olmayan plazma, düşük basınç ve atmosferik basınç altında üretilebilir. Üretim koşullarına bağlı olarak, düşük basınç plazması ya da atmosferik basınç plazması olarak adlandırılır [119]. Soğuk plazma, kullanım alanına bağlı olarak farklı yöntemlerle üretilebilir ve üretim şekilleri, genellikle deşarj moduna göre sınıflandırılır.

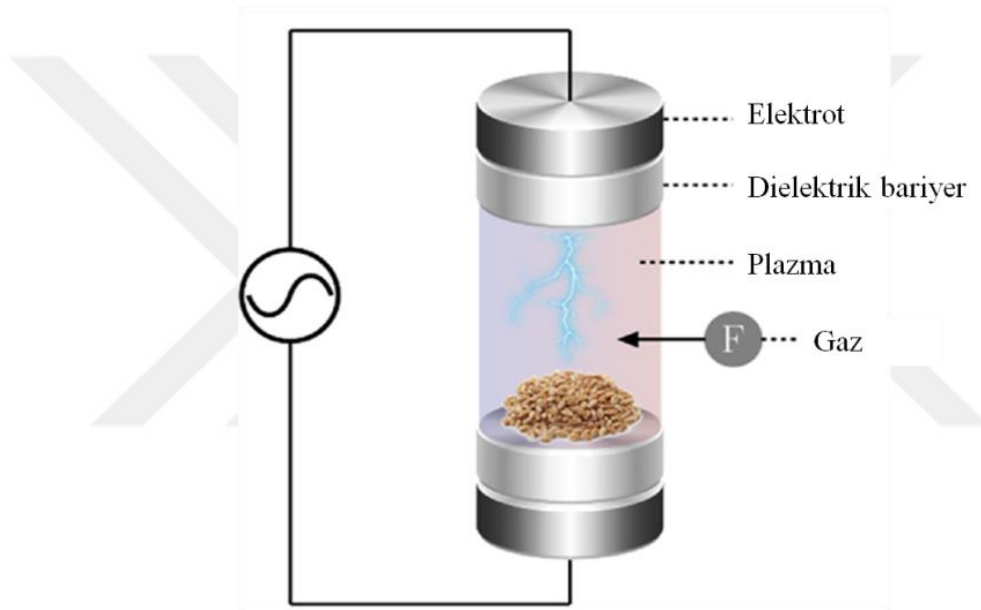
1.2.2.1. Dielektrik Bariyer Deşarjı (DBD)

DBD, plazma üretiminde en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Endüstriyel ölçekte düşük maliyetli olması, güvenlik, çalışma koşulları, geometrik yapılandırmalara uyumluluk, miniaturizasyon ve enerji verimliliği gibi pek çok avantaj sunar. DBD plazması, iki metal elektrot arasında, 0,1 mm ile birkaç santimetre arasında değişen bir deşarj mesafesinde üretilir. Elektrotlardan biri yüksek voltaja bağlanırken, diğeri topraklanır ve seramik, kuvars, plastik veya polimer gibi dielektrik bir malzeme ile kaplanır. Çalışma gazı, elektrotlar arasında hareket eder veya ayrışır. Uygulanan voltaj sonucu gaz iyonlaşır ve plazma oluşur [120, 121, 122].

Atmosferik DBD, çevredeki havanın iyonizasyonunu sağlayarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesine neden olur [123]. Bu sistem, 10 kPa ile 1 MPa arasında bir gaz basıncı aralığında çalışabilir. Dielektrik malzeme, bir yalıtkan görevi görerek doğru akımın

(DC) geçişini engeller. Bu nedenle, sistem genellikle alternatif akım veya darbe voltajı kullanılarak 160 kV'a kadar yüksek voltajlarda çalıştırılır. Bununla birlikte, belirli dielektrik malzeme tasarımlarına sahip bazı düzenekler, DC voltajla ve 50 Hz ile 1 MHz arasında değişen frekanslarda çalışabilir [124].

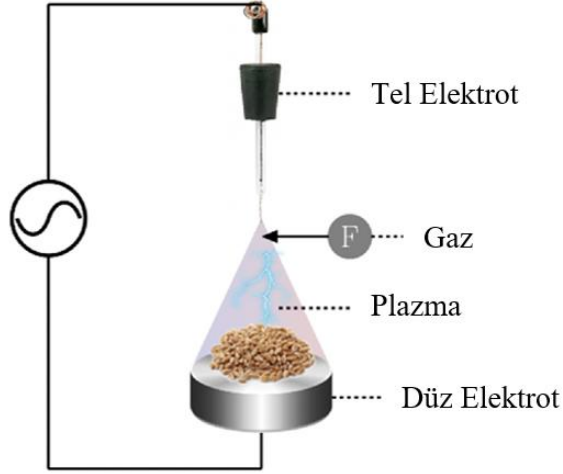
DBD ile üretilen soğuk atmosferik plazma, yüksek bir elektron yoğunluğu ve düşük bir sıcaklık artışı ile atomik oksijen üretir. Bunun yanı sıra, bu tür plazma, gıda ürünlerine ya da ambalaj malzemelerine zarar vermez [116, 125]. Uyarılmış oksijen molekülleri, lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi çeşitli biyolojik moleküllerle etkileşime girerek bakterisidal etkiler gösterebilir.



Şekil 1.4. Dielektrik Bariyer Deşarjı (DBD)

1.2.2.2. Korona Deşarjı

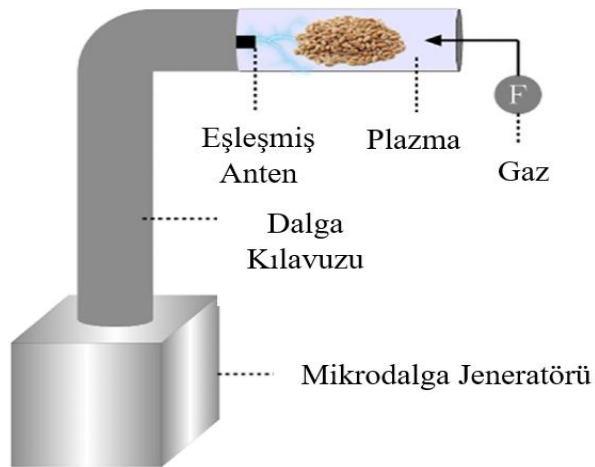
Korona, elektronlar ve iyonlar gibi yüklü parçacıkların elektrik alanı etkisiyle hızlandırıldığı bir akış türüdür. Hava veya başka gazlarla dolu bir boşluk yüksek voltaja maruz kaldığında, hızlı hareket eden parçacıkların nötr moleküllerle çarpışması sonucu daha fazla iyon oluşur [126]. Korona deşarjı reaktörleri genellikle yüksek voltajda ve tek bir elektrotla çalıştırılır. Keskin uçlu elektrot, pozitif ya da negatif olabilir ve bu durum pozitif veya negatif korona olarak adlandırılır [127]. Korona deşarjı, düşük maliyeti, yüksek verimliliği ve kompakt yapısı gibi avantajlar sunar. Ancak, sınırlı kullanım alanı ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) düzensiz üretimi gibi dezavantajları da mevcuttur [116].



Şekil 1.5. Korona Deşarjı

1.2.2.3. Mikrodalga Deşarjı (MD)

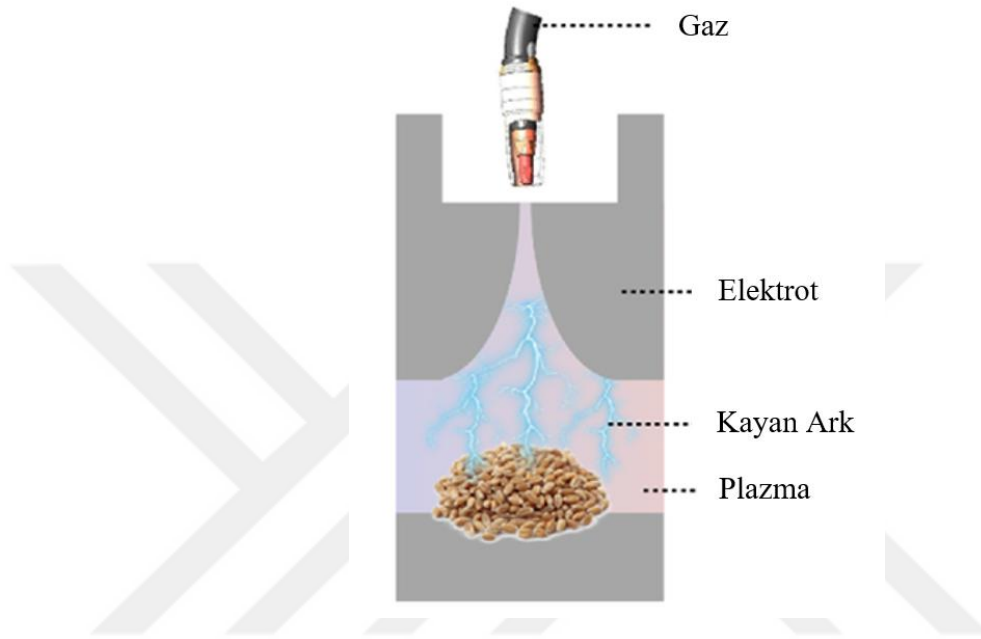
Mikrodalga deşarjı, 300 MHz'in üzerinde frekanslara sahip elektromanyetik dalgaların sebep olduğu bir elektriksel deşarj türüdür. Mikrodalga dalgalarının boyu, kullanım alanına göre milimetrelerden onlarca santimetreye kadar değişiklik gösterebilir [128]. Elektrik alan, reaktör odasına koaksiyel bir kablo ya da dalga kılavuzu aracılığıyla iletilir. Mikrodalga alanı tarafından sağlanan enerji, elektronlar tarafından emilir ve bu enerji, çevrede bulunan gazların atom ve moleküllerinin iyonizasyon reaksiyonlarını hızlandırır. MD'nin en büyük avantajlarından biri, elektrot gereksiniminin olmaması ve kullanım kolaylığı sağlamasıdır. Ancak, işlem alanının sınırlı olması ve farklı gaz türlerinde yangın riski taşıması, bu yöntemin önemli dezavantajları arasında yer alır [127].



Şekil 1.6. Mikrodalga Deşarjı (MD)

1.2.2.4. Kayma Arkı Deşarjı

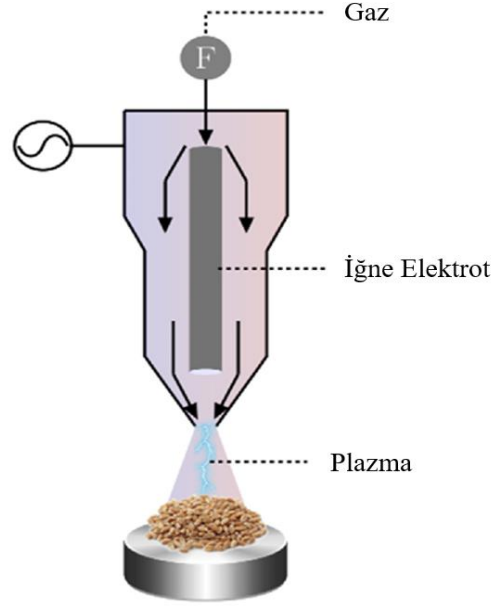
Şekil 1.7, tipik bir kayma arkı reaktöründe gerçekleşen deşarj sürecini göstermektedir. Paralel düzlemde ve birbirine yakın konumlanmış iki veya daha fazla elektrot yer alır. Taşıyıcı gaz sürekli olarak sisteme enjekte edilir ve ark, elektrotlar arasındaki en dar noktadan başlayarak gaz akışı yönünde ilerleyerek uzar [129].



Şekil 1.7. Kayma Arkı Deşarjı

1.2.2.5. Plazma Jeti

Atmosferik plazma jeti, ortam havasında çalışan bir gazın deşarj edilmesiyle oluşturulan, denge dışında bir plazma türüdür (Şekil 1.8). Bu plazma, gaz akışı ve/veya elektrik alanı yardımıyla açık havaya taşınabilir [130]. Geleneksel düşük basınçlı plazmalara kıyasla, atmosferik plazma jeti, pahalı vakum ekipmanlarına ihtiyaç duymaz ve elektronlar, iyonlar, serbest radikaller, uyarılmış moleküller, enerjik fotonlar (örneğin ultraviyole ışık) ve güçlü geçici bir elektrik alan gibi pek çok aktif tür içerir. Atmosferik plazma jetleri, stabil, homojen ve düzenli bir plazma deşarjı sağlar [131]. Bununla birlikte, bakteriyel inaktivasyon bölgesi oldukça sınırlıdır ve bu alan elektrotun kesit yüzeyiyle doğrudan ilişkilidir [132].



Şekil 1.8. Plazma Jeti

1.2.3. Gıda Matrislerindeki Gıda Bileşenleriyle Soğuk Plazma Etkileşimleri

Soğuk atmosferik basınçlı plazma (ABSP), çok çeşitli reaktif türlerin üretildiği oldukça karmaşık bir yapıya sahiptir. Ancak, gaz deşarjı gıda matrisleriyle temas ettiğinde meydana gelen reaksiyonlar bu karmaşıklığı daha da artırır. Gıda matrisleri genellikle farklı oranlarda protein, lipit, karbonhidrat ve su içerir; ayrıca mineraller ve vitaminler gibi besin öğeleriyle insan beslenmesi için gereklidir. İzole edilmiş bileşenlerin davranışlarını gözlemlemek ve plazma sırasında oluşan reaktif türlerin bileşimlerini bilmek, bunların plazmaya maruz kalma sırasındaki reaksiyonlarını tahmin etmeyi kolaylaştırabilir. Ancak, gıda matrisleri, farklı oranlarda bileşenlere sahip çok bileşenli sistemler oldukları için, bu bileşenler arasındaki etkileşimler plazmanın etkisini önemli ölçüde etkiler. Örneğin, bazı bileşenler diğerlerini oksidasyona karşı korurken, bazıları tam tersi şekilde reaksiyonları artırabilir. Ayrıca, proteinler arasında çapraz bağların oluşumu gibi moleküler düzeyde etkileşimler de gözlemlenebilir. Bunun yanı sıra, plazmanın etkisiyle oluşan bozunma ürünleri başka reaksiyonları tetikleyebilir ve bu durum zincirleme reaksiyonlara yol açabilir. Bu süreçler, pH, iletkenlik, maddenin fiziksel durumu ve makromoleküler yapı gibi birçok faktöre bağlıdır. Bu faktörler, plazma uygulamalarının gıda matrislerine uyarlanmasını karmaşık bir süreç haline getirmektedir [133].

Plazmanın katı ve sıvı gıda sistemlerine uygulanması arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır. Katı gıdalarda plazma genellikle yüzeyle sınırlı kalırken, plazma reaktif türlerinin katı gıdalara nüfuz etme yeteneği, gıdanın bileşimi, su içeriği ve gözenekliliği gibi

faktörlere bağlıdır. Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri (RNS) ve ozon gibi bileşenler genellikle yalnızca birkaç mikrometre derinliğe nüfuz edebilir. Örneğin, Xiong ve arkadaşları, plazmanın *Porphyromonas gingivalis* bakterisinin oluşturduğu biyofilmlere 15 µm derinliğe kadar nüfuz edebildiğini bulurken, Pei ve arkadaşları, plazmanın 25,5 µm derinlikteki *Enterococcus faecalis* biyofilmlerini etkisiz hale getirebildiğini göstermiştir [134, 135]. Bununla birlikte, reaktif türlerin kısa yarı ömürleri nedeniyle, derin nüfuz sağlamak genellikle zordur. Örneğin, hidrojen peroksitin yarı ömrü nispeten uzun (1 ms) olmasına rağmen, tekli oksijen ve hidroksil radikallerinin yarı ömürleri sırasıyla yalnızca 1 µs ve 1 ns'dir. Ancak, bu sınırlı nüfuz derinliği bazen bir avantaj olabilir. Örneğin, yüzey/hacim oranı büyük olan gıdalarda mikrobiyal dekontaminasyon sağlanırken, besin maddelerinin çoğunluğu gıdanın içinde korunabilir [136].

Sıvı gıdalarda ise durum farklıdır çünkü plazmanın sıvı ortamda reaktif türler oluşturması hacimsel olarak gerçekleşir. Bu nedenle, sıvı gıdalarda plazma uygulamaları sırasında yalnızca mikroorganizmalar değil, çevredeki tüm bileşenler de etkilenir. Plazma su molekülleriyle temas ettiğinde, suyun elektronlarla ayrışması sonucu çeşitli reaktif türler oluşur. Bu reaksiyonların hızları, su içeriği, elektron enerjisi ve su moleküllerinin çarpışma kesitlerine bağlıdır. Katı yüzeylerde ise aşındırma, dekontaminasyon açısından en önemli süreçlerden biridir. Aşındırma işlemleri atomik oksijen tarafından tetiklenebilir ve bu da CO₂ ve H₂O gibi uçucu bileşiklerin oluşumuna neden olur [137].

Soğuk plazma uygulamalarının gıdanın fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerindeki etkileri de dikkat çekicidir. Örneğin, Selçuk ve arkadaşları, tahıl ve baklagillerde plazma uygulamasının rutubet içeriğinde hafif değişikliklere neden olduğunu ancak genel kalite özelliklerini değiştirmedeğini gözlemlemişlerdir [138]. Lee ve arkadaşları, kahverengi pirinçte plazma uygulaması sonrası parlaklık artışı ve beyazlık indeksinde iyileşme gözlemlemişlerdir. Aynı zamanda amilaz aktivitesindeki artışın, sertlik değişiminin ana nedeni olduğunu belirtmişlerdir [139]. Wiktor ve arkadaşları, baharatların fizikokimyasal özellikleri üzerindeki plazma etkilerini incelemiş ve suyun buharlaşmasına bağlı olarak kuru madde içeriğinde artış gözlemlemişlerdir [140].

1.2.3.1. Protein / Enzim Üzerine Plazma Etkileri

Proteinler, çok sayıda amino asitten (genellikle 100-300) oluşan ve geniş bir biyolojik işlev yelpazesine sahip moleküllerdir. Amino asitler, peptit bağları ile bağlanarak polipeptit

zincirleri oluşturur ve bu zincirler, proteinin birincil yapısını tanımlar. Hidrojen bağlarının etkisiyle amino asitlerin uzaysal düzenlemesi ikincil yapıyı oluştururken, üçüncül ve dördüncül yapılar, katlanmalar ve üç boyutlu düzenlemelerle karakterize edilir. Proteinlerin yapısı, biyolojik işlevlerini belirler; dolayısıyla amino asitlerin oksidasyonu gibi yapısal değişiklikler, proteinlerin işlevselliğinde değişimlere veya kayıplara yol açabilir. Cherry ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, peroksidaz enziminin aktif bölgesine yakın üç oksitlenebilir amino asidin değiştirilmesinin enzimin stabilitesini beş kat artırdığı gösterilmiştir [141].

Reaktif oksijen türleri (ROS), proteinlerin yapısal modifikasyonunda önemli bir rol oynar. Sistein ve metionin gibi kükürt içeren amino asitler, ROS saldırılarına en duyarlı olanlar arasındadır. Sistein içerisindeki tiyol grubu (-SH), oksidasyon sonucu disülfid bağlarına dönüşebilir ve bu süreç, proteinlerin stabilitesini artırabilir veya onları reaktif türlere karşı koruyabilir. Metionin ise metionin sülfoksite dönüşebilir ve bu süreç geri dönüşümlüdür. Metioninin bu özelliği, proteindeki aktif bölgeleri koruyan endojen bir antioksidan olarak görev yaptığı varsayımını desteklemektedir [142].

Karbonilasyon, arginin, histidin, lizin, prolin, treonin ve triptofan gibi amino asitlerde serbest karbonil gruplarının (C=O) geri döndürülemez bir şekilde oluşmasıyla ortaya çıkan bir oksidatif saldırı türüdür. Bu durum, özellikle katalaz gibi enzimlerin inaktivasyonunda önemli bir rol oynar ve karbonilasyonun bu inaktivasyona neden olabileceği gösterilmiştir. Makromoleküler biyolojik katalizörler olan enzimler, çoğunlukla protein grubuna aittir ve bu reaksiyonların etkisine maruz kalır. Gıdalarda doğal olarak bulunan enzimler, bazı durumlarda istenebilir, bazı durumlarda ise istenmeyebilir. Çoğu durumda, bu enzimler gıda kalitesini olumsuz yönde etkileyen reaksiyonları katalize eder. Örneğin, polifenol oksidaz ve peroksidaz enzimlerinin, besin değerindeki kayıplara neden olan enzimatik esmerleşme reaksiyonlarında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Diğer yandan, lipazlar lipidlerin parçalanmasını tetikleyerek hoş olmayan tatların oluşumuna sebep olur [137].

Son yıllarda alternatif proteinlerin artan popularitesi, çevre dostu ve sürdürülebilir protein üretim yöntemlerinin araştırılmasını teşvik etmiştir. Alternatif protein pazarına bitkisel proteinler hakimdir ve soğuk plazma uygulamaları, bu proteinlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini iyileştirmek için umut vaat eden bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Plazma tarafından üretilen reaktif oksijen türlerinin proteinlerle etkileşimi, amino asitlerin oksidasyonu yoluyla gerçekleşir. ROS'un protein yüzeylerine bombardmanı, aktif bölgelerin oluşumuna ve

hidrofilik grupların eklenmesinin artmasına neden olur, bu da proteinlerin çözünürlüğünü artırır [143].

Ayrıca, soğuk plazma proteinlerin birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapılarında değişiklikler yapabilir. Bu değişiklikler, proteinlerin fonksiyonel ve besinsel özelliklerini iyileştirebilir [144]. Örneğin, soğuk plazma ile modifiye edilmiş buğday proteininde amino asitlerin oksidasyonu, buğdayın fonksiyonel özelliklerini doğrudan etkileyerek su bağlama kapasitesini artırmıştır. Plazma işlemine tabi tutulan buğday ununun toplam protein seviyesi önemli ölçüde değişmemiştir, ancak farklı protein bileşenlerinin oranları ve molekül ağırlıklarındaki değişiklikler su bağlama kapasitesinin iyileşmesine katkı sağlamıştır. Bu bulgular, soğuk plazmanın bitkisel proteinlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini iyileştirmede çevre dostu bir yaklaşım sunduğunu göstermektedir [145].

Misra ve arkadaşları [146], soğuk plazma işleminin buğday ununun protein ikincil yapısını değiştirdiğini ve bu değişikliğin esas olarak reolojik özelliklerdeki farklılıklarla kendini gösterdiğini gözlemlemiştir. Araştırmacılar, bu süreçte disülfid bağlarının oluşumunun teşvik edildiğini ve bunun da hamur mukavemetini artırdığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde, Zare ve arkadaşları [147], soğuk plazma uygulamasının kinoa ununun reolojik özelliklerini değiştirdiğini, bunun büyük ölçüde proteinlerin polimerizasyonu ve disülfid bağlarının oluşmasından kaynaklandığını bildirmiştir. Bahrami ve arkadaşları [148] ise buğday ununun toplam protein miktarının plazma uygulamasından etkilenmediğini, ancak protein profilinin daha yüksek moleküler ağırlığa kaydığını ve bunun sonucunda hamur mukavemetinin arttığını gözlemlemiştir.

Ayrıca, soğuk plazma prosesinde giriş voltajı, çalışma gazı ve tedavi süresi gibi değişkenlerin optimize edilmesi, bitki proteinlerinin çözünürlüğünü, jelleşme kapasitesini ve köpürme özelliklerini iyileştirme potansiyeline sahiptir [143, 149]. Bu bulgular, soğuk plazmanın bitki proteinlerinin fonksiyonel ve reolojik özelliklerini geliştirmede etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir.

1.2.3.2. Lipitler Üzerine Plazma Etkileri

Lipitler, içerdiği yağ asitlerinin karbon atomları arasındaki çift bağların miktarına göre doymuş, tekli doymamış veya çoklu doymamış olarak sınıflandırılır. Reaktif oksijen türleri, özellikle hidroksil radikali ve süperoksit anyonu, lipitlerde birincil hedef olarak C–H bağlarını, özellikle de çift bağlar arasında yer alan metil gruplarını hedef alır. Bu bölgeler, bir hidrojen

atomunu çıkarmak için gereken enerji girişinin düşük olması nedeniyle ROS saldırılarına karşı daha duyarlıdır. Dolayısıyla, bir yağ asidi ne kadar çok çift bağ içeriyorsa, ROS tarafından homolitik saldırıya karşı o kadar hassastır. Örneğin, linoleik asit (18:2) ve alfa-linolenik asit (18:3), sırasıyla iki ve üç çift bağ içermeleri nedeniyle ROS'a duyarlıdır. Lipit oksidasyonu, peroksi radikallerinin oluşumu eşliğinde gerçekleşir ve hidroperoksitlerin yanı sıra diğer reaktif radikallerin oluşumuyla devam eder. Bu zincirleme reaksiyon genellikle üç aşamaya ayrılır: başlatma, yayılma ve sonlandırma. Bu süreç, radikallerin rekombinasyonu veya radikal temizleyici olarak görev yapan antioksidanların etkisiyle durdurulabilir. Hidroperoksitler, lipitlerin ayrışması veya yağ asitlerinin eter ya da peroksit köprüleri yoluyla zincir bağlanması gibi reaksiyonları başlatabilir. Ayrıca, hidroperoksitlerin kararsız yapıları, aldehitlere ayrışmalarına yol açabilir [150, 151].

Soğuk plazma kaynaklı lipit oksidasyonu, çoğu durumda istenmeyen bir durum olsa da, bazı çalışmalar bu yöntemi yavaş oksidasyon süreçlerini hızlandırmak için bir araç olarak ele almıştır. Van Durme ve arkadaşları [152], bitkisel yağa plazma uygulamasının birçok ikincil uçucu lipit oksidasyon ürününün oluşumuna yol açtığını, özellikle aldehitlerin atomik oksijen etkisiyle, 2-pentil furanın ise tekli oksijenle oluştuğunu bildirmiştir. Vandamme ve arkadaşları [153] ise balık yağında yaptıkları çalışmalarda, plazma işlemiyle 2-propenal, 2-pentenal ve heptanal gibi farklı oksidasyon ürünlerinin oluştuğunu gözlemlemiştir. Bu çalışmalar, plazma uygulamasının, termal bazlı testlere kıyasla lipit oksidasyonunu gerçekçi bir şekilde hızlandırma kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir.

Lipit oksidasyonu, gıda kalitesini olumsuz yönde etkileyen birincil ve ikincil ürünler üreterek gıda raf ömrünü önemli ölçüde kısaltabilir. Bahrami ve arkadaşları [138], plazma işleminin buğday ununun ekstrakte edilebilir lipitleri üzerindeki etkilerini değerlendirirken polar olmayan ve glikolipid fraksiyonlarında önemli bir fark gözlemlenmezken, serbest yağ asitleri ve fosfolipit içeriklerinin soğuk plazmadan önemli ölçüde etkilendiğini bulmuşlardır. Choi ve arkadaşları [154], kurutulmuş kalamar parçalarını işlemek için korona deşarjlı plazma jeti kullanarak doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunun işlem süresiyle arttığını ve TBARS (2-tiyobarbitürik asit reaktif madde) değerlerinin önemli ölçüde yükseldiğini tespit etmişlerdir. Benzer şekilde, Lee ve arkadaşları [155], kahverengi ve beyaz pişmiş pirinçte 20 dakikalık soğuk plazma uygulamasından sonra TBARS değerlerinde belirgin bir artış gözlemlemiştir. Bu bulgular, lipit oksidasyonunun gıdaların duyu ve organoleptik özelliklerini olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir.

Bununla birlikte, soğuk plazmanın gıda lipitleri üzerindeki etkisi her zaman olumsuz değildir. Foligni ve arkadaşları [156], deşarj plazma işleminin ardından fıstık çekirdeklerinin oksidasyon derecesini değerlendirmiş ve hidroperoksitlerin ve TBARS değerlerinin kontrol grubu ile plazma uygulanmış grup arasında anlamlı bir fark göstermediğini belirtmiştir. Lipit oksidasyon hızı, azaltılmış oksijen seviyelerine sahip gaz karışımları, düşük giriş gücü, daha düşük işlem sıcaklıkları ve kısa tedavi süreleri gibi plazma işlem parametrelerinin optimize edilmesiyle kontrol altına alınabilir [157]. Bu bulgular, soğuk plazma işleminin doğru şekilde optimize edildiğinde gıda kalitesini koruyabileceğini göstermektedir.

1.2.3.3. Karbonhidratlar Üzerine Plazma Etkileri

Karbonhidratlar, özellikle hidroksil radikallerine (OH[•]) karşı hassas biyomoleküllerdir. Mannitol ve sorbitol gibi şeker alkollerinin, hidroksil radikallerini temizleyerek diğer hayati hücresel bileşenleri oksidasyondan koruduğu gösterilmiştir. Artan şeker alkol konsantrasyonu, hidroksil radikal temizleme aktivitesini de artırır. Yapılan araştırmalarda, sakaroz ve poliollerin en etkili temizleyiciler arasında olduğu bulunmuştur. Araştırmalar, bir ksantin oksidaz-malat dehidrojenaz sistemi kullanarak, miyo-inositol, sorbitol ve mannitolün malat dehidrojenazı oksidasyondan koruyabildiğini göstermiştir. Özellikle 20 mM mannitol, hidroksil radikallerinin %60'ını temizlemiştir [158, 159].

Karbonhidratlar, karbon, hidrojen ve oksijen atomlarından oluşan biyolojik molekulardır ve nişasta, en yaygın karbonhidrat türlerinden biridir. Nişasta, gıda, kağıt, tekstil ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan bir biyopolimerdir. Soğuk plazmayla modifiye edilen nişasta, kimyasal modifikasyona etkili bir alternatif olarak öne çıkmaktadır [160]. Yapılan çalışmalar, soğuk plazmanın farklı nişasta türlerinin (fasulye, patates, pirinç ve mango tohumu) özellikleri üzerinde çeşitli değişimlere yol açtığını göstermiştir [161, 162]. Wu ve arkadaşları [163], soğuk plazmanın mısır nişastasını üzerindeki fizikokimyasal etkilerini incelemiş ve plazmanın depolimerizasyonu tetiklediğini, çözünürlüğü ve jelatinleşme derecesini artırdığını, pik viskozite ve nihai viskoziteyi ise önemli ölçüde azalttığını rapor etmiştir. Elektron mikroskobu görüntüleri, plazmanın nişasta granüllerinin yüzeyinde hafif çatlaklara neden olduğunu ancak genel morfolojiyi önemli ölçüde değiştirmedeğini ortaya koymuştur.

Chaple ve arkadaşları [164], buğday ununu 80 kV'luk dielektrik bariyer deşarj plazmasıyla 5-20 dakika işleminden geçirmiş ve viskozite, hidrasyon ve jelatinleşme

özelliklerinde artış gözlemlemiştir. Plazma kaynaklı depolimerizasyon nedeniyle unun endotermik entalpisi ve kristalliği azalmış, beyazlık indeksi ve L* değerleri artarken, a* ve b* renk değerlerinde azalma görülmüştür. Benzer şekilde, Bie ve arkadaşları [165], mısır nişastasında plazma işleminin moleküler ağırlığı düşürdüğünü ve viskozitenin işlem süresiyle birlikte kademeli olarak azaldığını göstermiştir.

Proteinler, lipidler ve karbonhidratların yanı sıra soğuk plazma, düşük rutubet içerikli gıdalardaki diğer besin maddeleri üzerinde de etkili olabilir. Alves Filho ve arkadaşları [166], soğuk plazmanın kaju fıstığının bileşimi üzerindeki etkilerini incelemiş ve plazma işleminin sakaroz içeriğini azalttığını, yağ asidi ve gliserol içeriğini artırdığını, aynı zamanda aromatik asit oranında bir artışa yol açtığını bulmuştur. Bu bulgular, soğuk plazmanın karbonhidrat ve diğer besin maddelerinin özelliklerini dönüştürme potansiyelini ortaya koymaktadır.

1.2.3.4. Plazmaya Maruz Kalma Sırasındaki Matris Etkileşimleri

Radikal temizleyiciler, oksidasyon reaksiyonları sırasında radikal transferini durdurarak, reaksiyonların zincirleme bir şekilde ilerlemesini önler. Bu gruptaki önemli bir bileşik olan E vitamini, özellikle peroksil radikallerini temizlemede oldukça etkilidir. Ayrıca hidroksil radikallerini, singlet oksijeni ve süperoksiti temizleme yeteneğine de sahiptir [167, 168]. E vitamini, hem in vitro hem de in vivo koşullarda zincirleme reaksiyonları kırarak lipid peroksidasyonunu engeller [169].

İndirgeyici maddeler de önemli antioksidanlar arasında yer alır. Düşük redoks potansiyeline sahip bu moleküller, ROS tarafından öncelikli olarak oksitlenir ve böylece diğer bileşenlerin oksidasyondan korunmasını sağlar. Gıda matrislerinde yaygın olarak bulunan askorbik asit, en etkili indirgeyici maddelerden biridir. Ayrıca şekerlerin, lipitleri oksidasyona karşı koruduğu da kanıtlanmıştır. Model bir çalışmada, fruktoz, sükroz, rafinoz, sorbitol ve mannitol gibi şekerlerin, su emülsiyonlarındaki model balık yağında %16 konsantrasyonlarda antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir [170].

Şeker ve tokoferol gibi fenolik antioksidanların kombinasyonlarının, bireysel fenolik antioksidanlara göre daha düşük bir antioksidan aktivite sergilediği bulunmuştur. Bu durum, şekerlerin/poliollerin hidrojen bağlanma aktivitelerinin, fenolik antioksidanların H-verme aktivitelerini engellemesiyle açıklanmıştır. İyonların da enzim yapısı ve aktivitesini, plazma bazlı bozunmaya karşı koruyabildiği gözlemlenmiştir [171].

Bu bulgular, plazmanın çok bileşenli gıdalara uygulanmasının sonucunu tahmin etmenin zorluğunu ortaya koymaktadır. Özellikle sıvı gıdalarda, bileşenlerin birbirleriyle yoğun bir şekilde reaksiyona girebilmesi, sonuçların öngörülmesini daha da zorlaştırmaktadır. Bu durum, işlenecek gıdanın bileşimi ve özelliklerine ilişkin ayrıntılı bilgilere olan ihtiyacı vurgular. Ayrıca plazma işleminin, ROS bileşimi ve uygulama koşulları açısından uygulamaya özel olarak optimize edilmesi gerekliliği de ön plana çıkmaktadır [172].

Plazmanın gıda matrisi ile temas etmesi sırasında meydana gelen reaksiyonlar, hem plazmanın bileşimine hem de gıda matrisinin içeriğine bağlıdır. Bu etkileşimler, plazmada bulunan türler ve moleküller arasındaki doğrudan reaksiyonların yanı sıra, oluşan radikaller ve moleküller arasındaki ikincil reaksiyonları da içerir. Özellikle antioksidanlar ve su ile gerçekleşen reaksiyonlar, reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından başlatılan reaksiyon zincirlerinin ilerleyişini belirlemede kritik bir rol oynar. Gıda matrisinde yer alan askorbik asit (C vitamini), tokoferol (E vitamini), flavonoidler ve karotenoidler gibi küçük moleküller, ROS'a karşı matrisi koruyan temel antioksidan bileşenlerdir. Her birinin etki mekanizması farklılık göstermektedir [173].

1.2.3.5. Gıda Sistemlerinin Fonksiyonel Özellikleri Üzerinde Plazmanın Etkileri

ABSP'nin ayrıca malzemelerin yüzey yapısını mikro ila nanometre aralığında değiştirdiği de bilinmektedir [172]. Bu sayede polimerik malzemelerin yüzey özelliklerini, hacimsel özelliklerini etkilemeden kimyasal ve fiziksel olarak değiştirmeye izin verir. Polimerik malzemelerin yüzey özelliklerinin değiştirilmesiyle ilgili olarak, ABSP işlemi çeşitli nedenlerden dolayı avantajlıdır; kullanımı tehlikeli solventler içermez, uygulamada tekdüzelik vardır ve malzemelerle temas ettiğinde termal hasar oluşmaz [173, 174, 175].

Genişletilmiş plazma işlemi, UV radyasyonunun neden olduğu yüzeylerin aşındırılması ve enerjik parçacıkların (örneğin, elektronlar, iyonlar, radikaller ve uyarılmış atomlar/moleküller) polimer yüzeyi üzerinde bombardımanı ile sonuçlanır ve sonuç olarak yüzey pürüzlülüğünü artırır [176]. Yüksek aşındırma oranı nedeniyle argon ve oksijen plazmaları, polimerlerin ablasyonunda özellikle faydalıdır [177]. Yüzeylerin aşındırılmasının yanı sıra, ABSP polimerlerin yüzey işlevselleştirilmesi, polimer bozunması ve çapraz bağlanma için de kullanılabilir. Yüzey fonksiyonallizasyonu, polimer zincirleri üzerindeki hidrojen atomları karbon radikalleri oluşturduğunda meydana gelen ve daha sonra oksidasyona veya nitrasyona neden olan, polimer yüzeyinde fonksiyonel grupların (örneğin oksijen ve nitrojen

içeren gruplar) oluşumunu ifade eder. Polimer yüzeyleri üzerindeki plazmaya özgü etkiler, gıda sektöründe biyopolimerlerin modifikasyonu için yenilikçi bir yaklaşım sunabilir. Uygulama olanaklarının çeşitliliği göz önüne alındığında, plazma teknolojisi hayvan ve bitki kökenli nemli ve kuru yüzeylere uygulanabilir [172].

Bitki yüzeylerine yönelik plazma uygulamalarına dair yapılan çalışmaların sayısı sınırlıdır ve farklı plazma kaynakları kullanılmıştır. İyon bombardımanı ve ardından gerçekleşen oksidasyon reaksiyonlarının üst epidermal tabakada aşındırma etkisi yaratıp yaratmadığını ve hücre ablasyonuna neden olup olmadığını belirlemek amacıyla Grzegorzewski ve arkadaşları [178], plazma ile işlem görmüş marul yapraklarının yüzey morfolojisini SEM yöntemiyle incelemiştir. Kontrol grubundaki marul yaprakları, kalın trombosit yapıları içeren geniş alanlar ve küçük boyutlu granüler yapılar sergilemiştir. Buna karşın, plazma uygulanan yaprakların yüzeyi pürüzlü hale gelmiş ve işlem süresinin artmasıyla birlikte granüler yapılar kaybolmuştur. Sonuç olarak, yaprak yüzeylerinin ıslanabilirliği artmıştır. Bozulmamış yaprak yüzeyleri hidrofobik özellik gösterirken, doğrudan plazma işlemine maruz kalma, temas açısını 180 saniyelik işlem süresi sonunda 34 dereceye kadar düşürmüş ve yüzeylerin daha hidrofilik hale gelmesine neden olmuştur [179].

Tohumlarda ortaya çıkan hızlandırılmış çimlenme oranlarının yanı sıra, bitki materyalleri üzerine hasat sonrası plazma uygulaması, bitkilerin ikincil metabolizmasının stres kaynaklı modifikasyonu ve yoğunlaştırılması için hedefli bir araç olarak kullanılabilir ve dolayısıyla fitokimyasalların ortaya çıkma olasılığı için sonuç olarak kullanılabilir. Ayrıca, bitki materyalinin gıda için plazmayla işlenmesi, gıda matrisinin yapısını değiştirebilir; bu, matris içinde sindirilen fitokimyasalların biyoyararlılığı açısından büyük önem taşır. Ancak plazmada bulunan türlerin gıdalardaki diyetdeki biyoaktif bileşiklerle etkileşimleri tam olarak anlaşılamamıştır [180, 181].

Grzegorzewski ve arkadaşları [178], hem atmosferik hem de düşük basınçta farklı besleme gazları (argon, oksijen) ve uyarma kaynakları (radyo frekansı, mikrodalga) kullanarak 1,4-benzopiron türevlerini farklı ABSP deşarjlarına maruz bırakmıştır. Yapılan çalışmada, kimyasal reaksiyonlarda yapıya bağlı bir bozulma gözlenmiştir.

Chen [182], düşük basınçlı plazma işleminin uzun taneli kahverengi pirincin özellikleri üzerindeki etkisini araştırmış ve kahverengi pirinç yüzeyinin mikro yapısını ve plazmayla işlenmiş kahverengi pirincin pişme, dokusal ve yapıştırma özelliklerini belirlemiştir.

Kahverengi pirinç, havada 1, 2 ve 3 kV voltaj ayarlarında 30 dakika süreyle işleme tabi tutulmuştur. Plazma işlemine maruz kalma, kahverengi pirinç yüzeyinin aşındırılmasıyla sonuçlanmış ve bu da suyun, ıslatma sırasında pirinç çekirdeği tarafından kolayca emilmesine olanak sağlamıştır. Bu, kahverengi pirincin pişirme süresinde, uzama oranında, genişlik genişleme oranında, su emiliminde ve pişirme kaybında azalmaya yol açmıştır. Plazma pirincin yapışma özelliklerini daha da değiştirmiş ve viskozitesinde ve parçalanmada önemli bir azalma tespit edilmiştir. Kahverengi pirincin nişasta yapısının düşük basınçlı plazmadan etkilendiği gösterilmiş; ek olarak, entalpi ve kristallikteki azalmalar, diferansiyel taramalı kalorimetre ve X-ışını difraktometresi ile ölçülmüştür. Basmati pirinci için de benzer plazma kaynaklı etkiler rapor edilmiştir [183].

Misra ve arkadaşları [174], güçlü ve zayıf buğday unlarının yapısal ve fonksiyonel özelliklerini değiştirme potansiyeline sahip bir yöntem olarak ABSP'nin etkilerini incelemiştir. Daha önce yapılan çalışmalar, ozonun buğday ununun fonksiyonel özelliklerinde değişikliklere yol açtığını göstermiştir. Bu doğrultuda, bir dielektrik bariyer deşarjlı plazma cihazı kullanılarak işlem gerçekleştirilmiş ve çalışma gazı olarak hava tercih edilerek yüksek ozon konsantrasyonu elde edilmiştir. Yapılan analizler, plazma işlemlerinin voltaj seviyesine ve işlem süresine bağlı olarak buğday unundan üretilen hamurun viskoelastik özelliklerinde artışa neden olduğunu ortaya koymuştur. Bu etkilerin, FTIR spektroskopisiyle yapılan ölçümler sonucunda gluten proteinlerinin ikincil yapısındaki değişimlerle ilişkili olduğu belirlenmiştir [184].

Plazma teknolojinin gıda sektöründeki bir başka potansiyel uygulaması, ürün yüzeylerinin hedeflenen modifikasyonunu veya işlevselleştirilmesini de amaçlayabilir. Şu ana kadar plazmanın uygulama odaklı kullanımıyla ilgili çok az literatür mevcuttur. Gıda sektöründe plazma uygulamasıyla ilgili plazma kaynaklarının çoğu, sürekli endüstriyel üretime veya bitirme hatlarına kolayca entegre edilebildiğinden, işlenmiş gıdaların plazma kullanılarak yüzey işlemine tabi tutulması ümit verici görünmektedir [185].

ABSP'nin gıda bileşenleri üzerindeki ana etkilerine bakıldığında, gıda yüzeyine giderken, bir plazma kaynağı tarafından üretilen reaktif türler çevredeki havanın molekülleri ile temasa geçerek daha fazla ROS ve RNS'nin oluşmasına neden olur. Yüzeye ulaştıktan sonra farklı şekillerde hareket edebilirler; orada emilebilirler, yüzeyden geçebilirler veya yüzeyle kimyasal reaksiyonlar başlatabilirler. Son olarak, desorbsiyon yoluyla da uzaklaştırılabilirler ve

desorbe edilen türler ile yeni reaktif türler arasında rekombinasyonun meydana gelebileceği gaz fazına geri dönebilirler [186].

ABSP'nin katı gıdalara uygulanması çoğunlukla yüzeylerini etkilerken (örneğin işlevselleştirme ve aşındırma meydana gelebilir ve reaktif türlerin nüfuzu sınırlıdır), sıvı gıda matrisleri ilave bir reaktif ortamı temsil etmektedir. Su ve diğer moleküllerle etkileşimleri nedeniyle ROS ve RNS, çok çeşitli zincir reaksiyonları başlatarak çok çeşitli farklı türlerin ortaya çıkmasına neden olur. Bu sonuçta proteinler, karbonhidratlar ve lipitler gibi bileşenlerin oksidasyonu ile sonuçlanabilir. Enzimlerin aktivitesi ayrıca amino asit oksidasyonu, hidrojen bağının bozulması ve prostetik grup modifikasyonunun bir sonucu olarak da etkilenebilir. Ayrıca etkileşim oksidasyon ürünleri ile antioksidanlar gibi diğer bileşikler arasındaki ilişkilerin dikkate alınması gerekir. Bu molekül-molekül etkileşimlerinin karmaşıklığı, uygulamaya özel proses tasarımının önemini vurgulamaktadır [133].

Kalite tüm gıda maddeleri için bir zorunluluktur. Yiyecek hazırlarken çok fazla ısı kullanmak, besin kaybı, renk ve doku değişiklikleri ve daha fazlası gibi olumsuz etkilere neden olabilir. ABSP, termal olmayan bir işlem teknolojisi olarak büyük potansiyel göstermiştir [187, 188].

Başaran ve arkadaşları [67], ABSP uygulamasının fındıkların yüzey morfolojisi üzerindeki duyu etkilerini incelemiştir. Plazma işlemine maruz kalan fındıkların yüzey özelliklerinde görsel değişiklikler hemen kaydedilmiş, ancak yüzey görünümünde belirgin bir farklılık gözlemlenmemiştir. ABSP ile işlenen fındıklar, işlenmemiş fındıklarla karşılaştırıldığında koku, görünüm, doku ve genel kabul edilebilirlik açısından dikkate değer bir fark göstermemiştir.

Iqdiya ve arkadaşları [189], ABSP ile muamele edilen buğday tohumlarının kalitesi, rengi ve çimlenme oranını incelemiş ve bu parametrelerde anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir. Hu ve arkadaşları [190] ABSP işleminden sonra yaban mersini yüzey sıcaklığındaki değişimleri ölçmüştür. 20 dakikalık ABSP uygulaması sonrasında yaban mersini yüzey sıcaklığında 17,1°C'lik bir artış gözlemlenmiştir. Bu nedenle, ABSP işlemi sonrasında gıda yüzey sıcaklığının aşırı yükselmemesi önemlidir, aksi takdirde gıda kalitesinde bozulmalar meydana gelebilir.

1.2.4. Mikotoksinlerin Toksisitesi ve Parçalanma Ürünleri

Hojnik ve arkadaşları [191], ABSP uygulamasının ardından HepG2 hücrelerinde AFB₁'in toksisitesinin belirgin bir şekilde azaldığını tespit etmiştir. Bunun yanı sıra, plazma ile işlem görmüş AFB₁ örneklerinin genotoksik etkilerini incelemiş ve bu etkilerin HepG2 hücrelerinde DNA iplikçiklerinde kırılmalara neden olup olmadığını araştırmışlardır. ABSP uygulama süresinin uzamasıyla birlikte, DNA iplikçik kırılmalarının daha az sıklıkla meydana geldiği gözlemlenmiştir.

Literatürde, mikotoksinlerin detoksifikasyonu için ABSP, DBD, mikrodalga plazma ve korona deşarj plazma jet gibi farklı plazma türlerinin kullanıldığı belirtilmektedir. Plazma türünün etkinliği, hedef alınan mikotoksin türüne göre değişiklik göstermektedir. Örneğin, ABSP Aflatoksinler ve Zearalenon üzerinde etkili bulunurken, DBD plazma özellikle Deoksinivalenol ve Okratoksin A gibi toksinlerde yüksek başarı oranına sahiptir. Bu etkinlik düzeyi, uygulamada kullanılan voltaj, frekans ve süre gibi işlem parametrelerinden etkilenmektedir. DBD plazma kısa sürelerde yüksek etkinlik göstererek, Aflatoksin B₁ için 5 saniyede %100 parçalanma sağlamıştır. Buna karşın, ABSP daha uzun sürelerde etkili olmakta ve aynı toksin için %72,5 düzeyinde parçalanma oranına ulaşmaktadır [192, 193, 194].

Plazma uygulamalarının etkinliği, toksinlerin bulunduğu gıda matrisine de bağlıdır. Yer fıstığı, fındık ve mısır gibi farklı gıda matrislerinde toksinlerin plazmaya duyarlılığı değişiklik göstermektedir. Bu bağlamda, rutubet oranı, gaz akışı ve matrisin bileşim özellikleri gibi faktörler, plazmanın detoksifikasyon etkinliğini doğrudan etkilemektedir. Literatürde, plazma uygulamalarının toksinlerin kimyasal yapısını bozarak detoksifikasyon sağladığı ve bazı çalışmalarda %100'e varan oranlarda toksin giderimi sağlandığı rapor edilmiştir. Örneğin, OTA için plazma jet uygulamalarıyla %100 detoksifikasyon sağlanmıştır [192, 193, 194].

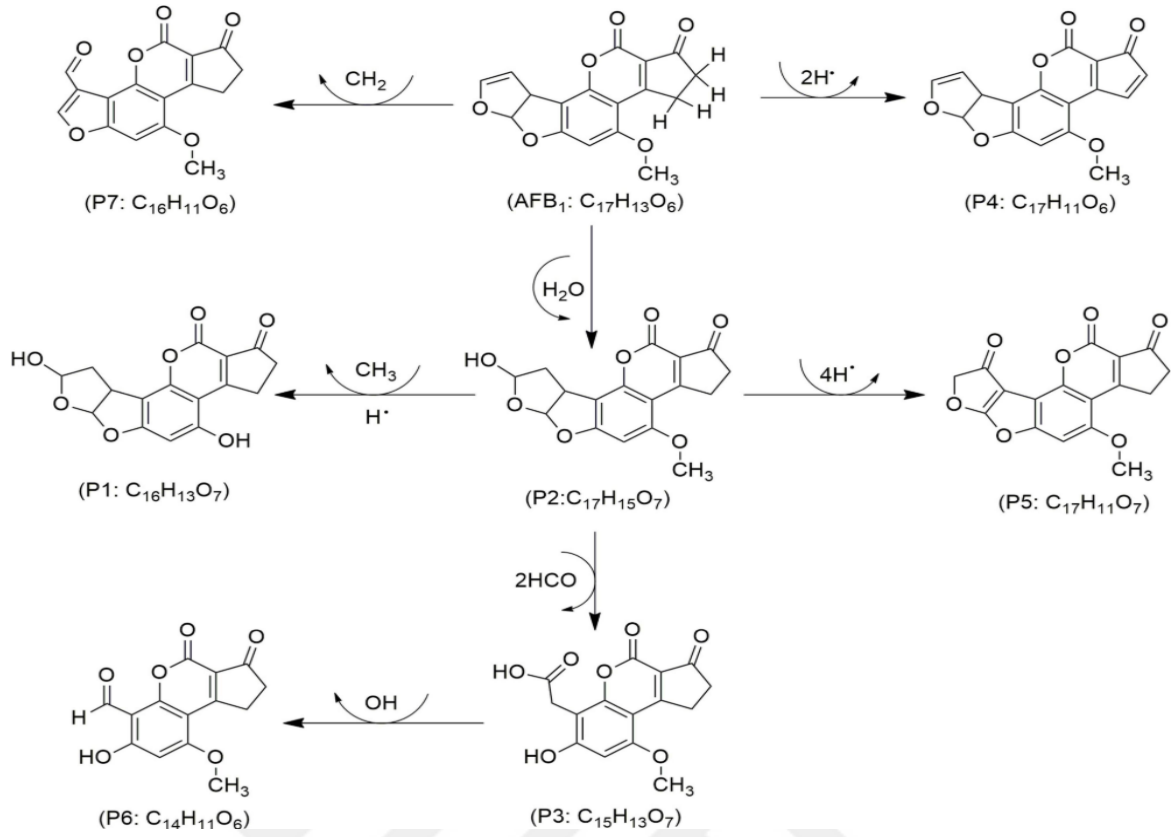
Toksin türüne göre uygulama süreleri farklılık göstermektedir. DON gibi toksinler için kısa süreli uygulamalar yeterli olurken, aflatoksinlerde daha uzun süreler gerekebilmektedir. ABSP genel olarak toksinler üzerinde orta-yüksek başarı oranına sahipken, DBD plazma daha hızlı ve etkili sonuçlar vermektedir. Ancak, DBD'nin enerji tüketimi, maliyet ve uygulanabilirlik açısından daha detaylı değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu bilgiler ışığında, atmosferik basınç soğuk plazma ve diğer plazma teknolojilerinin mikotoksinlerin güvenli bir şekilde azaltılmasında etkili olduğu, ancak farklı gıda matrislerinde bu teknolojilerin uygulanabilirliğinin optimize edilmesi gerektiği sonucuna ulaşılmaktadır. Mikotoksinler

üzerine çeşitli soğuk plazma uygulamalarının yapıldığı çok sayıda araştırma bulunmaktadır [192, 193, 194]. Bu araştırmaların özetleri EK-7’de tablo halinde sunulmuştur.

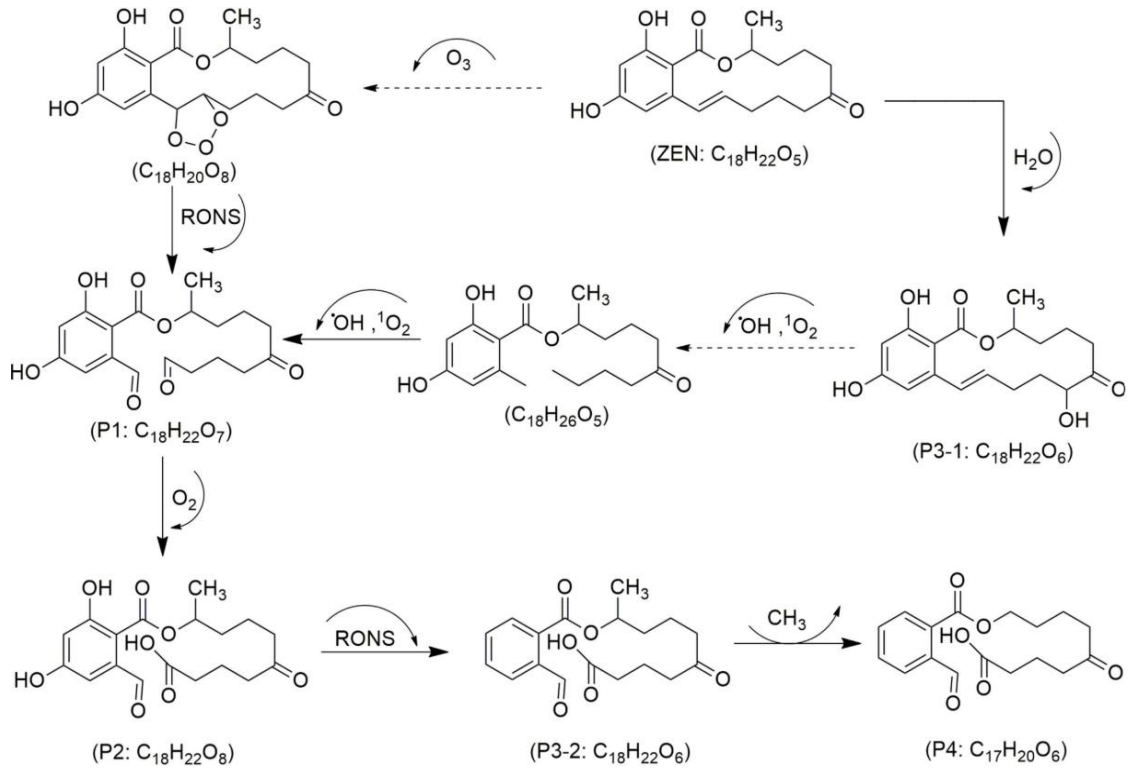
Çalışmalar aynı zamanda gıda sektöründe ABSP kullanımları için çok önemli olan ABSP işleminin ardından üretilen mikotoksin parçalanma ürünlerinin toksisitesine de odaklanmaktadır. Park ve arkadaşları [68], fare makrofaj hücre dizisi RAW264,7’yi kullanarak mikrodalga deşarjlı plazma işleminden sonra AFB₁, DON ve NIV’in sitotoksitesini değerlendirmiştir. İşlenmemiş DON, AFB₁ ve NIV standartlarıyla aşılama, RAW264,7’nin hücre canlılığını önemli ölçüde azaltmıştır. Buna karşılık, 5 saniyelik plazma uygulaması bu mikotoksinlerin hücresel öldürücülüğünü %100 azaltmıştır. Yukarıda bahsedilen bulgular ABSP’nin mikotoksin toksisitesini başarılı bir şekilde azaltabildiğini göstermektedir.

Casas-Junco ve arkadaşları [47], ABSP uygulamasından önce ve sonra OTA içeren kahvenin toksisitesini belirlemek için salamura karidesini kullanmıştır. Muamele edilmemiş OTA ile ortak kültür halobakterilerin ölüm oranını arttırırken, ABSP ile muamele edilmiş OTA ile ortak kültür larvaların ölüm oranını azaltmıştır. Mikotoksinlerin çoğu hepatotoksik olduğundan, özellikle de sınıf I kanserojen olan AFB₁ olduğundan, Wielogorska ve arkadaşları [70] tarafından DBD plazma jet uygulamasının AFB₁ ve yan ürünlerinin toksisitesi üzerindeki etkisini incelemek için insan hepatokarsinomu (HepG2) hücreleri kullanıldı. Uygulama yapılmayan AFB₁ ile hücre sayısı %80’e düşerken, ABSP uygulanan AFB₁ hücre sayısını %42’den %61’e çıkarmıştır.

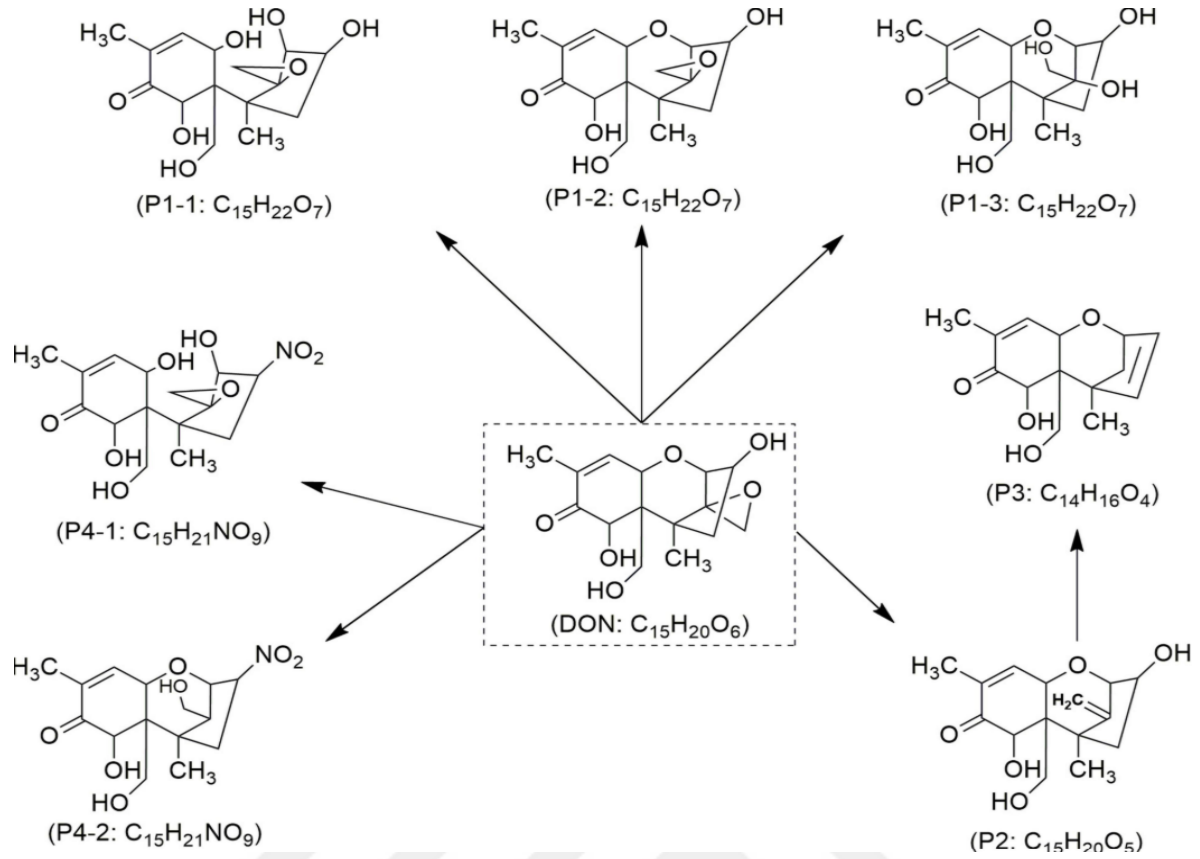
Parçalanma ürünlerinin toksisitesinin azalması, bu fonksiyonel grupların yapı-aktivite ilişkisine göre ABSP tarafından değiştirilmesine bağlı olabilir. Mevcut bulgulara dayanarak ABSP, mikotoksinlerin parçalanması ve detoksifikasyonu için yararlı bir araç olarak kabul edilebilir. Ancak mikotoksinlerin bozulması, mikotoksin toksisitesindeki azalmaya eşit değildir. Mikotoksinler ayrıca ABSP işleminden sonra daha fazla toksik madde üretebilir. Sonuç olarak, ABSP’nin her bir mikotoksini parçalama veya detoksifiye etme yeteneği ayrıntılı olarak incelenmelidir. Aşağıdaki şekillerde bazı mikotoksinlerin soğuk plazma sonrası parçalanma ürünleri yer almaktadır [192].



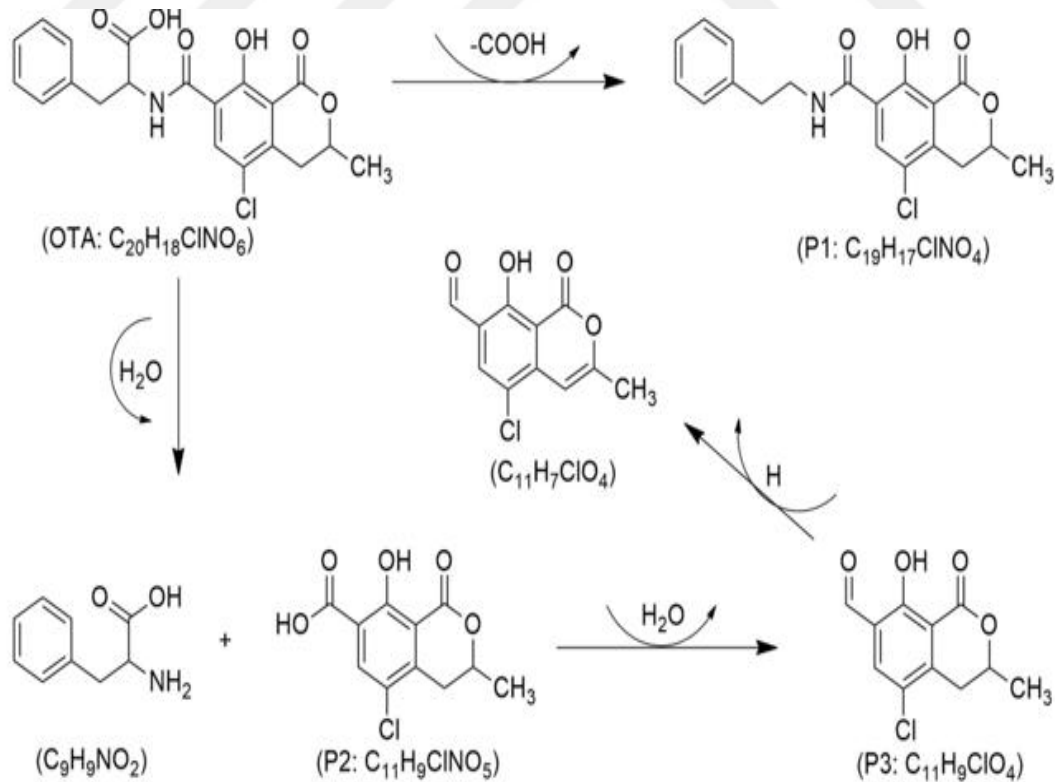
Şekil 1.9 Soğuk plazma ile işlemden sonra Aflatoksin B₁ bozunma ürünleri [192]



Şekil 1.10 Soğuk plazma ile işlemden sonra Zearalenon bozunma ürünleri [193]



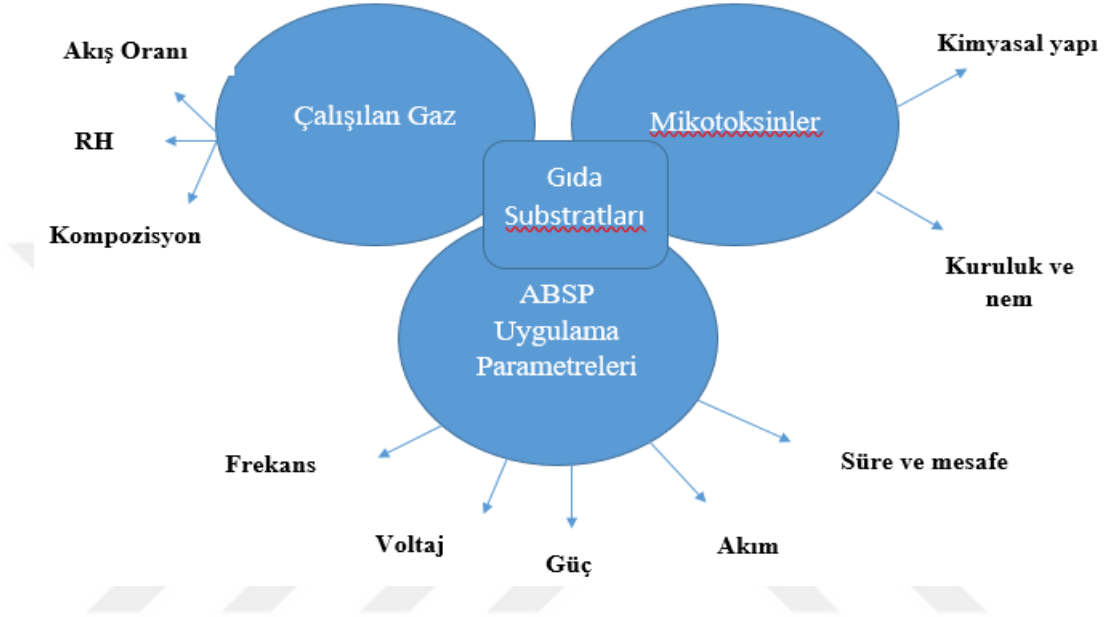
Şekil 1.11 Soğuk plazma ile işlemden sonra Deoksinivalenol bozunma ürünleri [194]



Şekil 1.12 Soğuk plazma ile işlemden sonra Ochratoxin A bozunma ürünleri [193]

1.2.5. ABSP'nin Mikotoksinlerin Detoksifikasyonu Üzerine Etkisi

ABSP'nin mikotoksinlerde neden olduğu bozunma, temel olarak deşarj tipi, işleme argümanları (zaman ve numunelerin elektrotta kadar olan aralığı gibi) ve mikotoksinlerin karakteristiği (kimyasal yapılar ve içerik gibi) ve gıdaların doğası dahil olmak üzere çeşitli içsel ve dışsal parametrelerden etkilenmektedir [195].



Şekil 1.13 ABSP'nin mikotoksinleri parçalama etkinliğini etkileyen faktörler

ABSP'nin etkinliğinin plazma moduna ve deşarj parametrelerine (örneğin güç, voltaj, akım ve frekans) bağlı olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Wang ve arkadaşlarının [195] tespitinde olduğu gibi, ABSP deşarj gücünün bozunma oranıyla yakından ilişkili olduğu bildirilmektedir. Bu kapsamda 100-300 W arasında değişen deşarj güçlerinde bozunma etkinliği %58,2'den %88,3'e yükselmiştir. Siciliano ve arkadaşları [196] benzer sonuçlar keşfetmiştir. Frekans ve akımın deşarj gücünü etkileyen önemli parametreler olması nedeniyle Puligundla ve arkadaşları [197], deşarj akımının toksin bozulması üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Akımın 1-1,5 A arasında değiştiğinde AFB₁'in eliminasyon oranında artış meydana geldiği belirlenmiştir. Sakudo ve arkadaşları [198], ABSP deşarj gücü ve akımına ek olarak, deşarj frekansının AFB₁'in cam levhalar üzerindeki bozunma verimliliği üzerindeki etkisini değerlendirmek için N₂ soğuk plazmayı kullanmıştır. Farklı frekanslarla plazma işleminden sonra AFB₁ içeriği, sırasıyla 200,01 ppb'den 135,66, 56,03 ve 12,4 ppm'ye düşmüş; bu, N₂ soğuk plazmanın, AFB₁'i daha yüksek deşarj frekanslarında daha etkili bir şekilde bozduğunu göstermiştir.

ABSP sisteminde oluşan reaktif oksijen (ROS) ve nitrür türlerinin (RONS) konsantrasyonu ve bileşimi, deşarj sırasında uygulanan güce ve bu gücün değiştirilmesine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Daha basit bir ifadeyle, düşük deşarj gücüyle çalışan ABSP, düşük seviyelerde RONS üretir ve ağırlıklı olarak reaktif oksijen türlerinden oluşur. Buna karşılık, yüksek deşarj gücüyle çalışan ABSP, yüksek miktarda RONS üretir ve bu türlerin büyük kısmını nitrojen oksitler ($NxOy$) gibi reaktif nitrür türleri (RNS) oluşturur [199, 200].

Uygulama süresi ve ışınlama mesafesi, mikotoksinlerin ABSP tarafından parçalanmasının etkinliğinin belirlenmesinde önemli faktörlerdir. Birçok araştırmaya göre ABSP uygulama süresinin uzaması, mikotoksinlerin daha yüksek oranda bozulmasına yol açmıştır. Shi ve arkadaşlarına [201] göre, uygulama süresinin 90kV'de 1 dakikadan 30 dakikaya uzatılması, AF'lerin giderilme oranında %57,15'ten %90,48'e bir iyileşme ile sonuçlanmıştır. Diğer mikotoksinler de benzer etkiler göstermiştir. Bu sonucun nedeni ABSP uygulama süresi arttıkça çok daha fazla aktif türün birikmiş olması olabilir. Numune ile elektrot arasındaki boşluk aynı zamanda mikotoksinlerin bozulmasını da etkiler.

Hajnal ve arkadaşlarının [53] çalışmasında, plazma ışınlama mesafesindeki artışın, AOH ve AME'nin uzaklaştırılma oranlarını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. AOH ve AME'nin giderilme oranları, 6 mm mesafede sırasıyla %60,7 ve %73,8'e ulaşmış ve bu oranlar, 40 mm mesafedeki mikotoksin uzaklaştırma oranlarından çok daha yüksek bulunmuştur. Puligundla ve arkadaşları [197], ABSP'nin AFB1 bozunumu üzerindeki mesafe değişiminin etkisini inceleyerek benzer sonuçlara ulaşmıştır. Bu sonuçlar, mikotoksinlerin kısa ışınlama mesafelerinde, uzun ömürlü ve kısa ömürlü reaktif gaz türlerinin bir arada etkisiyle bozulduğu gerçeğiyle açıklanabilir. Buna karşılık, uzun ışınlama mesafelerinde, kısa ömürlü aktif türlerin sönümlenmesi nedeniyle mikotoksinlerin yalnızca uzun ömürlü aktif türler tarafından parçalandığı görülmüştür.

Bağıl nem (RH), akış hızı ve çalışma gazının bileşimi, ABSP'nin etkinliğini önemli ölçüde etkiler. Siciliano ve arkadaşları [182], AF'lerin bozunmasını farklı çalışma gazı bileşimleriyle ilişkilendirerek incelemiştir. %100 N_2 gazı kullanıldığında, AFB₁ ve AF'ler sırasıyla %100 ve %86,95 oranında parçalanmış ve bu süreç 4 dakika sürmüştür. Ancak, çalışma gazına O_2 konsantrasyonu eklendiğinde bozunma verimliliğinde azalma görülmüştür. Öyle ki, O_2 içeriği %21'e çıktığında 4 dakika sonunda mikotoksin bozunması neredeyse hiç gerçekleşmemiştir. Wielogorska ve arkadaşlarına [70] göre, He plazması, mikotoksinlerin parçalanmasında, He ve O_2 karışımı plazmaya kıyasla daha etkili bulunmuştur. Bunun nedeni,

elektronegatif O₂ ile etkileşimde bulunan elektronların oksijen radikalleri ($\cdot\text{O}$) ve ozon (O₃) oluşturarak plazma yoğunluğunu azaltması ve ışık parlaklığını düşürmesi olabilir [201]. ABSP sistemindeki reaktif türler, plazmanın çalışma gazıyla doğrudan ilişkilidir. Iqdam ve arkadaşları [18], optik emisyon spektroskopisi (OES) kullanarak farklı çalışma gazlarında üretilen plazma aktif türlerini analiz etmiştir. Çalışmalarında, hava plazmasında oluşan nitröz gazlar (NO_x, NO, NO₂), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve ozon (O₃) gibi RONS konsantrasyonlarının, N₂ veya N₂ ve O₂ karışımlarından üretilen plazmalara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. RONS, ABSP'nin mikotoksinleri parçalama mekanizmasında kilit bir role sahiptir.

Farklı çalışma gazı bileşiminin yanı sıra, besleme gazının bağıl nem değeri de ABSP tarafından mikotoksin bozunmasından sorumludur. Shi ve arkadaşları [200], mısır tanelerindeki AFB₁ bozunmasının, havanın bağıl neminin %5 ila %80 arasında değişmesiyle %66,4'ten %80,4'e arttığını bildirmiştir; bu, daha yüksek hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) seviyeleriyle açıklanabilir. Feizollahi ve arkadaşları [202], arpada DON'un DBD ile bozunması sırasında, havanın bağıl nem oranı %12'den %60'a yükseldiğinde DON bozunmasında gözle görülür bir değişiklik olmadığını keşfetmiştir. Aşırı yüksek RH, sadece dielektrik malzemelerin yüzey direncini ve mikro deşarj miktarını azaltmakla kalmayıp aynı zamanda elektron enerjisindeki dengesizlik nedeniyle elektron-molekül çarpışmalarında plazmayı zayıflatmış için bu olguya katkıda bulunan bir faktör olabilir. Yüksek bağıl nem düşüşlerinin varlığında, UV radyasyonu iyi iletilmez ve mikotoksinlerin etrafını bir su tabakası kaplar, bu da çözünme verimliliğinin azalmasına neden olur [203, 204, 205].

Mikotoksinlerin mekansal yapısı ve molekül içindeki bağ kuvvetleri, bu maddelerin ABSP ile tetiklenen bozunma sürecinde önemli bir etkiye sahiptir. Ten Bosch ve arkadaşları [205], sterigmatosistinin yoğunlaştırılmış aromatik halkalar içeren kompakt yapısının, ABSP tedavisi sırasında uzun bir yarı ömre sahip olduğunu belirlemiştir. Buna karşın, yapısal olarak benzer toksinler olan FB1 ve AAL'nin hızlı bir şekilde parçalandığı gözlenmiştir. Wielogorska ve arkadaşları [70] ise benzer bir durumu incelemiş ve mikotoksinlerin ABSP ile parçalanma verimliliğini şu şekilde sıralamıştır: DON < AFB₁ < OTA < ENB < FB1 < ZEN. Aromatik halkalar içeren mikotoksinler, yapılarının kompakt ve stabil olması nedeniyle plazma tarafından tetiklenen bozunmaya karşı daha dirençli olabilir. AFB₁ ve AFG₁'in, AFB₂ ve AFG₂'ye kıyasla ABSP tedavisine daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Bunun nedeni, O₃'ün AFB₁ ve AFG₁'in çift bağlarına doğrudan saldırabilmesidir [196].

Feizollahi ve arkadaşları, mikotoksinlerin fiziksel durumunun ABSP'nin bozunma verimliliği üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermiştir. Kuru bir ortamda, DBD plazma ile yapılan 30 saniyelik bir işlem sonucunda ZON'un %66,8'i parçalanırken, çözeltide ZON'un %100 oranında uzaklaştırıldığı tespit edilmiştir. Benzer bir durum, DON'un DBD plazmasıyla bozunmasında da gözlemlenmiştir [52]. ABSP tarafından üretilen RONS, nitrit asit (HNO_2) ve nitrik asit (HNO_3) gibi bileşikler oluşturarak ortamın asitliğini artırabilir. Bu durum, ozonun sıvı ortam içinde daha hızlı bir şekilde difüze olmasını sağlar [207, 200]. Bununla birlikte, gaz fazındaki RONS, su ile etkileşime girerek hidroksil radikalleri ($\cdot\text{OH}$), hidroperoksil radikalleri (HO_2) ve peroksinitroz asit (ONOOH) gibi oldukça reaktif türler üretebilir [208, 209]. Bu faktörlerin tümü, sıvı ortamlarda mikotoksinlerin ABSP ile daha etkili bir şekilde bozunmasına katkı sağlar.

Gıda ürünlerinin yüzey alanı, pürüzlülüğü ve bileşimi gibi özellikler, mikotoksinlerin ABSP ile bozunmasını doğrudan etkileyebilir. Puligundla ve arkadaşları [197], ABSP uygulandıktan sonra pirinç ve buğdayda AFB_1 'in bozunma oranının, cam slaytlara kıyasla nispeten düşük olduğunu belirlemiştir. Feizullahi ve arkadaşları [52], kanola ve arpa tanelerinde bulunan tanecikler arası boşlukların, daha sıkı yapıya sahip olan kanola küspesine göre O_3 ve H_2O_2 gibi reaktif türlerin oluşumunu daha fazla desteklediğini ifade etmişlerdir. Bu durum, ABSP'nin mikotoksin bozunma sürecinde substrat özelliklerinin önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Mikotoksinler, gıdanın yüzeyindeki çatlaklar ve oyuklar içinde saklanarak ABSP sisteminde üretilen reaktif türlerle temaslarını sınırlayabilir. Gıdanın kabuğundaki pürüzlülük ya da pürüzsüzlük, reaktif türler ile mikotoksinlerin temas alanını etkileyerek bozunma verimliliğini değiştirebilir. Ayrıca, gıdanın suda çözünürlüğü, su tutma kapasitesi ve boyutu gibi diğer fiziksel ve kimyasal özellikler, ABSP'nin mikotoksinlere etkisini artırabilir veya azaltabilir. Bu nedenle, gerçek gıda matrislerinde mikotoksinlerin ABSP ile bozunmasını optimize etmek, gelecekteki araştırmalar için kritik bir öneme sahiptir. Tez kapsamında yapılan deneylerde, ABSP'nin doğal olarak toksin içeren örneklerde aflatoksin bozunmasında daha az etkili olduğu gözlemlenmiştir. Ancak, toksin ilave edilen örneklerde ABSP'nin daha başarılı olduğu ve en yüksek etkinliğin toksin standart çözeltileri üzerinde gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu bulgular, ABSP uygulamalarında gıda matrisinin belirleyici bir faktör olduğunu ortaya koymaktadır [210].

Mikotoksinlerin bozunması, ABSP'nin tetiklediği birden fazla mekanizma ile ilişkilidir. ABSP tarafından üretilen reaktif türlerin, mikotoksinlerin moleküler yapısını parçalaması, bu bozunma sürecine en büyük katkıyı sağlayan faktör olarak değerlendirilmektedir [179]. AF'lerin toksisitesinin temel nedeni, furan halkasındaki C8=C9 çift bağıdır [43]. DON'un toksisitesine ise C3 pozisyonundaki hidroksil grubu (OH), C9=C10 çift bağları ve C12 ile C13 pozisyonlarında bulunan epoksi grupları başlıca katkıda bulunmaktadır [50]. ABSP'nin etkisiyle mikotoksin moleküllerinin yapısında meydana gelen değişiklikler, bu maddelerin toksisite seviyelerini de doğrudan etkileyebilir.

1.2.6. ABSP'nin Geliştirilmesi Gereken Yönleri

Soğuk plazma teknolojisinin mikotoksinlerin detoksifikasyonundaki etkisi, literatürde geniş bir araştırma alanı sunmakla birlikte bazı önemli eksiklikler dikkat çekmektedir. Öncelikle, soğuk plazma işlemi sırasında meydana gelen bozunma ürünlerinin kimyasal yapıları ve bu ürünlerin toksikolojik güvenliği hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu durum, özellikle gıda güvenliği açısından kritik bir boşluk yaratmaktadır. Mikotoksinlerin bozunma mekanizmalarının tam olarak anlaşılmaması, bu teknolojinin güvenliğini değerlendirmeyi zorlaştırmaktadır. Ayrıca, plazmanın farklı gıda matrislerinde nasıl bir etki gösterdiğine dair sınırlı araştırma bulunmaktadır. Heterojen gıda matrislerinde soğuk plazma uygulamalarının beklenen etkinliği tam olarak elde edilememiş ve matrisin karmaşıklığının plazmanın nüfuz etme kabiliyeti üzerindeki etkileri tam olarak açıklanamamıştır. Bir diğer eksiklik, plazma uygulamalarında optimum işlem parametrelerinin (örneğin, gaz türü, işlem süresi, enerji seviyesi ve rutubet içeriği) belirlenmesine yönelik kapsamlı çalışmaların yetersizliğidir. Bu parametrelerin optimize edilmesi, hem laboratuvar hem de endüstriyel ölçekte uygulanabilirliği artırmak için kritik öneme sahiptir. Ancak, mevcut çalışmaların çoğu laboratuvar ölçeğinde gerçekleştirilmiş olup, endüstriyel uygulamalara dair veri eksikliği bulunmaktadır. Endüstriyel ölçekte teknolojinin ekonomik sürdürülebilirliği, süreç verimliliği ve gıda güvenliğiyle uyumu konusunda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Soğuk plazmanın uzun vadeli etkileri de yeterince araştırılmamış bir diğer konudur. Mikotoksinlerin sindirim sistemindeki biyoyararlanımı, plazma uygulamasının bu toksinleri biyolojik olarak ne kadar inaktif hale getirdiği ve bozunma sonrası oluşan ürünlerin insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri hakkında bilgi sınırlıdır. Bunun yanı sıra, farklı gaz türlerinin mikotoksin bozunmasındaki etkinliği ve bu gaz karışımlarının gıdaların duyu ve besin değerleri üzerindeki etkileri üzerine daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Son olarak, çoğu çalışma, yapay olarak toksin eklenmiş örneklerle laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmiş olup, doğal olarak kontamine olmuş ürünlerde soğuk plazma teknolojisinin etkisini inceleyen araştırmalar sınırlıdır. Doğal ürünlerdeki mikotoksinlerin detoksifikasyonu sırasında yağ oksidasyonu, yüzey morfolojisi, protein ve nişasta gibi kalite parametrelerinin nasıl etkilendiği yeterince incelenmemiştir. Bu eksiklikler, soğuk plazma teknolojisinin mikotoksin detoksifikasyonu ve gıda güvenliği alanında etkili ve güvenilir bir şekilde uygulanabilmesi için çözülmesi gereken önemli sorunlar olarak öne çıkmaktadır [211, 212, 213, 214, 215, 216].

1.3. Çalışmanın Amacı ve Kapsamı

Bu çalışma, yenilikçi bir yöntem olan ABSP teknolojisini, insan ve hayvan sağlığı üzerinde ciddi olumsuz etkiler yaratan, ekonomik kayıplara yol açan ve uluslararası ticarete sorunlara neden olan mikotoksinlerin bozunması üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçlamaktadır. Mikotoksinler arasında Aflatoksin B₁, Aflatoksin B₂, Aflatoksin G₁, Aflatoksin G₂ ve Toplam Aflatoksin (B₁, B₂, G₁, G₂), Okratoksin A, Zearalenon, Deoksinivalenol ve Fumonisin B₁ ve B₂ yer almakta olup, bu toksinlerin ABSP yöntemiyle detoksifikasyonu araştırılmıştır. ABSP, işlem süresinin kısalığı, düşük maliyeti, etkinliği ve kalıntı bırakmaması gibi avantajlarıyla dikkat çeken, araştırılması gereken bir teknik olarak öne çıkmaktadır.

Soğuk plazma uygulamaları, gıda güvenliğinde nispeten yeni ve gelişmekte olan bir çalışma alanıdır. Bu çalışmada, detoksifikasyon işlemlerinin başarıyla gerçekleştirilmesi hedeflenmekte olup, elde edilecek sonuçların literatüre önemli katkılar sağlaması beklenmektedir. ABSP teknolojisini yaygınlaşması, ticarete mikotoksin kaynaklı sorunların çözümüne destek olabileceği gibi, depolama süreçlerinde küf gelişimi nedeniyle yaşanan ürün kayıplarını azaltma ve kanserojen etkili metabolitlerin etkisini en aza indirme potansiyeli taşımaktadır. Özellikle gıda işleme tesislerinde, ABSP'nin işleyiş protokollerine entegre edilmesiyle daha güvenilir ve sürdürülebilir bir gıda üretim sistemi oluşturulabileceği düşünülmektedir.

Çalışma kapsamında, laboratuvar ölçekli plazma cihazlarının sınırlarını aşarak gerçek gıda matrislerinde birden fazla mikotoksin üzerinde ABSP uygulamasının etkinliği araştırılmıştır. Bu bağlamda, doğal toksin içeren ve mikotoksinlerle zenginleştirilmiş numunelere ABSP uygulanarak, mikotoksinlerin yasal limit değerlerin altına düşürülmesi

hedeflenmiştir. Ayrıca, uygulanan plazma işleminin gıdaların fiziksel ve kimyasal kalite özelliklerine etkileri de detaylı analizlerle değerlendirilmiştir.

Deneysel çalışmalar, kuru hava kullanılan ABSP yönteminin farklı sürelerde uygulanmasıyla oluşabilecek fiziksel ve kimyasal değişimlerin yanı sıra mikotoksin degradasyonu üzerindeki etkileri ortaya koymayı amaçlamaktadır. Bu bulgularla insan sağlığı, hayvan sağlığı, çevre güvenliği, ekonomi, ticaret ve sürdürülebilir tarım alanlarında olumlu etkiler yaratılması hedeflenmektedir.

Bilim dünyasında, ABSP uygulamalarının gıdaların temel içeriği ve besin değerine etkisi konusunda tartışmalar sürmektedir. Çalışmanın temel hedeflerinden biri de bu sorulara yanıt bulmak ve tüketicilerin güvenliğini ön planda tutarak bu çelişkileri çözmektir. Bu kapsamda, planlanan deneyler ve analizler aracılığıyla, ABSP'nin hem mikotoksinlerin detoksifikasyonu hem de gıdaların besinsel ve duyuşal özellikleri üzerindeki etkileri kapsamlı şekilde ele alınmıştır. Çalışma, bu yenilikçi teknolojinin potansiyel faydalarını açığa çıkararak gıda güvenliği ve sürdürülebilirliğine yönelik önemli katkılar sunmayı hedeflemektedir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Bu çalışmanın materyal kısmında kullanılan karışık kuruyemiş, buğday ve mısır örnekleri Şekil 2.1’de gösterilmektedir. Çalışmada üç farklı türde materyal kullanılmıştır.

Karışık kuruyemişler, çeşitli kuruyemiş türlerini içeren bir karışımdan oluşmaktadır. Kuruyemişler, mikotoksin bulaşma riski yüksek olan gıdalar arasında yer almakta ve özellikle depolama koşullarına duyarlıdır. Bu nedenle, çalışmada karışık kuruyemişlerin mikotoksin seviyeleri üzerindeki soğuk plazma etkisi incelenmiştir. Analizlerde kullanılan karışık kuruyemiş örneği; beyaz leblebi (%23,4), sarı leblebi (%10,2), Antep fıstığı (%12,9), fındık (%16,3), kabak çekirdeği (%16,2) ve fıstık (%21) içermektedir. Buğday, hem temel bir tahıl ürünü hem de mikotoksin bulaşımına açık bir tarımsal üründür. Buğday, un ve diğer türev ürünlerin üretiminde kullanıldığından gıda güvenliği açısından kritik öneme sahiptir. Çalışma, buğday üzerindeki plazma uygulamalarının etkisini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Mısır, hem insan tüketimi hem de hayvan yemi olarak yaygın bir şekilde kullanılan bir üründür. Mikotoksin bulaşmasına karşı duyarlılığıyla bilinir ve bu çalışmada incelenen önemli bir materyaldir.

Karışık kuruyemiş, buğday ve mısır numuneleri herhangi bir ön işlem görmeden laboratuvara ulaştırılmıştır. Ancak, analizlerin doğru ve güvenilir sonuçlar verebilmesi için bu numunelerin öğütülmesi gerekmektedir. Bunun temel sebebi, örneğin tamamını temsil edecek şekilde homojenize edilmesinin sağlanmasıdır. Numunelerde bulunan toksinlerin düşük konsantrasyon seviyelerinde olması nedeniyle, analiz edilecek materyalin tamamen homojen hale getirilmesi büyük önem taşımaktadır. Ayrıca, doğal toksin içeren numuneler ile toksin eklenmiş (spike) numuneler arasındaki matris etkisinin karşılaştırılabilmesi için, standart toksin ilavesinin öğütülmüş numune üzerine yapılması gerekmektedir. Bu doğrultuda, plazma işleminin de öğütülmüş numunelere uygulanması zorunludur. Bu işlem, toksin giderim etkinliğinin daha iyi değerlendirilebilmesini ve elde edilen sonuçların güvenilirliğini artırmayı amaçlamaktadır.



Şekil 2.1. Karışık kuruyemiş, buğday, mısır örnekleri

Bu çalışmada, doğal olarak mikotoksin içeren örnekler (Karışık Kuruyemiş, Buğday, Mısır), mikotoksin spike yapılmış örnekler ve toksin standardı içeren çözeltiler kullanılarak soğuk plazma yönteminin mikotoksin degradasyonu üzerindeki etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Böylece doğal örnekler, spike edilmiş örnekler ve standart çözeltiler arasında herhangi bir fark olup olmadığı ortaya konmaya çalışılmıştır. Çalışılan örneklerden karışık kuruyemişte doğal olarak Aflatoksin B₁, Aflatoksin B₂ ve Toplam Aflatoksin, buğdayda Okratoksin A, mısırdaki ise Zearalenon, Deoksinivalenol ve Fumonisin (B1 ve B2) tespit edilmiştir. Doğal toksin içeren numunelerin içerdiği toksin miktarları dikkate alınarak eşdeğer konsantrasyonlarda spike örnekler ve standart çözeltiler hazırlanmıştır. Spike mikotoksin ilavesi yapılan örneklerde, karışık kuruyemiş örneğine Aflatoksin standardı, buğday örneğine Okratoksin A standardı, mısır örneğine ise Zearalenon, Deoksinivalenol ve Fumonisin standartları dışarıdan ilave edilmiştir. Numunelerin homojenizasyonu, yüksek devirli blenderler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Standart çözeltiler, mikotoksinlerin orijinal formlarında ve belirli çözücüler kullanılarak hazırlanmıştır:

- Aflatoksin standardı: %50 metanol + %50 su
- Okratoksin A standardı: %50 [Metanol (%98) + Asetik Asit (%2)] / %50 su
- Zearalenon standardı: %50 asetonitril + %50 su
- Deoksinivalenol standardı: Su (%94) + Metanol (%3) + Asetonitril (%3)
- Fumonisin (B1 + B2) standardı: %50 metanol + %50 su

Numunelere soğuk plazma işlemi, başlangıç özelliklerinin analiz edilmesinin ardından 0, 1, 2, 4, 8 ve 16 dakika sürelerle uygulanmıştır. Bu süreler, yapılan ön denemelerden elde edilen verilere dayanarak belirlenmiştir. Soğuk plazma uygulamasının öncesinde ve sonrasında, numunelerde çeşitli fiziksel ve kimyasal analizler gerçekleştirilerek plazma işleminin etkileri değerlendirilmiştir.

Numunelerin homojen bir yapı kazanması için 3000 devir/dak hızda 1 dakika ve 18000 devir/dak hızda 2 dakika süreyle öğütme işlemi uygulanmıştır. Homojenizasyon, öğütme ve karıştırma işlemleri aşağıdaki ekipmanlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şekil 2.2'de yer alan bu cihazlar, numunelerin homojen hale getirilmesi için kritik öneme sahiptir. Robot coupe, laboratuvar tipi blender ve diğer yüksek hızlı karıştırıcılar, numunelerin homojenizasyonunda kullanılarak eşit dağılım sağlar ve numunelerin analiz için uygun bir forma getirilmesini mümkün kılar. Bu ekipmanlar sayesinde, mikotoksin analizleri için kullanılan karışımların standart ve homojen şekilde hazırlanması sağlanmıştır. Homojenizasyon işlemi, analizlerin tekrarlanabilirliği ve doğruluğu açısından büyük bir rol oynar. Plazma uygulaması sırasında, hava akımının etkisiyle öğütülmüş buğday ve mısır parçacıklarının çevreye dağılmasını ve tozların uçmasını engellemek amacıyla örnek yüzeyine ultra saf su püskürtülerek plazma uygulaması gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.2. Öğütme işlemlerinde kullanılan ekipmanlar

Şekil 2.3, çalışma kapsamında analiz için hazırlanan numunelerin laboratuvar ortamında nasıl düzenlendiğini göstermektedir. İlk görselde, karışık kuruyemiş, buğday ve mısır numuneleri kapalı kaplarda düzgün bir şekilde etiketlenmiş olarak sunulmuştur. İkinci görsel, numunelerin kapakları açıldıktan sonraki yapısını göstermektedir. Karışık kuruyemiş, buğday ve mısır numuneleri, farklı dokusal ve renk özelliklerine rağmen, öğütme işlemiyle analiz için standart bir forma kavuşturulmuştur. Bu görseller, çalışmanın laboratuvar ortamında dikkatle yürütüldüğünü, numunelerin uygun şekilde hazırlanarak her bir aşamanın düzenli bir şekilde takip edildiğini ortaya koymaktadır. Bu dikkat ve standart hazırlık süreci, analizlerin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği açısından önemlidir. Homojen hale getirilmiş örnekler aşağıdaki kaplar içerisinde 4°C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Karışık kuruyemiş, buğday, mısır örnekleri

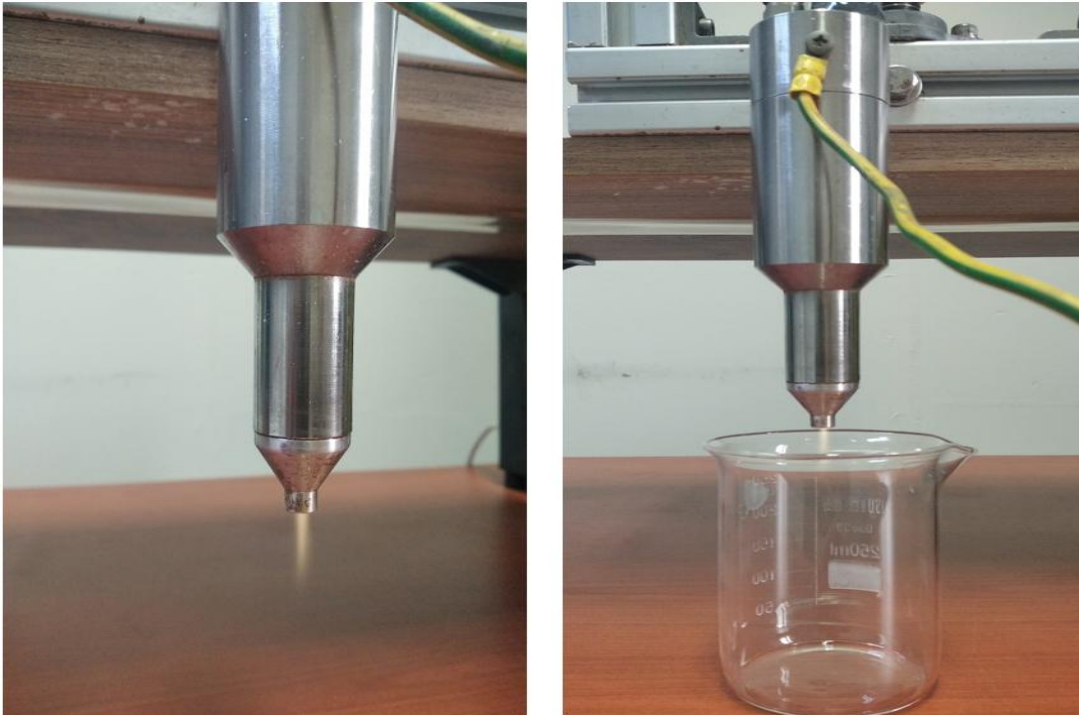
2.2. Yöntem

Örneklerde rutubet, yağ miktarı, serbest yağ asitliği, peroksit sayısı, protein, selüloz, kül, mineral (Cr, Hg, Pb, As, Mg, Fe, Cu, Zn, Cd, Sn, Na, P, K, Ca), Aflatoksin, Okratoksin A, Zearalenon, Deoksinivalenol, Fumonisin, Sitotoksisite analizleri 3 tekrarlı olarak çalışılmıştır. Beher içerisinde 10 g tartım yapılan örnekler, yaklaşık 1 cm yüksekliğe sahiptir ve ABSP uygulanmıştır. Plazma uygulanmamış ve belirlenen sürelerde (0, 1, 2, 4, 8, 16 dakika) plazma uygulanmış örneklerle belirtilen analizler yapılmıştır ve analizlere ait sonuçlar çizelgelerde sunulmuştur. Gerçekleştirilen analizler sonrasında elde edilen veriler istatistiksel değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Analiz sonuçları verilirken geri kazanım oranı hesaba katılmıştır.

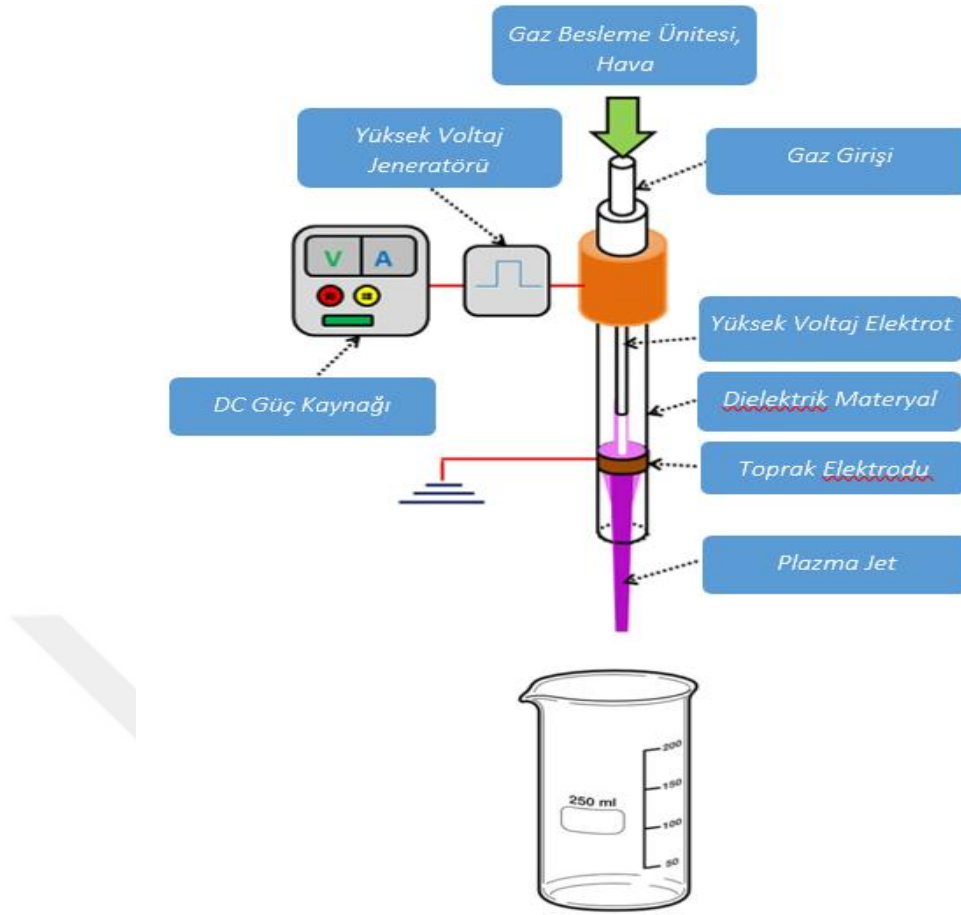
2.2.1. Atmosferik Basınç Soğuk Plazma (ABSP)

Bu çalışmada, Palabıyık ve arkadaşları [217] tarafından kullanılan Atmosferik Basınç Soğuk Plazma (ABSP) yöntemi esas alınmıştır. Çalışmada kullanılan plazma cihazı, Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü bünyesinde bulunan ve hareketli prob sistemine sahip bir düzendir. Sisteme beslenen gaz, ilk olarak bir girdap oluşturunur ünitenden geçirilmiş, böylece plazma probunda havanın homojen sirkülasyonu sağlanmıştır. Girdap oluşturunurucudan çıkan gaz, jeneratör tarafından sağlanan yüksek voltaj enerjisi ile plazma fazına dönüştürülmüş ve probun uç kısmına doğru yönlendirilmiştir.

Prob içerisinde oluşan plazmanın, ısıya duyarlı ürünlerde sıcaklık kaynaklı problemlere yol açabildiği gözlemlenmiştir. Bu durumu en aza indirmek amacıyla, prob ucuna özel bir sistem yerleştirilmiştir. Bu sistem sayesinde, plazma fazının hem homojen bir şekilde dağılması hem de çıkış sıcaklığının düşük seviyelerde tutulması sağlanmıştır. Böylece, termal etkiler minimuma indirilmiş ve aktif plazma türlerinin daha geniş yüzeylere yayılması mümkün kılınmıştır. Bu özel tasarım sayesinde cihaz, ısıya duyarlı ürünlerde güvenle kullanılabilmiş ve uygulamanın etkinliği artırılmıştır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Çalışmada kullanılan ABSP cihazı



Şekil 2.5. ABSP cihazının şematik görünümü

Şekil 2.5’te, deneylerde kullanılan Atmosferik Basınc Soğuk Plazma (ABSP) sisteminin şematik bir görünümü detaylı bir biçimde sunulmuştur. Bu şekil, sistemin bileşenlerini ve işleyiş mekanizmasını açık bir şekilde ortaya koymak amacıyla hazırlanmıştır.

- Gaz Besleme Ünitesi: Plazma üretimi için gerekli olan hava gibi taşıyıcı gazların sisteme girişini sağlamak üzere kullanılmıştır.
- Gaz Girişi: Besleme gazının, sisteme düzenli ve kontrollü bir şekilde aktarılması amacıyla yapılandırılmıştır.
- Yüksek Voltaj Jeneratörü: Elektrik enerjisini yüksek voltajlı forma dönüştürerek, plazma oluşumunun başlatılmasında kullanılmıştır.
- DC Güç Kaynağı: Sistemin genel enerji ihtiyacını karşılamak ve jeneratörün kesintisiz çalışmasını desteklemek amacıyla kullanılmıştır.
- Dielektrik Malzeme: Plazma oluşumu sırasında elektriksel yalıtım sağlamak ve sistem güvenliğini artırmak üzere kullanılmıştır.
- Yüksek Voltaj Elektrotu: Plazmanın oluşabilmesi için gerekli olan elektrik alanını sağlamak üzere yerleştirilmiştir.
- Toprak Elektrodu: Elektriksel dengeyi sağlamak ve sistem güvenliğini temin etmek amacıyla kullanılmıştır.

- Plazma Jeti: Oluşan plazmanın doğrudan numune yüzeyine uygulanmasını sağlamak üzere çıkış noktası olarak yapılandırılmıştır.

Bu sistem, gıda ürünlerinin yüzeylerinde bulunan mikotoksinlerin degradasyonunu sağlamak amacıyla tasarlanmış ve optimize edilmiştir. Sistem içerisinde gaz akışı, yüksek voltaj uygulaması ve özel olarak yapılandırılmış dielektrik malzeme sayesinde, kontrollü ve güvenli bir plazma jeti elde edilmiştir. Cihazın tasarımı, hem plazma etkinliğini artırmak hem de numunelere termal zarar vermeksizin düşük sıcaklıklarda çalışmayı mümkün kılmak üzere yapılandırılmıştır. Numune yüzeyinde meydana gelebilecek sıcaklık artışlarını önlemek amacıyla ABSP uygulamaları, 1 dakikalık aralıklarla gerçekleştirilmiştir. Bu yaklaşım, özellikle ısıya duyarlı gıda ürünlerinde, yöntemin uygulanabilirliğini ve avantajını artıran önemli bir strateji olarak kullanılmıştır.

Çizelge 2.1. Atmosferik Basınç Soğuk Plazma cihaz spesifikasyonları

Atmosferik Basınç Soğuk Plazma Parametreleri	Deneylerde Kullanılan Parametreler
Referans Voltaj	600 W
Plazma Frekansı	25 kHz
Gaz basıncı	2 bar
Kullanılan Gaz	Hava
Plazma jeti ile örnek arası mesafe	9 cm
Afterglow uzunluğu	2 cm
Uygulama süresi	0, 1, 2, 4, 8, 16 dak

Çizelge 2.1’de, çalışmada kullanılan Atmosferik Basınç Soğuk Plazma (ABSP) cihazının teknik özellikleri sunulmuştur. Cihaz, 600 W referans gücünde ve 25 kHz plazma frekansında çalışacak şekilde yapılandırılmıştır. Çalışma gazı olarak hava kullanılmış ve sistem 2 bar gaz basıncı altında çalıştırılmıştır. Plazma jetinin numune yüzeyine olan mesafesi 9 cm olarak ayarlanmış, art ışınlam (afterglow) bölgesi uzunluğu ise 2 cm olarak belirlenmiştir. ABSP uygulama süreleri, 0, 1, 2, 4, 8 ve 16 dakika olarak kademeli biçimde düzenlenmiş ve farklı sürelerin mikotoksin giderimi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Her bir mikotoksin için

ABSP uygulama süresi belirlenirken, ilgili toksin üzerine en yüksek etkinliğin gözlemlendiği süreler esas alınmıştır. Bu parametrelerin belirlenmesinde, ABSP teknolojisinin mikotoksinleri parçalama etkinliğini optimize etme amacı gözetilmiştir.

2.2.1.1. Karışık Kuruyemiş Örnekleri Üzerine ABSP Uygulaması

Karışık kuruyemiş örneklerinde, doğal yollarla Aflatoksin içeren bir örnek tercih edilmiş ve bu örnek, homojen bir yapı elde etmek amacıyla öğütülmüştür. Ardından, ABSP uygulaması gerçekleştirilmiştir. Bu işlem sırasında plazma jeti ile örnek arasındaki mesafe sabit bir değer olan 9 cm olarak ayarlanmıştır.



Şekil 2.6. Karışık kuruyemiş örneğinde soğuk plazma uygulaması

Şekil 2.6'da, karışık kuruyemiş örneğine soğuk plazma uygulamasını göstermektedir. Numune, Aflatoksin içeren karışık kuruyemişlerden oluşmakta olup, uygulama sırasında numunenin homojen bir şekilde işleme tabi tutulması hedeflenmiştir. Bu işlem, toksinlerin giderilmesi için önem taşımaktadır.

Homojenize edilmiş karışık kuruyemiş örneklerine, Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Yönetmelikte belirtilen maksimum limit dikkate alınarak Aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ içeren standart bir karışım eklenmiştir (spike).

Standart çözelti, Biopure marka Aflatoksin ana stoktan hazırlanmıştır. Bu ana stok, 250 ppb Aflatoksin içermekte ve asetonitril içinde çözündürülmüş formda bulunmaktadır. Stok çözelti, toksinlerin kimyasal stabilitesini korumak amacıyla -18°C'de muhafaza edilmiştir.

Deney sırasında kullanılan örnekler, bozulmayı ve mikotoksin içeriğinin değişimini önlemek amacıyla buzdolabında 5°C±3°C sıcaklıkta saklanmıştır. Analizler, 20°C - 25°C sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.7. Soğuk plazma için hazırlanan numuneler



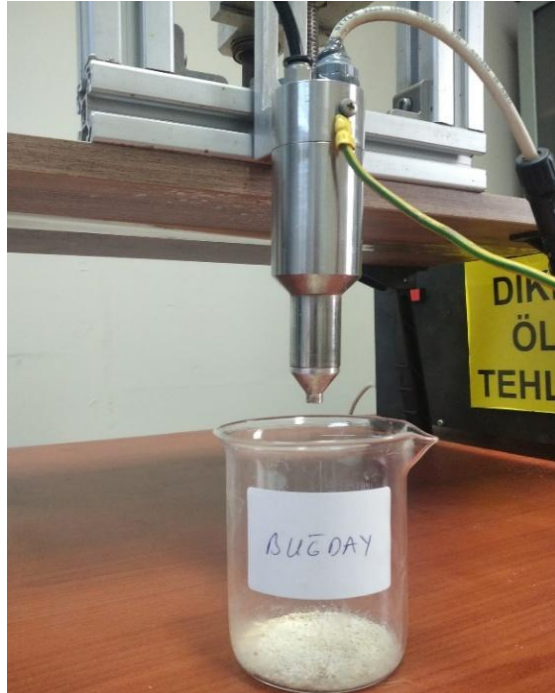
Şekil 2.8. Soğuk plazma sonrası tüplere alınan karışık kuruyemiş numuneleri

Yukarıdaki görseller, soğuk plazma analizi için hazırlanan ve işlem gören karışık kuruyemiş numunelerini detaylı şekilde sunmaktadır. Şekil 2.7'de, farklı kategorilere ayrılmış numuneler yer almaktadır. Doğal toksinli karışık kuruyemiş numunesi, herhangi bir ek işlem

yapılmadan doğal olarak mikotoksin içeren örnekleri temsil ederken, spike yapılmış karışık kuruyemiş numunesi ise toksin seviyesini artırmak amacıyla aflatoksin standartları eklenmiş numuneleri göstermektedir. Aflatoksin standardı ise analizlerde referans olarak kullanılan, belirli bir konsantrasyonda toksin içeren standart çözeltiyi içermektedir. Şekil 2.8'de ise farklı sürelerde (örneğin 2 dakika, 4 dakika, 8 dakika ve 16 dakika) soğuk plazma uygulamasına tabi tutulan numuneler, işlem sonrası tüpler içinde saklanmış olarak gösterilmiştir. Tüplerin üzerinde uygulama süreleri belirtilmiş ve kontrol grubu da dahil edilmiştir.

2.2.1.2. Buğday Örnekleri Üzerine ABSP Uygulaması

Doğal olarak içerisinde Okratoksin A (OTA) bulunan buğday örnekleri, analizler için seçilmiştir. Buğday örnekleri önce öğütülerek homojen bir yapı elde edilmiş ve ardından ABSP uygulamasına tabi tutulmuştur. Plazma uygulaması sırasında, hava akımının etkisiyle öğütülmüş buğday parçacıklarının çevreye dağılmasını ve tozların uçmasını engellemek için örnek yüzeyine ultra saf su püskürtülerek plazma uygulaması gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem, hem işlem güvenliğini sağlamak hem de plazma etkisinin homojen bir şekilde uygulanmasını mümkün kılmıştır. Deney koşulları altında, plazma jeti ile buğday örneği arasındaki mesafe 9 cm olarak sabitlenmiştir. Bu düzenleme, plazmanın örnek üzerindeki etkisini optimize etmek ve tutarlı sonuçlar elde etmek için kritik bir parametre olarak belirlenmiştir.



Şekil 2.9. Buğday örneğinde soğuk plazma uygulaması

Şekil 2.9’da, buğday örneğine ABSP uygulamasını göstermektedir. Uygulamada, plazma jeti ile örnek arasındaki mesafe sabit bir şekilde 9 cm olarak ayarlanmıştır. Plazma uygulaması sırasında, hava akımı nedeniyle buğday parçacıklarının dağılmasını ve çevreye saçılmasını engellemek için örnek, uygun bir kap içinde tutulmuştur. Aynı zamanda, aşırı ısınmayı önlemek amacıyla örnek yüzeyine ultra saf su püskürtülerek işlem gerçekleştirilmiştir. Bu düzenlemeler, hem güvenli bir çalışma ortamı sağlamak hem de plazmanın etkisini homojen bir şekilde örnek üzerine uygulamak için kritik öneme sahiptir.

Homojenize edilmiş buğday örneklerine, Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Yönetmelikte belirtilen maksimum sınırlar göz önünde bulundurularak OTA içeren standart çözelti eklenmiş ve bu şekilde soğuk plazma uygulaması gerçekleştirilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Yönetmelikte buğday için Okratoksin A limit değeri 5 ppb olarak belirlenmiştir. Doğal yollarla toksin içeren kontrol örneğinde OTA miktarı 20,40 ppb olarak bulunmaktadır. Yapay olarak toksin ilave edilen kontrol örneğinde OTA miktarı 40,79 ppb olarak bulunmaktadır. Toksin standart çözeltisi OTA miktarı da 20,00 ppb olarak hazırlanmıştır.

Kullanılan standart çözelti, 10 ppm konsantrasyonda OTA içeren Biopure marka bir ana stok çözeltisinden hazırlanmıştır. Bu stok çözelti, toksinin asetonitril içinde çözülmüş hali olup, bozulmayı önlemek amacıyla $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ ’de buzdolabında saklanmıştır.

Buğday örnekleri de tazeliğin korunması ve analiz hassasiyetinin sağlanması için buzdolabında, $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ sıcaklık koşullarında muhafaza edilmiştir. Uygulama sırasında, laboratuvar ortamının sıcaklığı 20°C ile 25°C arasında sabit tutulmuştur. Soğuk plazma işlemi tamamlandıktan sonra numunelerin sıcaklığı ölçülmüş ve bu sıcaklığın 45°C ile 55°C arasında olduğu tespit edilmiştir. Bu sıcaklık, hem plazma uygulaması sırasında oluşan ısının kontrol edildiğini hem de örneklerin sıcaklık nedeniyle olumsuz etkilenmediğini göstermektedir.



Şekil 2.10. Soğuk plazma için hazırlanan numuneler



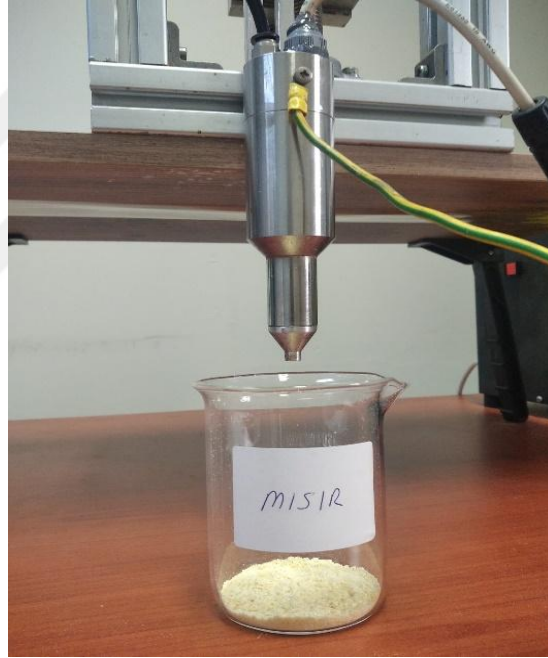
Şekil 2.11. Soğuk plazma sonrası tüplere alınan buğday numuneleri

Buğday örneklerine yönelik soğuk plazma uygulaması hazırlıkları ve işlem sonrası numuneler, görsellerde detaylı bir şekilde sunulmuştur. Şekil 2.10'da, doğal toksinli buğday, standart eklenmiş (spike) buğday ve OTA standart çözeltisi gibi farklı gruptaki numuneler yer almaktadır. Bu ayırım, soğuk plazma uygulamasının farklı koşullardaki etkilerini değerlendirmeye olanak sağlamaktadır. Şekil 2.11'de ise, soğuk plazma uygulaması sonrası farklı sürelerle işlem görmüş buğday numunelerinin toplandığı tüpler görülmektedir. Tüpler üzerinde kontrol grubu, 4 dakika, 8 dakika ve 16 dakika süreyle işlem görmüş numuneler açıkça belirtilmiştir. Bu düzenleme, soğuk plazma uygulama süresinin buğday numuneleri üzerindeki etkilerinin karşılaştırmalı olarak analiz edilmesine olanak tanımaktadır.

2.2.1.3. Mısır Örnekleri Üzerine ABSP Uygulaması

Doğal olarak Zearalenon (ZON), Deoksinivalenol (DON) ve Fumonisin (FUMO) içeren mısır örnekleri analiz için tercih edilmiştir. Bu örnekler, öğütülerek homojen bir yapı haline getirilmiş ve ardından ABSP uygulamasına tabi tutulmuştur.

Plazma uygulaması sırasında, hava akımının etkisiyle öğütülmüş mısır parçacıklarının çevreye dağılmasını ve tozların uçmasını engellemek için örnek yüzeyine ultra saf su püskürtülerek plazma uygulaması gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem, hem işlem güvenliğini sağlamak hem de plazma etkisinin homojen bir şekilde uygulanmasını mümkün kılmıştır. Plazma jeti ile örnek arasındaki mesafe, işlemin tutarlılığını sağlamak için 9 cm olarak sabitlenmiştir.



Şekil 2.12. Mısır örneğinde soğuk plazma uygulaması

Şekil 2.12’de, mısır örneğine ABSP uygulaması gerçekleştirildiği görülmektedir. Örnek, plazma jetinin altına yerleştirilmiş bir beherde homojenize edilmiş şekilde durmaktadır. Uygulama sırasında, plazma jetinin örnekten 9 cm mesafede sabitlendiği ve işlemin homojen bir etki sağlaması için hassasiyetle yapıldığı gözlemlenmektedir. Bu tür bir düzenleme, örneğin aşırı ısınmasını veya dağılmasını önlemek amacıyla yapılmıştır.

Homojenize edilmiş mısır örneklerine, “Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Yönetmelik”te belirtilen maksimum limitler

dikkate alınarak ZON, DON ve FUMO içeren standartlar eklenerek (spike) uygulama yapılmıştır. Standart çözeltiler, ayrı ayrı ZON, DON ve FUMO ana stoklarından hazırlanmıştır.

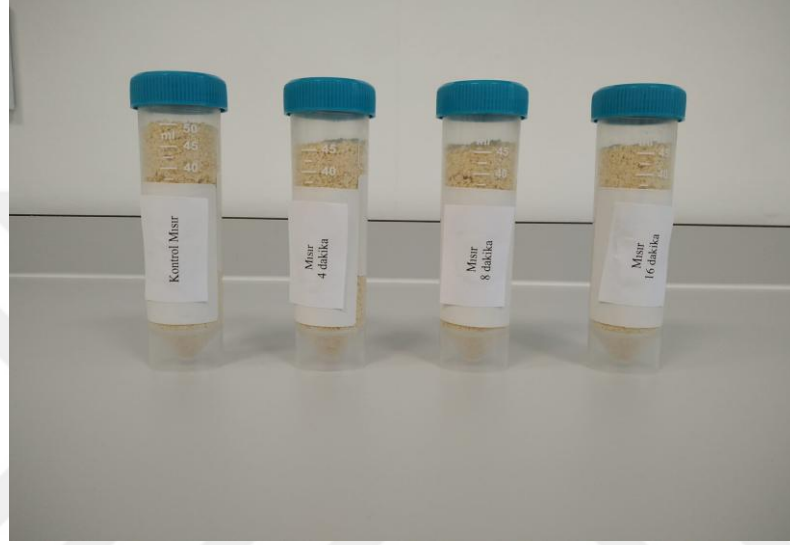
ZON ana stoğu, 50 ppm toksin içeren Biopure marka bir çözeltiden hazırlanmış ve toksin asetonitril içinde çözündürülmüştür. DON ana stoğu, 100 ppm toksin içeren Biopure marka bir çözeltiden hazırlanmış ve toksin yine asetonitril içinde çözündürülmüştür. FUMO ana stoğu ise 50 ppm toksin içeren Biopure marka bir çözeltiden hazırlanmış olup toksin, %50 asetonitril ve %50 su karışımı içinde çözündürülmüştür. Bu standart çözeltiler $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

Analiz sırasında kullanılan mısır örnekleri de buzdolabı koşullarında ($5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) saklanmıştır. Çalışma ortam sıcaklığı ise 20°C - 25°C aralığında tutulmuştur. Soğuk plazma uygulaması sonrasında numunelerin sıcaklıklarının 42°C - 54°C arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bu süreç, standartların ve örneklerin güvenilir bir şekilde analiz edilmesini sağlamak amacıyla dikkatle gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.13. Soğuk plazma için hazırlanan numuneler

Şekil 2.13'te, soğuk plazma uygulaması için hazırlanmış mısır numuneleri yer almaktadır. Numuneler üç farklı kategoride sunulmuştur; doğal toksinli mısır, spike yapılmış mısır ve toksin standartları (Deoksinivalenol, Zearalenon ve Fumonisin). Bu sınıflandırma, analiz sürecinde farklı koşullar ve standartlarla karşılaştırma yapabilmek amacıyla yapılmıştır. Numunelerin hazırlanması sırasında homojenizasyon ve toksin standartlarının eklenmesi gibi kritik adımlar dikkatle gerçekleştirilmiştir. Görsel, soğuk plazma işlemi öncesindeki numune çeşitliliğini ve analitik süreçte kullanılan standartların ayrıntılarını açıkça göstermektedir.



Şekil 2.14. Soğuk plazma sonrası tüplere alınan mısır numuneleri

Şekil 2.14'te, soğuk plazma uygulaması sonrasında tüplere alınan mısır numuneleri gösterilmektedir. Numuneler, kontrol grubu ile birlikte farklı sürelerde (4 dakika, 8 dakika ve 16 dakika) plazmaya maruz bırakılmıştır. Her bir tüp üzerinde, numunenin hangi süreyle işlem gördüğünü belirten etiketler yer almaktadır. Bu düzenleme, farklı sürelerde uygulanan soğuk plazmanın mısır numuneleri üzerindeki etkilerinin karşılaştırılmasına olanak sağlamaktadır.

2.2.2. Ürünlerde Yapılan Analizler

2.2.2.1. Rutubet Tayini

Numunelerin rutubet içeriği TS EN ISO 712 [218] standardına göre belirlenmiştir. Bu işlem için önceden kurutulmuş ve darası alınmış kurutma kabına 0,001 g hassasiyette 5 ± 1 g öğütülmüş deney numunesi tartılmıştır. Daha sonra, kurutma kapları (kapakları açık şekilde) etüve yerleştirilmiştir. Etüv sıcaklığı 130°C 'ye ulaştıktan sonra kaplar, ± 5 dakika toleransla, 2 saat süreyle kurutmaya bırakılmıştır. Kurutma işleminin ardından kapaklar kapatılmış ve

kurutma kapları desikatöre alınarak laboratuvar sıcaklığına (30-45 dakika) kadar soğuması beklenmiştir. Tamamen soğuyan kurutma kapları tekrar tartılır ve sonuçlar 0,001 g hassasiyetle kaydedilmiştir. Sonuçlar % olarak her bir numune için verilmiştir.

$$MC (\%) = [(m_1 - m_2) / m_1] \times 100 \quad (2.1)$$

Burada, Rutubet içeriği (MC), numunedeki su oranını yüzde olarak gösterir. Bu hesaplamada m_1 , numunenin kurutma öncesi toplam ağırlığını; m_2 ise kurutma sonrası kuru madde ağırlığını ifade eder.

2.2.2.2. Sıcaklık Kontrolü

Soğuk plazma uygulaması öncesinde ve sonrasında numunelerin sıcaklık kontrolü, infrared termometre (Omega OS1300 serisi) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve ölçüm sonuçları kayıt altına alınmıştır.

2.2.2.3. Yağ Miktarı Tayini

Yağ miktarı tayini, TS EN ISO 11085 [219] standardına göre gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, ekstraksiyon balonuna 5-10 adet kaynama boncuğu eklenmiş ve $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlı etüvde 30 dakika boyunca kurutulmuştur. Daha sonra, balon desikatöre alınarak oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve sabit tartımı yapılmıştır.

Ekstraksiyon işlemi için ısıtıcı uygun bir sıcaklığa ayarlanmış, geri soğutucuların bağlı olduğu musluk açılmıştır. Numunenin bulunduğu filtre kağıdı, ekstraksiyon kartuşuna yerleştirilmiş ve üzeri pamukla kapatılmıştır. Kartuş, ekstraktöre yerleştirilmiş ve altına daha önce tartımı alınmış ekstraksiyon balonu yerleştirilmiştir. Ekstraktöre, numunenin durumuna göre en az bir, en fazla iki sifon yapacak şekilde petrol eteri eklenmiştir. Sistem, ısıtıcıya yerleştirilmiş ve geri soğutucu takılarak petrol eterinin 75 dakika boyunca kaynaması sağlanmıştır.

İşlem tamamladıktan sonra ekstraktör ve balon, birbirinden ayrılmadan dikkatlice ısıtıcıdan alınmıştır. Ekstraktörde kalan çözücü, tamamen balona aktarılmıştır. Ardından, balon yaklaşık 70°C 'ye ayarlanmış bir evaporatöre yerleştirilerek çözücü buharlaştırılmıştır. Kalan kalıntı, $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlı etüvde 30 dakika boyunca kurutulmuş, ardından desikatöre alınarak oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve nihai tartımı yapılmıştır. Sonuçlar % olarak kuru madde üzerinden verilmiştir.

$$\text{Yağ İçeriği (\%)} = [(m_1 - m_2) / m_0] \times 100 \quad (2.2)$$

Burada, yağ içeriği hesaplanırken, m_1 ekstraksiyon balonunun kurutma sonrası ağırlığını, m_2 ise yağ alındıktan sonraki kurutulmuş ağırlığını ifade eder. Bu iki değer arasındaki fark, numuneden çıkan yağı gösterir. Elde edilen bu yağ miktarı, numunenin başlangıç ağırlığı m_0 'a oranlanarak yüzde olarak yağ içeriği hesaplanır.

2.2.2.4. Serbest Yağ Asitliği Tayini

Serbest yağ asitliği tayini, TS EN ISO 660 [220] standardına göre gerçekleştirilmiştir. İşleme başlamadan önce, asit sayısının beklenen büyüklüğüne bağlı olarak uygun alkali derişimi ve deney parçasının kütlesi seçilmiştir. 250 ml'lik bir erlene belirlenen miktarda numune hassas şekilde tartılmıştır. Ardından, 50 ila 100 ml arasında nötraleze çözücü karışımı (1:1 oranında etanol ve dietil eter karışımı) erlene eklenmiştir. Numune, gerek duyulursa hafif ısıtılarak tamamen çözündürülmüştür. Çözeltiye birkaç damla fenol ftalein indikatörü eklenmiştir. Sonrasında, potasyum hidroksit çözeltisi kullanılarak numune sabit şekilde çalkalanarak titre edilmiştir. Titrasyon sırasında, bir damla alkali eklendiğinde, en az 15 saniye süren hafif ancak belirgin bir renk değişimi gözlemlendiğinde işlem sonlandırılmıştır. Sonuçlar oleik asit cinsinden hesaplanmıştır ve % (ağırlıkça yağ asidi içeriği) olarak ifade edilmiştir.

$$\text{Serbest Yağ Asitliği (FFA, \%)} = [(V \times C \times M) / m] \times 100 \quad (2.3)$$

Burada, serbest yağ asitliği (FFA) hesaplanırken V, titrasyonda harcanan KOH veya NaOH çözeltisinin hacmini, C bu çözeltinin molaritesini, M ise kullanılan yağ asidinin molar kütlesini ifade eder. Bu değerler çarpılarak bulunan asit miktarı, numunenin kütlesi olan m ile oranlanır ve sonuç yüzde olarak serbest yağ asitliğini verir.

2.2.2.5. Peroksit Sayısı Tayini

Peroksit sayısı tayini, TS 894 [221] standardına göre gerçekleştirilmiştir. İşlemde, yağ tayarından elde edilen ekstrakttan yaklaşık 1-2 gram numune 0,001 gram hassasiyetle tartılarak 250 ml'lik bir balon içerisine alınmıştır. Balona 10 ml kloroform eklenmiş ve yağ tamamen çözülene kadar balon iyice çalkalanmıştır. Sonrasında, 15 ml asetik asit ve 1 ml potasyum iyodür çözeltisi sırasıyla ilave edilmiştir. Balonun kapağı hızlı bir şekilde kapatılmış, içerik bir dakika boyunca çalkalanmış ve ardından karanlık bir ortamda 5 dakika dinlendirilmiştir. Bu sürenin ardından balona 75 ml su eklenmiş ve serbest iyot çözeltisi titrasyon için hazırlanmıştır. Peroksit sayısı 12,5'in altında olduğunda 0,002 N, 12,5 veya üzerinde olduğunda ise 0,01 N

sodyum tiyosülfat çözeltisi, nişasta çözeltisi eşliğinde titrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar "mEq O₂ / kg yağ" (yağ başına miliekivalan aktif oksijen) cinsinden verilir.

$$\text{Peroksit Sayısı (mEq O}_2\text{ / kg yağ)} = [(V - V_0) \times C \times 1000] / m \quad (2.4)$$

Burada, peroksit sayısı hesaplanırken V, numune için harcanan sodyum tiyosülfat çözeltisi hacmini; V₀, kör numune için harcanan hacmi gösterir. Bu iki değer arasındaki fark, tepkimeye giren oksijen miktarını verir. Bu fark, çözeltinin molaritesi olan C ile çarpılır ve elde edilen değer, numunenin kütlesi m ile oranlanarak kilogram yağ başına miliekivalan (mEq O₂/kg) cinsinden peroksit sayısı elde edilir.

2.2.2.6. Protein Tayini

Azot tayini, 21 Ocak 2017 tarih ve 29955 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanan "Yemlerin Resmi Kontrolü İçin Numune Alma ve Analiz Metotlarına Dair Yönetmelik" (TS EN ISO 660) standardına uygun olarak gerçekleştirilmiştir [222]. Bu işlem üç ana aşamadan oluşmaktadır; yağ yakma, damıtma ve titrasyon. İlk aşamada, yaklaşık 1 g numune 0,001 g hassasiyetle tartılarak Kjeldahl balonuna alınmıştır. Balona 15 g potasyum sülfat, uygun miktarda katalizör (örneğin, 0,3-0,4 g bakır (II) oksit veya 0,9-1,2 g bakır (II) sülfat pentahidrat), 25 ml sülfürik asit ve gerektiğinde granül kaynama taşı eklenmiştir. Karışım, yavaş bir şekilde ısıtılarak köpük kaybolana ve sıvı berrak bir açık yeşil renk alana kadar işlem devam ettirilmiştir. Çözelti, ardından oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. İkinci aşama olan damıtma işleminde, sülfatların tamamen çözülmesi için balona dikkatlice su eklenmiş ve gerekiyorsa çinko granülleri ilave edilmiştir. Toplama erlenine sülfürik asit veya borik asit çözeltisi eklenmiş ve indikatör ilavesiyle amonyak, damıtma cihazı yardımıyla toplanmıştır. Damıtma sırasında sodyum hidroksit çözeltisi eklenerek açığa çıkan amonyak buharlaştırılmış ve uygun çözelti içinde toplanmıştır. Son aşamada, titrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Toplama kabındaki sülfürik asit veya borik asit çözeltisi, hidroklorik asit veya sodyum hidroksit gibi standardize edilmiş volumetrik çözeltilerle titre edilmiştir. Titrasyon, indikatör yardımıyla dönüm noktasında sonlandırılmıştır. Sonuçlar "g/100 g" (ağırlıkça yüzde protein içeriği) olarak ifade edilmiştir. Protein dönüşüm katsayısı tahıllar ve kuruyemişler için 5,30 – 5,80 kullanılmıştır.

$$\text{Ham Protein (\%)} = \text{Azot İçeriği (\%)} \times F \quad (2.5)$$

Burada, ham protein hesaplanırken, numunedeki toplam azot miktarı yüzde olarak belirlenir ve bu değer, proteine dönüştürme katsayısı olan F ile çarpılır. Böylece, numunenin içerdiği ham protein oranı yüzde olarak elde edilir.

2.2.2.7. Selüloz Tayini

Selüloz tayini, TS 6932 standardına uygun olarak gerçekleştirilmiştir [223]. Öncelikle, deney numunesi geniş ağızlı bir erlen ya da balona aktarılmıştır. Daha sonra, 95°C - 100°C sıcaklığa kadar ısıtılan 200 ml sülfürik asit çözeltisi numunenin üzerine eklenmiştir. Geri soğutucu bağlanarak karışım kaynama noktasına ulaştırılmış ve 30 dakika boyunca kaynatılmıştır. Bu süreçte, numunenin tamamen çözeltiye karışması için kap düzenli olarak çevrilerek karıştırılmıştır. Kaynama işlemi tamamlandıktan sonra 50 ml soğuk su eklenmiş ve çözünmeyen madde bir ayırıcı malzeme yardımıyla ayrılmıştır. Ardından, her seferinde 50 ml sıcak su (95°C - 100°C) ile yıkama işlemi yapılmış, yıkama suyu turnusol kağıdı ile nötr reaksiyon verene kadar devam edilmiştir.

Yıkama işleminin ardından, çözünmeyen madde tekrar erlen veya balona aktarılmış ve üzerine 95°C - 100°C'ye kadar ısıtılan 200 ml sodyum hidroksit çözeltisi eklenmiştir. Geri soğutucu bağlanarak kaynama noktasına ulaştırılmış ve 30 dakika boyunca kaynatılmıştır. Sonrasında 50 ml soğuk su eklenerek kalıntı tekrar ayrılmıştır. Kalıntı önce oda sıcaklığında 25 ml sülfürik asit çözeltisiyle, ardından su ile yıkanmış ve aseton kullanılarak kurutulmuştur. Hekzan ile yıkama işlemi gerçekleştirilerek sabunlaşmayan yağ ayrılmıştır.

Tüm yıkama ve kurutma işlemleri tamamlandıktan sonra, kalıntı yakma kabına veya süzgeçli krozeye toplanarak 130°C'de kurutma dolabında kurutulmuş, ardından desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve hassas bir şekilde tartılmıştır. Kurutma işlemi sonrası, kalıntı 550°C'de kül fırınında yakılarak sabit bir kütle elde edilene kadar işleme devam edilmiştir. Son olarak, desikatörde soğutulan numune 0,5 mg hassasiyetle tartılmış ve ham selüloz miktarı ağırlıkça yüzde (%) olarak hesaplanarak ifade edilmiştir.

$$\text{Ham Selüloz (\%)} = [(m_1 - m_2) / m_0] \times 100 \quad (2.6)$$

Burada, ham selüloz oranı hesaplanırken, m_0 numunenin başlangıçtaki ağırlığını ifade eder. m_1 , asidik ve bazik hidroliz sonrası kurutulan selüloz kalıntısının ağırlığıdır; m_2 ise bu kalıntının 550°C'de yakılmasıyla elde edilen kül ağırlığını gösterir. $m_1 - m_2$ işlemiyle gerçek

selüloz miktarı bulunur ve bu değer, başlangıç ağırlığına oranlanarak ham selüloz yüzdesi hesaplanır.

2.2.2.8. Kül Tayini

Kül tayini, TS EN ISO 2171 standardına uygun olarak gerçekleştirilmiştir [224]. Bu işlem için öncelikle temiz bir kroze hazırlanmış ve kullanılacak külleme sıcaklığına uygun olarak işleme tabi tutulmuştur. 900°C sıcaklık için kroze, külleme sıcaklığına ulaşana kadar kül fırınında 5 dakika bekletilmiş, ardından desikatörde soğutularak terazide 0,1 mg hassasiyetle tartılmıştır.

Deney numunesi, beklenen kül muhtevasına göre 0,1 mg hassasiyetle yaklaşık 2-5 g arasında tartılmıştır. Krozeler, tabanı düz, en az 20 ml kapasiteli ve yüzey alanı en az 12 cm² olan uygun malzemeden seçilmiştir. 900°C için 3,9-4,1 g arasında numune tartılmıştır. Düşük yoğunluklu ürünlerde numune miktarı 2-3 g arasında tutulmuştur. Tartılan numuneler krozeye sıkıştırılmadan yerleştirilmiştir. Krozeler, daha önceden külleme sıcaklığına ulaşmış fırının ön kısmına yerleştirilmiştir. 900°C’de numunelerin kendiliğinden patladığı ve yanmanın başladığı gözlemlenmiştir. Numunelerin tamamen yanması için yeterli süre beklenmiş, ardından krozeler fırının içine alınarak kapağı kapatılmıştır. Külleme işlemi, numunedeki tüm yanma olayları ve kalıntıdaki partiküller tamamen kül haline gelene kadar devam ettirilmiştir. Bu süre 900°C’de yaklaşık 1 saattir.

Külleme işlemi tamamlandıktan sonra krozeler desikatöre alınarak soğumaya bırakılmıştır. Desikatöre fazla kroze yerleştirilmemiş ve külün rutubet çekme özelliğinden dolayı krozelerin ortam sıcaklığına hızlı bir şekilde ulaşması sağlanmıştır. Metal krozeler için soğuma süreleri 15-20 dakika, quartz veya silika krozeler için ise 60-90 dakika olarak belirlenmiştir. Soğuma tamamlandıktan sonra krozeler hızla tartılmıştır. Sonuçlar kuru madde üzerinden % (g/100 g) olarak ifade edilmiştir.

$$\text{Kül Miktarı (\%)} = [(m_2 - m_1) / m_0] \times 100 \quad (2.7)$$

Burada, kül miktarı hesaplanırken, m_0 numunenin başlangıçtaki ağırlığını ifade eder. m_1 , boş krozelerin ağırlığıdır; m_2 ise külleme işlemi sonrası kroze ile birlikte elde edilen toplam ağırlıktır. $m_2 - m_1$ farkı, numuneden kalan kül miktarını verir ve bu değer, başlangıç ağırlığına oranlanarak kül yüzdesi hesaplanır.

2.2.2.9. Aflatoksin Tayini

Aflatoksin miktarını belirlemek amacıyla, AOAC 991.31 [225] standardına uygun olarak immunoafinite kolon sonrası türevlendirme ve floresans dedektörü esas alan bir HPLC yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde, türevlendirme işlemini gerçekleştirmek için kolon çıkışına bromür içeren bir Kobra-cell sistemi yerleştirilmiştir. Analiz edilecek numune geniş bir kaba dökülerek iyice karıştırılmıştır. Bu numuneden 25 g ($\pm 0,1$ g hassasiyetle) tartılmış, blendere konulmuş ve 5 g NaCl ile birlikte 125 ml metanol-su (%70 metanol, %30 su) karışımı eklenmiştir. Blenderin kapağı kapatılarak karışım, 2 dakika boyunca yüksek devirde karıştırılmış ve ardından kaba filtre kağıdından süzölmüştür. Elde edilen süzöntüden 15 ml alınarak 30 ml ultra saf su içeren erlene ilave edilmiş ve iyice karıştırıldıktan sonra mikrofiber filtre kağıdından süzölerek son filtrasyon tamamlanmıştır.

Filtrasyon sonrası 15 ml süzöntü, vakum manifoldu kullanılarak immunoaffinite kolondan saniyede 1-2 damla hızla süzölmüş ve ardından kolon üzerinden 10 ml ultra saf su geçirilerek iyice yıkanmıştır. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra kolondan hava geçirilmiş ve temiz bir vial içerisine alınmıştır. Kolona 1 ml HPLC saflığındaki metanol eklenerek yıkama yapılmış, ardından vial içerisine 1 ml ultra saf su eklenip karıştırılarak homojenize edilmiştir. Homojenize edilen bu karışım, HPLC cihazında kullanılacak viallere aktarılmış ve 100 µl örnek enjeksiyon için cihaza verilmiştir. HPLC analizinde su-asetonitril-metanol (6/2/3 v/v/v), 4M nitrik asit (350 µL) ve 0,120 g KBr içeren bir mobil faz kullanılmıştır.

Analiz aşamalarına göre sonuçlar şöyle hesaplanmıştır:

$$W = 25 \text{ g} \times (15 \text{ mL} / 125 \text{ mL}) \times (15 \text{ mL} / 45 \text{ mL}) = 1 \text{ g} \quad (2.8)$$

W = Eluatta toplanan son ağırlık

İmmunoaffinity kolondan geçirilen 15 mL süzöntü 1 g numuneyi temsil etmektedir. Son eluatta toplanan hacim 2000 mL ve cihazın enjekte ettiği hacim ise 100 mL'dir.

$$\text{Aflatoksin (ng / g)} = A \times (T_v / I_v) \times (1 / W) \quad (2.9)$$

Burada, Aflatoksin miktarı hesaplanırken, A cihazın ng/100 mL cinsinden okuduğu Aflatoksin değerini gösterir. T_v , ekstraksiyon sonrası elde edilen toplam eluat hacmini; I_v , cihazın analiz için kullandığı örnek hacmini ifade eder. Bu oran, numunenin ağırlığı olan W ile ilişkilendirilerek ng/g cinsinden Aflatoksin miktarı hesaplanır.

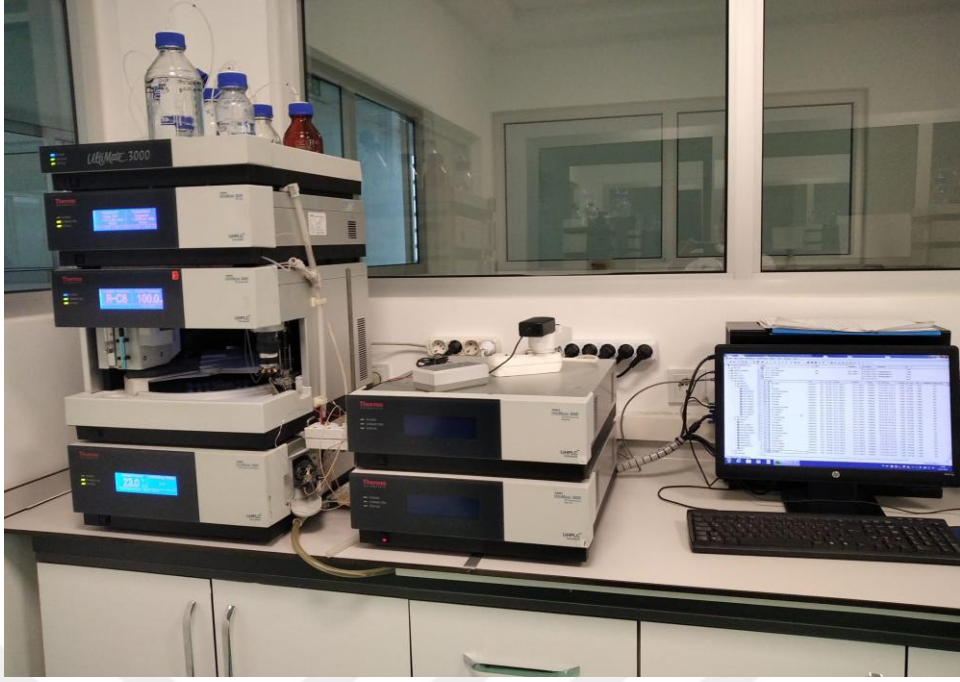
$$\text{Aflatoksin} = A \times (2000 / 100) \times (1 / W) = A \times 20 \quad (2.10)$$

Çalışma kapsamında karışık kuruyemiş örneği için aflatoksin tayininde kullanılan yöntemin tespit limiti değerleri (LOQ), ölçüm belirsizliği ve geri kazanım oranlarına ait bilgiler Çizelge 2.2'de sunulmuştur. Diğer yandan Şekil 2.15'te, analizde kullanılan Dionex Ultimate 3000 modeline ait HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) cihazının görseli verilmiştir.

Çizelge 2.2. Aflatoksin analizi LOQ değerleri, ölçüm belirsizliği ve geri kazanım

Analiz Adı	LOQ Değeri ppb	Ölçüm Belirsizliği ±	Geri Kazanım Oranı (%)
Aflatoksin B ₁	1	0,24	90,30
Aflatoksin B ₂	1	0,24	90,32
Aflatoksin G ₁	1	0,22	94,64
Aflatoksin G ₂	1	0,39	75,93

Çizelge 2.2, aflatoksin analizinde kullanılan yöntemle ilişkin performans ölçütlerini detaylı olarak sunmaktadır. Çizelgede, dört farklı aflatoksin türü (B₁, B₂, G₁ ve G₂) için LOQ değerleri, ölçüm belirsizlikleri ve geri kazanım oranları yer almaktadır. Her bir aflatoksin türü için LOQ değeri 1 ppb olarak belirlenmiştir. Ölçüm belirsizliği değerleri aflatoksin türüne göre 0,22 ile 0,39 arasında değişmekte, en düşük belirsizlik Aflatoksin G₁ için, en yüksek belirsizlik ise Aflatoksin G₂ için gözlemlenmiştir. Geri kazanım oranları ise %75,93 ile %94,64 arasında değişmektedir. En yüksek geri kazanım oranı Aflatoksin G₁'de, en düşük oran ise Aflatoksin G₂'de görülmüştür. Bu sonuçlar, kullanılan yöntemin aflatoksin analizinde güvenilir bir performans sergilediğini göstermektedir. HPLC analizine göre aflatoksinlerin alıkonma zamanları şu şekildedir; Aflatoksin G₂; 8,51 dakika, Aflatoksin G₁; 9,55 dakika, Aflatoksin B₂; 11,55 dakika, Aflatoksin B₁; 13,10 dakika. Bu verilere göre, Aflatoksin G₂ en kısa alıkonma zamanına sahip olup, kromatografik sistemde en hızlı ayrışan bileşiktir. Aflatoksin G₁, Aflatoksin G₂'den daha uzun bir alıkonma zamanına sahiptir ve ikinci sırada yer alır. Aflatoksin B₂, alıkonma zamanı açısından üçüncü sırada bulunurken, Aflatoksin B₁ en uzun alıkonma süresine sahip toksin olarak belirlenmiştir. EK-1'de, HPLC cihazının Aflatoksinlere ait kromatogram çıktısı verilmiştir.



Şekil 2.15. HPLC Cihazı, Dionex Ultimate 3000 (Aflatoksin Analizi)

2.2.2.10. Okratoksin A Tayini

Okratoksin A analizi AOAC 2000.03 [226] standardına göre gerçekleştirilmiştir. Analiz numunesi, geniş bir kaba alınarak karıştırılmıştır. Numuneden 25 g $\pm$ 0,1 g hassasiyetle tartılarak bir blendere konulmuş ve üzerine 100 ml Asetonitril + Su karışımı (60 ml asetonitril + 40 ml su) eklenmiştir. Karışım, blenderin ağzı kapalı şekilde 1-2 dakika boyunca yüksek devirde karıştırılmıştır. Elde edilen süzüntüden 4 ml alınarak, 44 ml PBS (fosfat tampon çözeltisi) içeren bir behere ilave edilmiş ve iyice karıştırılmıştır.

İmmunoaffinity kolon (IAC) uygulamasında, karışımın 48 ml'si, saniyede 1-2 damla hızında IAC kolonundan geçirilmiştir. Dilüe edilen numunenin IAC'den geçişinin ardından, kolondan 20 ml PBS çözeltisi geçirilerek kolon yıkanmıştır. Temiz bir vial içerisine alınan kolona, 1,5 ml Methanol ve Asetik Asit (98:2) ve 1,5 ml ultra saf su karışımı eklenmiş, toplamda 3 ml eluat elde edilmiştir. Karışım homojenize edildikten sonra vial kapağı kapatılmış ve 100 μ l enjeksiyon için HPLC cihazına verilmiştir.

HPLC analizinde kullanılan kromatografik şartlar şu şekildedir: Mobil faz, 100 ml hazırlanacak şekilde ultra saf su, asetonitril ve asetik asit karışımı (51:48:1) oranında hazırlanmıştır.

Analiz aşamalarına göre sonuçlar şöyle hesaplanmıştır:

$$W = 25 \text{ g} \times (4 \text{ mL} / 100 \text{ mL}) = 1 \text{ g} \quad (2.11)$$

W = Eluatta toplanan son ağırlık

İmmunoaffinity kolondan geçirilen 48 mL süzüntü 1 g numuneyi temsil etmektedir. Son eluatta toplanan hacim 3000 µL ve cihazın enjekte ettiği hacim ise 100 µL'dir.

$$\text{Okratoksin A (ng / g)} = A \times (T_v / I_v) \times (1 / W) \quad (2.12)$$

Burada, Okratoksin A miktarı hesaplanırken, A cihazın ng/100 µL cinsinden ölçtüğü değeri ifade eder. Tv, ekstraksiyon sonrası elde edilen toplam eluat hacmidir; Iv ise cihazın analize aldığı örnek hacmidir. Bu değerler, numunenin ağırlığı olan W ile oranlanarak Okratoksin A miktarı ng/g cinsinden hesaplanır.

$$\text{Okratoksin A} = A \times (3000 / 100) \times (1 / W) = A \times 30 \quad (2.13)$$

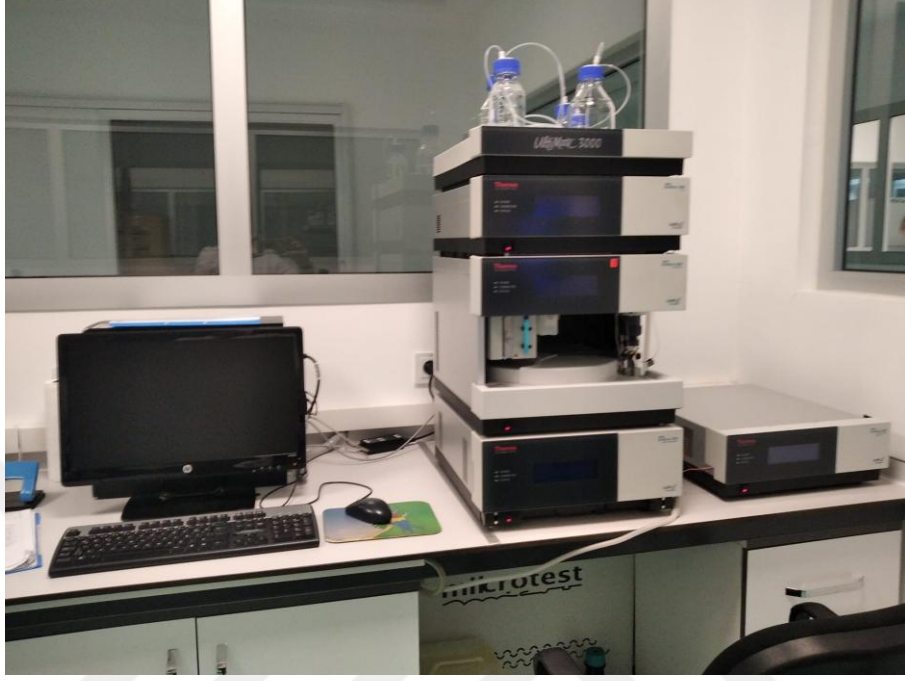
Çalışma kapsamında, buğday örneği için Okratoksin A tayininde kullanılan yöntemle ait tespit limiti değeri (LOQ), ölçüm belirsizliği ve geri kazanım oranı Çizelge 2.3'te sunulmuştur. Diğer yandan Şekil 2.16'da, Okratoksin A analizinde kullanılan Dionex Ultimate 3000 modeline ait HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) cihazının görseli verilmiştir.

Çizelge 2.3. Okratoksin A analizi LOQ değerleri, ölçüm belirsizliği ve geri kazanım

Analiz Adı	LOQ Değeri ppb	Ölçüm Belirsizliği ±	Geri Kazanım Oranı (%)
Okratoksin A	1	0,15	98,39

Söz konusu çizelgede, Okratoksin A analizinde kullanılan yöntemle ait performans kriterlerini göstermektedir. Analizin LOQ değeri 1 ppb olarak belirlenmiştir. Ölçüm belirsizliği ±0,15 olarak ifade edilmiş ve analiz yöntemiyle elde edilen geri kazanım oranı %98,39 gibi oldukça yüksek bir seviyede gerçekleşmiştir. Bu sonuçlar, yöntemin yüksek hassasiyete ve güvenilirliğe sahip olduğunu ve Okratoksin A'nın analizinde etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. Özellikle yüksek geri kazanım oranı, yöntemin doğruluğunu ve numunede hedef bileşenin tespit edilmesindeki başarısını desteklemektedir. Yapılan analizde Okratoksin A (OTA) için alıkonma zamanı (retention time) 8,25 dakika olarak belirlenmiştir. Bu, Okratoksin A'nın HPLC kolonunda ayrılarak dedektöre ulaştığı süreyi ifade etmektedir. Alıkonma zamanı, bileşiğin kolon içindeki hareketi sırasında kolon malzemesiyle

olan etkileşimlerini ve fizikokimyasal özelliklerini yansıtmaktadır. Bu değer, analiz edilen diğer bileşiklerle kıyaslandığında Okratoksin A'nın özgüllüğünü ve ayrışma hızını değerlendirmek için kullanılmaktadır (EK-2).



Şekil 2.16. HPLC Cihazı, Dionex Ultimate 3000 (Okratoksin A Analizi)

2.2.2.11. Zearalenon Analizi

Bu çalışma kapsamında, mısır örneğinde Zearalenon tayini için işletme içi metot (R-Biopharm Rhone Ltd Ref No:A1-RP91.V5 Date: October 2009 revize edilmiştir) [227] kullanılmıştır. Numune hazırlama ve ekstraksiyon işlemleri belirli aşamalarla gerçekleştirilmiştir. Analiz numunesi geniş bir kaba dökülerek iyice karıştırılmıştır. Numuneden $25 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ hassasiyetle tartılarak bir blendere konulmuş ve %75 Asetonitril içeren 125 ml Asetonitril+Su karışımı eklenmiştir. Blender, 2 dakika boyunca yüksek devirde karıştırılarak homojen bir karışım elde edilmiştir. Karışım, Whatman No:4 filtre kağıdından süzülerek filtrat hazırlanmıştır.

Immunoaffinity kolon işlemleri, hazırlanan süzüntünün 20 ml'sine 80 ml PBS eklenmesiyle başlatılmıştır. Elde edilen karışım iyice karıştırılarak pH değeri kontrol edilmiş, gerekirse pH 7,4'e ayarlanmıştır. Bu karışımdan 25 ml alınarak, 5 ml/dk hızında immunoaffinity kolondan geçirilmiştir. Kolon, 20 ml PBS ve 20 ml ultra saf su ile iyice yıkanmıştır. Sonrasında kolon, vialle yerleştirilmiş ve saniyede 1 damla hızla 1,5 ml asetonitril

ile yıkanmıştır. Bu işlemten sonra, kolondan 1,5 ml ultra saf su geçirilmiş ve elde edilen toplam 3 ml'lik karışım iyice homojenize edilmiştir. Hazırlanan karışım, HPLC cihazında enjeksiyon için kullanılan küçük viallere aktarılmıştır. HPLC cihazına 100 µl enjeksiyon yapılarak analiz gerçekleştirilmiştir. HPLC cihazında kullanılan kromatografik şartlar şu şekilde düzenlenmiştir: Mobil faz, Su + Asetonitril + Metanol (46+46+8) oranında hazırlanmıştır.

Analiz aşamalarına göre sonuçlar şöyle hesaplanmıştır:

$$W = 25 \text{ g} \times (20 \text{ ml} / 125 \text{ ml}) \times (25 \text{ ml} / 100 \text{ ml}) = 1 \text{ g} \quad (2.14)$$

W = Eluatta toplanan son ağırlık

İmmunoaffinity kolondan geçirilen 25 ml süzöntü 1 g numuneyi temsil etmektedir. Son eluatta toplanan hacim 3000 µL ve cihazın enjekte ettiği hacim ise 100 µL'dir.

$$\text{Zearalenon (ng / g)} = A \times (T_v / I_v) \times (1 / W) \quad (2.15)$$

Burada, Zearalenon miktarı hesaplanırken, A cihazın ng/100 µL cinsinden okuduğu değeri gösterir. Tv, ekstraksiyon sonrası elde edilen toplam eluat hacmi olup burada 3000 µL'dir. Iv ise cihazın analiz için kullandığı 100 µL'lik örnek hacmidir. Bu oran, numunenin ağırlığı olan W ile ilişkilendirilerek Zearalenon miktarı ng/g olarak hesaplanır.

$$\text{Zearalenon} = A \times (3000 / 100) \times (1 / W) = A \times 30 \quad (2.16)$$

Çalışma kapsamında, mısır örneği için kullanılan Zearalenon tayinine ait tespit limiti değeri (LOQ), ölçüm belirsizliği ve geri kazanım oranları Çizelge 2.4'de detaylı olarak belirtilmiştir. Şekil 2.17'de ise, Zearalenon analizi için kullanılan Dionex Ultimate 3000 model HPLC cihazı gösterilmiştir.

Çizelge 2.4. Zearalenon analizi LOQ değerleri, ölçüm belirsizliği ve geri kazanım

Analiz Adı	LOQ Değeri ppb	Ölçüm Belirsizliği ±	Geri Kazanım Oranı (%)
Zearalenon	10	0,19	102,40

Çizelgede Zearalenon için belirlenen LOQ değeri 10 ppb olarak belirtilmiştir. Ölçüm belirsizliği ±0,19 iken, yöntemin geri kazanım oranı %102,40 olarak kaydedilmiştir. Bu

sonuçlar, analiz yönteminin hassas ve güvenilir olduğunu, Zearalenon tayini sırasında yüksek doğrulukla sonuç elde edildiğini göstermektedir. Geri kazanım oranının %100'e yakın olması, yöntemin etkili bir şekilde Zearalenon'u analiz edebildiğini ortaya koymaktadır. Yapılan analizde, Zearalenon için alıkonma zamanı 9,98 dakika olarak belirlenmiştir. Alıkonma zamanı, Zearalenon'un HPLC kolonundan dedektöre ulaşması için geçen süreyi ifade etmektedir. Bu değer, Zearalenon'un kolon malzemesiyle olan etkileşimlerini ve fizikokimyasal özelliklerini yansıtmaktadır. Zearalenon'un alıkonma zamanı, bu toksinin kolon içindeki diğer bileşiklerden etkin bir şekilde ayrıldığını ve belirlenen analiz koşullarına uygun olarak tanımlanabilir bir pik oluşturduğunu göstermektedir. Ayrıca bu süre, standart referans değerlerle kıyaslandığında, Zearalenon'un doğru bir şekilde tespit edildiğinin bir göstergesidir (EK-3).



şekil 2.17. HPLC Cihazı, Dionex Ultimate 3000 (Zearalenon Analizi)

2.2.2.12. Deoksinivalenol Analizi

İşletme içi metot (R-Biopharm Cereal Deoksinivalenol Extraction Method Ref No:A1-P50.V1, Nisan 2003 revize edilmiştir) [228] kullanılarak Deoksinivalenol tayini gerçekleştirilmiştir. Numune hazırlama ve ekstraksiyon süreci, analiz numunesinin geniş bir kaba dklerek iyice karıştırılmasıyla başlamıştır. Daha sonra $25 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ hassasiyetle tartılan numune bir blendere alınmış ve üzerine 200 ml su ilave edilmiştir. Blender, yüksek devirde 2

dakika süreyle çalıştırılarak karışım homojenize edilmiştir. Elde edilen karışım, Whatman 4 filtre kağıdından süzülerek süzüntü hazırlanmıştır.

İmmunoaffinity kolon ve enjeksiyon aşamasında, süzüntüden 2 ml alınarak saniyede 1-2 damla hızla IAC kolondan geçirilmiştir. Daha sonra kolondan 5 ml ultra saf su geçirilerek kolon yıkanmış ve ardından kolondan bir miktar hava geçirilmiştir. İmmunoaffinity kolonunun altına bir vial veya tüp yerleştirilmiş ve kolondan saniyede 1-2 damla hızla 1,5 ml metanol geçirilerek eluat vial veya tüpte toplanmıştır. Toplanan eluat, 60°C’de azot gazı altında tam kuruluğa kadar uçurulmuş ve ardından 1 ml mobil faz ile çözdürülüp vortekslenmiştir. Hazırlanan numune, HPLC cihazına 100 µl enjeksiyon yapılarak analiz edilmiştir.

HPLC analizinde kullanılan kromatografik şartlar, mobil fazın su, asetonitril ve metanolün 94/3/3 (v/v/v) oranlarında karışımından oluşmaktadır.

Analiz aşamalarına göre sonuçlar şöyle hesaplanmıştır:

$$\text{FORMÜL} = W_{\text{DON}} = M \times S \times V / F \times N \times I \Rightarrow W_{\text{DON}} = M \times 40 \quad (2.17)$$

Burada, Deoksinivalenol miktarı hesaplanırken, M, HPLC cihazında elde edilen kromatogram sonucunu ifade eder. S, ekstraksiyon sırasında kullanılan su hacmini; V, uçurma işleminden sonra elde edilen toplam hacmi; F, kolondan geçirilen filtrat hacmini; N, analizde kullanılan numune miktarını; I ise HPLC’ye enjekte edilen örnek hacmini belirtir. Bu değerlerin formüldeki oranına göre yapılan sadeleştirme ile sonuç doğrudan $M \times 40$ şeklinde ifade edilir.

Çalışma kapsamında, mısır örneği için kullanılan Deoksinivalenol tayinine ait tespit limiti değeri (LOQ) değeri, ölçüm belirsizliği ve geri kazanım oranları ilgili Çizelge 2.5’te detaylı olarak belirtilmiştir. Diğer yandan, Şekil 2.18’de, Deoksinivalenol analizi için kullanılan HPLC cihazını (Agilent 1100) ve çalışma ortamı gösterilmiştir.

Çizelge 2.5. Deoksinivalenol analizi LOQ değerleri, ölçüm belirsizliği ve geri kazanım

Analiz Adı	LOQ Değeri ppb	Ölçüm Belirsizliği ±	Geri Kazanım Oranı (%)
Deoksinivalenol	250	0,18	95,75

Çizelgeye göre, Deoksinivalenol analizi için belirlenen LOQ değeri 250 ppb olarak kaydedilmiştir. Bu, yöntemin tespit edebileceği en düşük miktarı ifade eder ve analizde kullanılan yöntemin hassasiyetini vurgulamaktadır. Ölçüm belirsizliği $\pm 0,18$ olarak belirlenmiş olup, ölçümlerdeki güvenilirlik seviyesini yansıtmaktadır. Ayrıca, geri kazanım oranı %95,75 olarak hesaplanmıştır, bu da yöntemin doğruluğunu ve etkinliğini göstermektedir. Bu veriler, Deoksinivalenol tayini için kullanılan yöntemin güvenilir bir şekilde uygulanabilir olduğunu ve sonuçların güvenilir olduğunu desteklemektedir. Yapılan analizde HPLC kromatogramında Deoksinivalenol (DON) için alıkonma zamanı 6,076 dakika olarak belirlenmiştir. Alıkonma zamanı, bileşiğin kolonla olan etkileşimlerini ve dedektöre ulaşma süresini yansıtarak analizin doğruluğunu ve güvenilirliğini göstermektedir. Kromatogramda Deoksinivalenol'a ait pik net bir şekilde tanımlanmış ve diğer bileşiklerden başarılı bir şekilde ayrıştırılmıştır. Pik alanı ve yüksekliği, numunedeki Deoksinivalenol miktarını hesaplamada kritik parametrelerdir ve analizin hassasiyetini desteklemektedir. Ayrıca, alıkonma zamanı literatürdeki standart verilerle uyumlu olduğundan, yöntemin doğruluğu ve güvenilirliği pekiştirilmiştir. Kromatogramda ek piklerin bulunmaması, kullanılan HPLC yönteminin spesifik olduğunu ve Deoksinivalenol'un güvenilir bir şekilde tespit edildiğini göstermektedir. Genel olarak, bu sonuçlar, toksin analizlerinde metodolojik hataların olmadığını ve elde edilen verilerin güvenilir bir temel oluşturduğunu ortaya koymaktadır (EK-4).



Şekil 2.18. HPLC Cihazı, Agilent 1100 (Deoksinivalenol Analizi)

2.2.2.13. Fumonisin B1 ve B2 Analizleri

Fumonisin analizi, AOAC 2001.04 [229] standardına göre gerçekleştirilmiştir. Numune hazırlama ve ekstraksiyon işlemi için, analiz numunesi geniş bir kaba alınarak iyice karıştırılmıştır. Numuneden 20 g±0,1 g hassasiyetle tartılarak bir blendere yerleştirilmiş, üzerine 100 ml (25 ml asetonitril, 25 ml metanol, 50 ml su) karışımı eklenmiştir. Blenderin kapağı kapatıldıktan sonra numune 1-2 dakika boyunca yüksek devirde karıştırılmış ve ardından içerik, Whatman No. 4 filtre kağıdından süzülerek temizlenmiştir.

İmmunoaffinity kolon işlemi ve enjeksiyon aşamasında, filtre edilen süzüntüden 10 ml alınarak 40 ml PBS çözeltisiyle karıştırılmıştır. Bu karışımdan 25 ml, 1-2 damla/saniye hızla immünoafinite kolonundan (IAC) geçirilmiştir. Kolon, 10 ml PBS çözeltisiyle iyice yıkanmış ve ardından bir miktar hava geçirilerek temizlenmiştir. Daha sonra, kolon altına yerleştirilen vial içine 1,5 ml metanol ve 1,5 ml ultra saf su 1-2 damla/saniye hızla geçirilerek eluat toplanmıştır. HPLC cihazında türevlendirme için cihaz, numuneden 30 µl ve OPA çözeltisinden 30 µl almış ve bu karışımı toplam 60 µl olarak cihaz enjeksiyonuna vermiştir.

HPLC analizinde kromatografik şartlar, metanol ve 0,1 M NaH₂PO₄ (%77/%23, v/v) mobil fazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Analiz aşamalarına göre sonuçlar şöyle hesaplanmıştır:

$$\text{FORMÜL} = W_{\text{FUMO}} = M \times E \times V \times Z \times O / F \times L \times N \times I \times P \Rightarrow W = M \times 100 \quad (2.18)$$

Burada, Fumonisin miktarı hesaplanırken, M, HPLC cihazında elde edilen kromatogram değeridir. E, ekstraksiyon için kullanılan çözelti hacmini; V, PBS ile yapılan seyreltme sonrası oluşan toplam hacmi; Z, elde edilen toplam eluat hacmini; O, OPA ile türevlendirme sonrası oluşan hacmi ifade eder. F ve L, sırasıyla birinci ve ikinci filtrat hacimlerini; N, analizde kullanılan numune miktarını; P, türevlendirme için alınan eluat hacmini ve I, HPLC'ye enjekte edilen örnek hacmini temsil eder. Bu değişkenlerin oranı sadeleştirildiğinde sonuç doğrudan M x 100 olarak hesaplanır.

Çalışma kapsamında, mısır örneği için fumonisin tayininde kullanılan yöntemin tespit limiti değerleri (LOQ), ölçüm belirsizliği ve geri kazanım oranlarına ilişkin bilgiler ayrıca Çizelge 2.6'da sunulmuştur. Şekil 2.19'da ise, Fumonisin analizi için kullanılan HPLC cihazı Dionex Ultimate 3000 modeli gösterilmiştir.

Çizelge 2.6. Fumonisin analizi LOQ değerleri, ölçüm belirsizliği ve geri kazanım

Analiz Adı	LOQ Değeri ppb	Ölçüm Belirsizliği ±	Geri Kazanım Oranı (%)
Fumonisin B1	200	0,23	89,19
Fumonisin B2	200	0,28	85,92

Çizelgeye göre, Fumonisin B1 ve B2 için LOQ değeri her iki toksin için de 200 ppb olarak belirtilmiştir. Fumonisin B1'in ölçüm belirsizliği $\pm 0,23$ iken, geri kazanım oranı %89,19 olarak hesaplanmıştır. Fumonisin B2'nin ölçüm belirsizliği $\pm 0,28$ olup, geri kazanım oranı %85,92 olarak elde edilmiştir. Bu veriler, yöntemlerin doğruluğu ve hassasiyeti hakkında bilgi vermekte ve fumonisin analizlerinde yöntemin güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. Özellikle geri kazanım oranlarının %85'in üzerinde olması, yöntemin etkili bir ekstraksiyon ve analiz sağladığını desteklemektedir. Yapılan analizde elde edilen kromatogramda, Fumonisin B1 ve B2'nin alıkonma zamanları sırasıyla 4,590 dakika ve 9,507 dakika olarak belirlenmiştir. Alıkonma zamanlarının net bir şekilde ayrılmış olması, kullanılan yöntemin analitik hassasiyetini ve güvenilirliğini göstermektedir. Fumonisin B1'in piki daha erken bir alıkonma zamanında ortaya çıkmış ve daha yüksek bir relatif alan yüzdesine (%56,36) sahipken, Fumonisin B2'nin relatif alan yüzdesi daha düşük (%43,64) olarak tespit edilmiştir. Her iki pik de belirgin, simetrik ve iyi ayrılmış bir şekilde gözlenmiş olup, yöntem validasyonunda önemli bir kriter olan seçiciliği sağlamaktadır. Piklerin yüksekliği ve alanı, numunedeki Fumonisin B1 ve B2 miktarlarının hesaplanmasında kullanılmış ve toplam miktar 2229,848 ng/100µl olarak hesaplanmıştır. Bu veriler, analiz sürecinin başarılı bir şekilde tamamlandığını ve HPLC sisteminin toksinleri doğru bir şekilde tespit ettiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, elde edilen sonuçlar literatür ile uyumlu olup yöntem doğruluğunu desteklemektedir (EK-5).



Şekil 2.19. HPLC Cihazı, Dionex Ultimate 3000 (Fumonisin Analizi)

2.2.2.14. Mineral Analizleri

NMKL 186 [230] standardına göre yapılan analizde, ağır metal konsantrasyonlarının tespitinde mikrodalga yakma sistemi ve ICP-MS cihazı kullanılmıştır. Numunelerden 0,2-0,5 gram kuru madde olacak şekilde örnekler alınmış, yakma tüpüne yerleştirilerek üzerine 5 mL nitrik asit ve 2 mL hidrojen peroksit eklenmiştir. Daha sonra yakma tüpü kilitlenerek mikrodalga fırına yerleştirilmiş ve numunenin yağ ve rutubet içeriğine uygun olarak belirlenen program başlatılmıştır. İşlem tamamlandıktan sonra tüpler soğutulmuş, içeriği seyreltilip 50 mL'ye tamamlanmış ve iç standart ile karıştırılarak ölçüme hazır hale getirilmiştir.

ICP-MS cihazında ölçüm, 5-240 amu kütle aralığında gerçekleştirilmiş ve cihazın rutin ayarları doğrultusunda, çözünürlüğün %5 pik yüksekliğiyle 1 amu pik genişliğinde yapılmış olduğu belirlenmiştir. Poliatomik iyon girişimlerini azaltmak için çarpışma (He gazı) veya reaksiyon (O_2 gazı) hücrelerinin kullanılmış olduğu tespit edilmiştir. Cihazın plazma gücünün genellikle 1100-1500 W aralığında seçilmiş olduğu kaydedilmiştir.

Ölçümler sırasında, isobarik girişimlerin cihaz yazılımındaki düzeltme faktörleriyle giderilmiş, poliatomik girişimlerin ise plazma gazı ayarları ve matematiksel düzeltmelerle düzeltilmiş olduğu belirlenmiştir. Yüksek tuz içerikli numunelerin kon sistemi üzerinde birikmeye neden olabileceği ve yüksek konsantrasyonlu ölçümlerden sonra taşıma (carry over)

etkisinin oluşabileceği göz önünde bulundurularak, yıkama sürelerinin uzatılmış ve blank kontrolünün yapılmış olduğu tespit edilmiştir.

Veri analizi, cihazın kalibrasyon grafiği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Numune çözeltisindeki konsantrasyon (mg/L), çözeltinin hacmi (ml), seyreltme faktörü ve numune ağırlığı (g) göz önüne alınarak mineral konsantrasyonu (mg/kg) hesaplanmıştır. Sonuçlar kuru madde oranına göre belirlenmiştir. Çalışma kapsamındaki numuneler için mineral tayininde kullanılan yöntemle ait tespit limiti değerleri (LOQ), ölçüm belirsizliği ve geri kazanım oranları Çizelge 2.7’de verilmiştir.

Çizelge 2.7. Mineral analizi LOQ değerleri, ölçüm belirsizliği ve geri kazanım

Analiz Adı	LOQ Değeri ppm	Ölçüm Belirsizliği ±	Geri Kazanım Oranı (%)
Kurşun (Pb)	0,01	0,28	98,1
Kadmiyum (Cd)	0,01	0,28	98,1
Arsenik (As)	0,01	0,28	98,1
Cıva (Hg)	0,01	0,28	98,1
Kalay (Sn)	0,1	0,28	98,1
Demir (Fe)	0,1	0,28	98,1
Bakır (Cu)	0,01	0,28	98,1
Çinko (Zn)	0,1	0,28	98,1
Fosfor (P)	0,6	0,28	98,1
Sodyum (Na)	0,1	0,28	98,1
Magnezyum (Mg)	0,1	0,28	98,1
Potasyum (K)	0,2	0,28	98,1
Kalsiyum (Ca)	0,1	0,28	98,1
Krom (Cr)	1	0,28	98,1

Analiz edilen tüm minerallerin LOQ değerleri düşük bir seviyededir ve bu durum yöntemin yüksek hassasiyetini ortaya koymaktadır. Ayrıca, tüm mineraller için ölçüm belirsizliği $\pm 0,28$ olarak belirlenmiş olup, bu değer yöntemin güvenilirliğini desteklemektedir. Geri kazanım oranlarının tüm mineraller için %98,1 gibi yüksek bir seviyede olması, yöntemin doğruluğunu ve ölçümlerin gerçek değerlerle uyumlu olduğunu göstermektedir. Kurşun (Pb), Kadmiyum (Cd), Arsenik (As), Cıva (Hg), Kalay (Sn), Demir (Fe), Bakır (Cu), Çinko (Zn), Fosfor (P), Sodyum (Na), Magnezyum (Mg), Potasyum (K), Kalsiyum (Ca) ve Krom (Cr) gibi elementlerin analizinde, bu yüksek geri kazanım oranı, yöntem validasyonunda önemli bir başarı sağlamaktadır. Şekil 2.20’de, ağır metal ve mineral madde analizlerde kullanılan modern bir cihaz olan Nexion 350 X ICP-MS yer almaktadır.



Şekil 2.20. Nexion 350 X ICP-MS

2.2.2.15. Sitotoksite Testi

ISO 10993-5 [231] standardına göre gerçekleştirilen bu çalışmada, toksinlerin ve olası parçalanma ürünlerinin canlı hücreler üzerindeki sitotoksik etkilerini incelemek amacıyla MTT (3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür) analizi yapılmıştır. MTT, canlı hücrelerde mitokondriye bağlı bir reaksiyon sonucu tetrazolyum tuzunun suda çözünmeyen formazan kristallerine dönüşmesiyle hücre canlılığını belirleyen bir tetrazolyum türevidir. Formazan kristalleri, 570 nanometre dalga boyundaki ışığı absorbe eder ve renk yoğunluğu ile hücre canlılığı arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır. Bu kapsamda, sitotoksite testleri iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada, farklı konsantrasyonlardaki mikotoksin

  zeltilerinin hücre canlılığı üzerindeki etkileri analiz edilmiştir. İkinci aşamada ise, soğuk plazma işleminden geçirilen mikotoksin çözeltileri hücrelerle temas ettirilerek etkileri yeniden değerlendirilmiştir.

Hücre kültürü çalışmalarında yaygın olarak kullanılan tetrazolyum tuzu olan MTT, lipofilik yan grupları ve pozitif net yükü sayesinde hücre zarını geçebilmekte ve canlı hücrelerde oksidoredüktazlar, dehidrojenazlar, oksidazlar ve peroksidazlar gibi enzimler tarafından indirgenerek formazan kristallerine dönüşmektedir. Bu kristallerin çözünmesi için izopropanol gibi çözücüler kullanılarak spektrofotometrik ölçüm yapılmaktadır [160].

MTT analizi için, 96 kuyucuklu mikrolakalar kullanılmış ve her kuyucuğa 1x10⁴ hücre içeren 100 mikrolitre hücre süspansiyonu eklenmiştir. Hücreler, %5 CO₂, 37 C sıcaklık ve %95 üzeri rutubet koşullarında 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, test numunesinin 4 farklı konsantrasyonu (100 mikrolitre) uygulanarak hücreler aynı koşullarda 24 saat daha inkübe edilmiştir. Bu sürecin ardından morfolojik değişiklikler mikroskop ile gözlemlenmiş ve test ortamı uzaklaştırılmıştır. Her kuyucuğa 50 mikrolitre MTT   zeltisi eklenmiş ve 37 C’de 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, MTT   zeltisi uzaklaştırılarak her kuyucuğa 100 mikrolitre izopropanol eklenmiş ve UV spektrofotometrede 570 ve 650 nanometre dalga boylarında ölçüm yapılmıştır [160, 162].

L-929 hücreleri flask yüzeyinden tripsin-EDTA   zeltisi kullanılarak ayrılmış ve 1000 rpm hızında, +4 C’de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Pellet haline gelen hücreler, tekrar besiyerinde süspanse edilerek mikrolakalara eklenmiştir. Hücreler, %5 CO₂, 37 C sıcaklık ve %90 üzeri rutubet koşullarında inkübe edilmiştir. Mikotoksin   zeltileri (Toplam Aflatoksin, Deoksinivalenol, Fumonisin B1 ve B2, Okratoksin A, Zearalenon) ve soğuk plazma uygulanmış mikotoksin çözeltileri, 1, 1:10, 1:100, 1:250 ve 1:500 oranlarında besin ortamı ile seyreltilerek hazırlanmış ve her kuyucuğa 100 mikrolitre olarak uygulanmıştır. Hücreler, bu koşullarda 24 saat daha inkübe edilmiş, ardından ortamlar aspire edilerek kuyucuklar fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkanmıştır. Her kuyucuğa 50 mikrolitre MTT   zeltisi (10 mg/ml) eklenmiş ve 37 C’de 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon tamamlandıktan sonra MTT   zeltisi uzaklaştırılmış ve her kuyucuğa 100 mikrolitre izopropanol eklenmiştir. 15 dakikalık inkübasyonun ardından, UV spektrofotometrede 570 nanometre dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Hücre canlılığında %30’dan fazla bir azalma, sitotoksik etki olarak değerlendirilmiştir [161, 162].

Çizelge 2.8. Sitotoksosite analizi çalışma koşulları

Analiz Koşulları	Hücre Hattı Bilgileri	Hücre Kültürü Koşulları	Sitotoksosite Testi
Hücre Hattı	L-929 Fibroblast Hücresi	-	-
Besiyeri	-	Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)	-
Ortam Koşulları	-	37°C, %5 CO ₂ , %95 rutubet	-
Besin Ortamı	-	DMEM + %10 FBS + %1 Glutamin + %1 Sodyum Piruvat (Antibiyotik kullanılmamıştır.)	-
Test Adı, Metodu	-	-	MTT, ISO 10993-5
Testin Prensibi	-	-	3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi, hücre canlılığını ölçmek için kullanılan bir yöntemdir. Öncelikli olarak mitokondrilerde bulunan dehidrogenazların aktivitesini hızlı bir şekilde ölçer. Prolifere olan hücrelerin tetrazolyum ile formazan ürünleri oluşturması esasına dayanır ve meydana gelen renk değişimi absorbans ölçümü (570 nm) ile değerlendirilir.

Çizelge 2.8’de, sitotoksisite analizinin çalışma koşullarını detaylı bir şekilde sunmaktadır. Analiz, L-929 fibroblast hücre hattı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Hücre kültürü koşulları, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) kullanılarak sağlanmış ve hücreler 37°C, %5 CO₂, %95 rutubet koşullarında inkübe edilmiştir. Besin ortamı, %10 fetal bovine serum (FBS), %1 glutamin ve %1 sodyum piruvat içermektedir. Analiz metodu olarak ISO 10993-5 standardına uygun MTT testi kullanılmıştır.

MTT testi, hücre canlılığını belirlemek için mitokondrilerdeki dehidrojenazların aktivitesini hızlı bir şekilde ölçer. Hücrelerde tetrazolyum tuzunun formazan kristallerine dönüştürülmesi esasına dayanan test, hücrelerin proliferasyon kapasitesini ölçmekte etkilidir. Elde edilen renk değişimi, 570 nanometre dalga boyunda ölçülen absorbans değeriyle değerlendirilmiştir. Bu koşullar, toksinlerin ve parçalanma ürünlerinin hücre canlılığı üzerindeki etkilerini incelemek için uygun bir temel sağlamaktadır.



Şekil 2.21. Agilent BioTek Epoch 2 Microplate Spectrophotometer

Şekil 2.21’de, Agilent BioTek Epoch 2 Microplate Spectrophotometer cihazı yer almaktadır. Bu cihaz, mikrotitre plakalarında gerçekleştirilen spektrofotometrik ölçümler için tasarlanmıştır. Sitotoksisite analizlerinde ve özellikle MTT testi gibi hücre canlılığı değerlendirme yöntemlerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Cihaz, hassasiyetle ölçüm yapabilen bir spektrofotometre olup, farklı dalga boylarında absorbans ölçümü gerçekleştirebilir.

L-929 hücre hattı, çeşitli toksikolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan bir fibroblast hücre hattıdır ve toksinlere maruziyetin hücre üzerindeki etkilerini incelemek için

uygun bir modeldir. L-929 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi amacıyla kullanılan toksin standartları Çizelge 2.9’da gösterilmektedir.

Çizelge 2.9. L-929 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi amacıyla kullanılan toksin standartları

Toksin Türü	Standart Miktarı ppb	Soğuk Plazma Uygulanmış Standart Miktarı ppb	Soğuk Plazma Uygulama Süresi Dak	Çözücü, %50 / %50
Toplam Aflatoksin (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂)	30,69*	5,70*	4**	Metanol / Su
Okratoksin A	20*	5,94*	4**	[Metanol (%98) +Asetik Asit (%2)] / Su
Zearalenon	197,23*	50,74*	8**	Asetonitril / Su
Deoksinivalenol	1002,06*	530,96*	8**	Su (%94) + Metanol (%3) + Asetonitril (%3)
Fumonisin (B1 + B2)	2229,85*	1084,91*	8**	Metanol / Su

*Çözeltildeki toksin standardı miktarıdır. **Çalışma kapsamında toksinlere maksimum seviyede etkili olan sürelerdir.

2.2.2.16. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler, IBM'in Statistical Software (SPSS version 27, IBM Corp.) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu analizler, soğuk plazma uygulanan numuneler ile kontrol numuneleri arasındaki farkların anlamlı olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Veriler üzerinde ikili varyans analizi (ANOVA) uygulanarak gruplar arasındaki farklılıklar %95 güven aralığında ($p < 0.05$) değerlendirilmiştir. ANOVA sonucunda anlamlı farklılıklar tespit edildiğinde, Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılarak hangi gruplar arasında farklılıklar olduğu detaylı bir şekilde incelenmiştir. Son olarak, analizler neticesinde elde edilen sadece iki örnek arasındaki fark, %95 güven aralığıyla eşleştirilmiş örneklem “t-testi” (paired-samples t-test) ile belirlenmiştir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

3.1. Karışık Kuruyemişte Gerçekleştirilen Analizler

3.1.1. AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂ ile TopAF Analiz Sonuçları

Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Yönetmelikte karışık kuruyemişler için AFB₁ limit değeri 5 ppb, TopAF limit değeri 10 ppb olarak belirlenmiştir. Doğal yollarla toksin içeren kontrol örneğinde AFB₁ miktarı 10,53 ppb, AFB₂ miktarı 2,33 ppb ve TopAF miktarı 12,86 ppb olarak tespit edilmiştir. Yapay olarak toksin ilave edilen kontrol örneğinde AFB₁ miktarı 10,33 ppb, AFB₂ miktarı 2,27 ppb, AFG₁ miktarı 8,09 ppb, AFG₂ miktarı 1,90 ppb, TopAF miktarı 22,59 ppb olarak bulunmuştur. Toksin standart çözeltisi AFB₁ miktarı 17,45 ppb, AFB₂ miktarı 4,11 ppb, AFG₁ miktarı 7,68 ppb, AFG₂ miktarı 1,44 ppb, TopAF miktarı 30,69 ppb olarak hazırlanmıştır. ABSP uygulaması sonrasında doğal toksin içeren karışık kuruyemiş örneklerinde AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂ ile TopAF analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular aşağıda yer alan Çizelge 3.1’de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. ABSP uygulamasının doğal toksin içeren karışık kuruyemiş örneklerinde AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂ ile TopAF üzerine etkisi

Uygulama Süresi	AFB ₁ ppb	AFB ₂ ppb	AFG ₁ ppb	AFG ₂ ppb	TopAF ppb
Kontrol	10,53±0,13 ^a	2,33±0,03 ^a	<LOQ	<LOQ	12,86±0,16 ^a
4 dakika	10,15±0,17 ^b	2,25±0,05 ^b	<LOQ	<LOQ	12,40±0,10 ^b
8 dakika	9,14±0,12 ^c	2,23±0,03 ^b	<LOQ	<LOQ	11,38±0,12 ^c
16 dakika	7,94±0,11 ^d	1,99±0,03 ^c	<LOQ	<LOQ	9,94±0,13 ^d

Aynı sütunda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubunda Aflatoksin B₁ düzeyi 10,53 ppb iken, 4 dakikalık ABSP uygulaması ile 10,15 ppb'ye, 8 dakikada 9,14 ppb'ye, 16 dakikada ise 7,94 ppb'ye düşmüştür. ABSP uygulaması süresi arttıkça Aflatoksin B₁ miktarında anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Aflatoksin B₂ düzeyi kontrol grubunda 2,33 ppb'dir. ABSP uygulaması ile 4 dakikada 2,25 ppb, 8 dakikada 2,23 ppb, 16 dakikada ise 1,99 ppb'ye düşmüştür. Benzer şekilde Aflatoksin B₂ düzeyinde de azalma gerçekleşmiştir. Tabloda belirtilen AFG₁ ve AFG₂ düzeyleri her durumda <LOQ, yani ölçüm limitinin altında kalmıştır.

Bu nedenle bu toksinler üzerinde değerlendirme yapılamamıştır. Kontrol grubunda toplam Aflatoksin miktarı 12,86 ppb'dir. ABSP uygulaması ile bu değer 4 dakikada 12,40 ppb, 8 dakikada 11,38 ppb ve 16 dakikada 9,94 ppb'ye düşmüştür. ABSP uygulaması toplam aflatoksin düzeylerini anlamlı bir şekilde azaltmıştır. ABSP, aflatoksinlerin (özellikle AFB₁ ve AFB₂) miktarını azaltmada etkili olmuştur. Uygulama süresi arttıkça aflatoksin seviyelerindeki azalma daha belirgin hale gelmiştir. Bu sonuçlar, ABSP'nin toksinlerin azaltılmasında potansiyel bir yöntem olduğunu göstermektedir.

ABSP uygulaması sonrasında spike toksin içeren karışık kuruyemiş örneklerinde AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂ ve TopAF analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular aşağıda yer alan Çizelge 3.2'de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. ABSP uygulamasının yapay (spike) toksin içeren karışık kuruyemiş örneklerinde AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve TopAF üzerine etkisi

Uygulama Süresi	AFB ₁ ppb	AFB ₂ ppb	AFG ₁ ppb	AFG ₂ ppb	TopAF ppb
Kontrol	10,33±0,19 ^a	2,27±0,01 ^a	8,09±0,13 ^a	1,90±0,02 ^a	22,59±0,13 ^a
4 dakika	8,14±0,10 ^b	1,83±0,06 ^b	7,27±0,17 ^b	1,38±0,08 ^b	18,32±0,19 ^b
8 dakika	7,91±0,17 ^c	1,51±0,06 ^c	5,64±0,13 ^c	1,16±0,03 ^c	16,44±0,12 ^c
16 dakika	1,20±0,14 ^d	0,32±0,04 ^d	3,67±0,14 ^d	0,99±0,01 ^d	6,18±0,12 ^d

Aynı sütunda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p < 0.05$)

Elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubunda 10,33 ppb olarak ölçülen AFB₁ değeri, 16 dakikalık ABSP uygulaması sonunda 1,20 ppb'ye düşmüştür. Kontrol grubundaki 2,27 ppb olan AFB₂ seviyesi, 16 dakika sonunda 0,32 ppb'ye düşmüştür. AFG₁, kontrol grubundaki 8,09 ppb'den 3,67 ppb'ye gerilemiştir. AFG₂ ise 1,90 ppb'den 0,99 ppb'ye azalmıştır. Her iki toksinde de benzer düşüşler gözlenmiştir. Toplam aflatoksin seviyesinde kontrol grubundaki 22,59 ppb değeri, 16 dakika sonunda 6,18 ppb'ye düşmüştür.

ABSP yöntemi, karışık kuruyemişlerdeki yapay aflatoksin seviyelerini önemli ölçüde azaltmıştır. Özellikle toksisite seviyesi yüksek olan AFB₁'de, uygulama süresine bağlı olarak belirgin bir azalma görülmüştür. Uygulama süresi arttıkça toksin degradasyon oranı da artmıştır. Bu durum, ABSP'nin toksin detoksifikasyonunda etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir. Toksin seviyelerindeki azalmanın yanı sıra, ABSP'nin ürün kalitesi üzerindeki etkilerinin de araştırılması gereklidir. Sonuçlar, ABSP'nin gıda güvenliği alanında, özellikle de

mikotoksinlerin detoksifikasyonu için umut verici bir teknoloji olabileceğini ortaya koymaktadır.

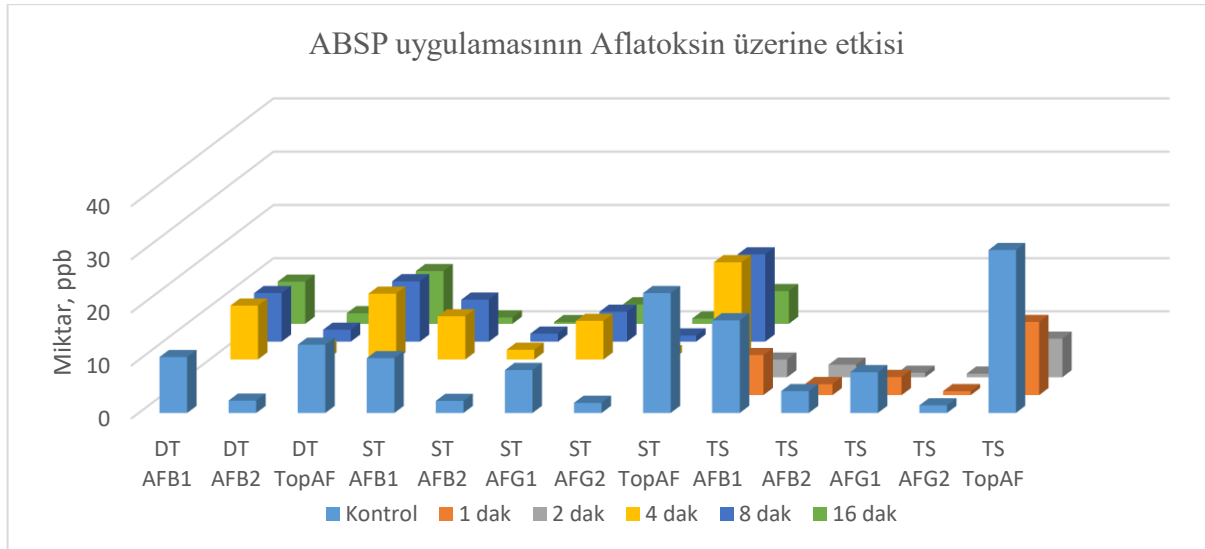
Bununla birlikte ABSP uygulaması sonrasında standart toksin içeren çözeltilerde AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve TopAF analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular aşağıdaki Çizelge 3.3’de sunulmuştur.

Çizelge 3.3. ABSP uygulamasının standart toksin içeren çözeltilerde AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve TopAF üzerine etkisi

Uygulama Süresi	AFB ₁ ppb	AFB ₂ ppb	AFG ₁ ppb	AFG ₂ ppb	TopAF ppb
Kontrol	17,45±0,13 ^a	4,11±0,14 ^a	7,68±0,11 ^a	1,44±0,03 ^a	30,69±0,28 ^a
1 dakika	7,55±0,15 ^b	2,08±0,13 ^c	3,42±0,13 ^b	0,74±0,03 ^b	13,79±0,11 ^b
2 dakika	3,34±0,11 ^c	2,38±0,13 ^b	0,87±0,07 ^c	0,69±0,10 ^b	7,28±0,13 ^c

Aynı sütunda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubunda 17,45 ppb olarak ölçülen AFB₁ seviyesi, 1 dakikalık ABSP uygulaması sonunda 7,55 ppb’ye ve 2 dakika sonunda 3,34 ppb’ye düşmüştür. Kontrol grubunda 4,11 ppb olan AFB₂ seviyesi, 2 dakika sonunda 2,38 ppb’ye düşmüştür. AFG₁ seviyesi, kontrol grubundaki 7,68 ppb’den 2 dakika sonunda 0,87 ppb’ye düşmüştür. AFG₂ seviyesi ise kontrol grubundaki 1,44 ppb’den 0,69 ppb’ye gerilemiştir. Kontrol grubundaki TopAF seviyesi 30,69 ppb olarak ölçülmüştür. 2 dakika sonunda bu değer 7,28 ppb’ye düşmüştür. Sadece 1 dakikalık uygulama süresiyle bile toksin seviyelerinde belirgin bir azalma gözlemlenmiştir. 2 dakikalık uygulama ile ise bu etki daha da artmıştır. Özellikle AFB₁ seviyesindeki azalma, ABSP’nin toksin detoksifikasyonundaki etkinliğini vurgulamaktadır. Daha kısa sürede daha yüksek toksin degradasyonu sağlanması, ABSP’nin pratik bir yöntem olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, ABSP’nin standart toksin örnekleri üzerinde yüksek oranda etkili bir yöntem olduğunu ve gıda güvenliğini artırmak için kullanılabileceğini göstermektedir.



Şekil 3.1. ABSP uygulamasının Aflatoksin üzerine etkisinin karşılaştırılması (DT: Doğal toksin içeren örnek, ST: Spike yapılan örnek, TS: Toksin standart çözeltisi)

İstatistiksel değerlendirmede; doğal toksin içeren karışık kuruyemiş örneklerinde Aflatoksin B₁ ve Toplam Aflatoksin analiz sonuçlarında varyanslar homojen dağılmıştır ($p>0,05$). Gruplar arasındaki farklar önemlidir ($p<0,05$). Yapay (spike) toksin içeren karışık kuruyemiş örneklerinde AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve TopAF analiz sonuçlarında varyanslar homojen dağılmıştır ($p>0,05$). Gruplar arasındaki farklar önemlidir ($p<0,05$). Toksin içeren standart çözeltide AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve TopAF analiz sonuçlarında varyanslar homojen dağılmıştır ($p>0,05$). Gruplar arasındaki farklar önemlidir ($p<0,05$).

Şekil 3.1, çalışma kapsamındaki örneklerin ABSP uygulamasıyla farklı sürelerde muamelesinin (1, 2, 4, 8 ve 16 dakika) AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve TopAF seviyeleri üzerindeki etkilerini göstermektedir. AFB₁ ve TopAF seviyelerinde uygulama süresine bağlı olarak kademeli bir azalma görülmektedir. Ancak doğal toksin seviyelerindeki azalma oranının, yapay toksin içeren örnekler veya toksin standart çözeltisine kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Doğal toksin içeren örnekte ve spike yapılan örnekte 16 dakikalık uygulamada AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve TopAF seviyeleri önemli ölçüde azalmıştır. Uygulama süresi arttıkça toksin miktarındaki azalma hızlanmaktadır. AFB₁ ve TopAF üzerinde ABSP'nin en etkili olduğu grup olarak öne çıkmaktadır. Toksin seviyelerindeki bu hızlı düşüş, standart çözeltilerin ABSP uygulamasına karşı daha hassas olduğunu göstermektedir. ABSP, tüm toksin örneklerinde (doğal, yapay ve standart çözelti) aflatoksin seviyelerini önemli ölçüde azaltmıştır. Ancak toksin standart çözeltilerinde daha hızlı ve etkili bir azalma sağlanmıştır. Doğal toksin içeren örneklerde gözlenen azalma, toksinlerin matris etkisine bağlı olarak daha sınırlı kalmıştır. Bu durum, ABSP'nin farklı matrislerdeki etkisinin optimize edilmesi gerektiğini

göstermektedir. ABSP'nin toksin miktarı üzerinde kısa sürede sağladığı bu etkili sonuçlar, bu teknolojinin gıda güvenliği ve kalite kontrol süreçlerinde uygulanabilirliğini artırmaktadır. Özellikle yüksek toksin içeren örneklerde (örneğin, yapay olarak eklenmiş toksinler) etkili bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır. Bu sonuçlar, ABSP'nin toksin detoksifikasyonu üzerindeki etkisini açıkça ortaya koymaktadır ve bu teknolojinin gıda işleme süreçlerine entegre edilmesi için güçlü bir dayanak sağlamaktadır.

3.1.2. AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve TopAF Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması

ABSP (doğal ve spike örnek için 4, 8 ve 16 dakika) uygulaması sonrasında doğal örnek ve spike örneklerde AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve TopAF analizleri sonucunda % değişim oranları hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar aşağıdaki Çizelge 3.4'de sunulmuştur.

Çizelge 3.4. ABSP uygulamasının Doğal ve Spike örneklerde AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve TopAF üzerine etkisi

	Doğal Örnek			Spike Örnek		
	4 Dakika	8 Dakika	16 Dakika	4 Dakika	8 Dakika	16 Dakika
AFB₁ (% Değişim)*	%3,6 ^{Ca}	%13,2 ^{Ba}	%24,6 ^{Aa}	%21,2 ^{Cb}	%23,4 ^{Bc}	%88,4 ^{Aa}
AFB₂ (% Değişim)*	%3,4 ^{Ca}	%4,3 ^{Bb}	%14,6 ^{Ab}	%19,4 ^{Cb}	%33,5 ^{Bb}	%85,9 ^{Aa}
AFG₁ (% Değişim)*	**	**	**	%10,1 ^{Cc}	%30,3 ^{Bb}	%54,6 ^{Ab}
AFG₂ (% Değişim)*	**	**	**	%27,4 ^{Ca}	%38,9 ^{Ba}	%47,9 ^{Ac}
TopAF (% Değişim)*	%3,6 ^C	%11,5 ^B	%22,7 ^A	%18,6 ^C	%27,2 ^B	%72,7 ^A

*Doğal ve spike örneklerin kendi arasında olmak kaydıyla aynı satırda yer alan farklı büyük harfler değerler arasındaki farklılığı ifade etmektedir (p<0.05). AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂ için aynı sütundaki farklı küçük harfler istatistiksel olarak farklılığı ifade etmektedir (p<0.05). *% Aflatoksin karşılaştırması için referans örnek olarak kontrol örneği kullanılmıştır. ** Tespit edilemedi.*

Elde edilen sonuçlara göre, ABSP işlemi hem doğal hem de spike örneklerde aflatoksin seviyelerini azaltmada etkili olmuştur. Ancak, spike örneklerde aflatoksin giderme oranı, doğal örneklerle kıyasla daha yüksek bulunmuştur. AFB₁ açısından değerlendirildiğinde, doğal örneklerde en fazla %24,6'lık bir azalma sağlanırken, spike örneklerde bu oran %88,4'e

ulaşmıştır. Benzer şekilde, AFB₂'de doğal örneklerde %14,6'lık bir azalma görülürken, spike örneklerde %85,9 gibi yüksek bir giderim sağlanmıştır. AFG₁ ve AFG₂ doğal örneklerde tespit edilmezken, spike örneklerde zaman arttıkça önemli azalmalar meydana gelmiş, AFG₁ için %54,6, AFG₂ için ise %47,9 oranında aflatoksin giderimi gerçekleşmiştir. Tüm aflatoksin türleri birlikte değerlendirildiğinde, ABSP'nin toplam aflatoksin (TopAF) seviyelerini doğal örneklerde %22,7'ye, spike örneklerde ise %72,7'ye kadar düşürdüğü görülmüştür.

Spike örneklerde toksinlerin daha erişilebilir bir formda olması, ABSP'nin toksin üzerindeki etkisini artırmıştır. Hem doğal hem de spike örneklerde, ABSP uygulama süresi arttıkça toksin miktarındaki düşüş oranı yükselmiştir. Elde edilen sonuçlar ABSP uygulamasının özellikle yapay olarak kontamine edilmiş ürünlerde veya saf toksin çözeltilerinde güçlü bir detoksifikasyon etkisi gösterdiğini kanıtlamıştır. Doğal ürünler üzerindeki etkisini artırmak için, uygulama koşullarının (örneğin, süre, gaz kompozisyonu, sıcaklık) optimize edilmesi gereklidir.

ABSP uygulaması (standart çözelti için 1 ve 2 dakika) sonrasında AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve TopAF analizleri gerçekleştirilmiş ve buna bağlı olarak % değişim oranları hesaplanmıştır. Analiz sonuçlarındaki % değişim oranları aşağıda yer alan Çizelge 3.5'de sunulmuştur.

Çizelge 3.5. ABSP uygulamasının standart çözeltide AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve TopAF üzerine etkisi

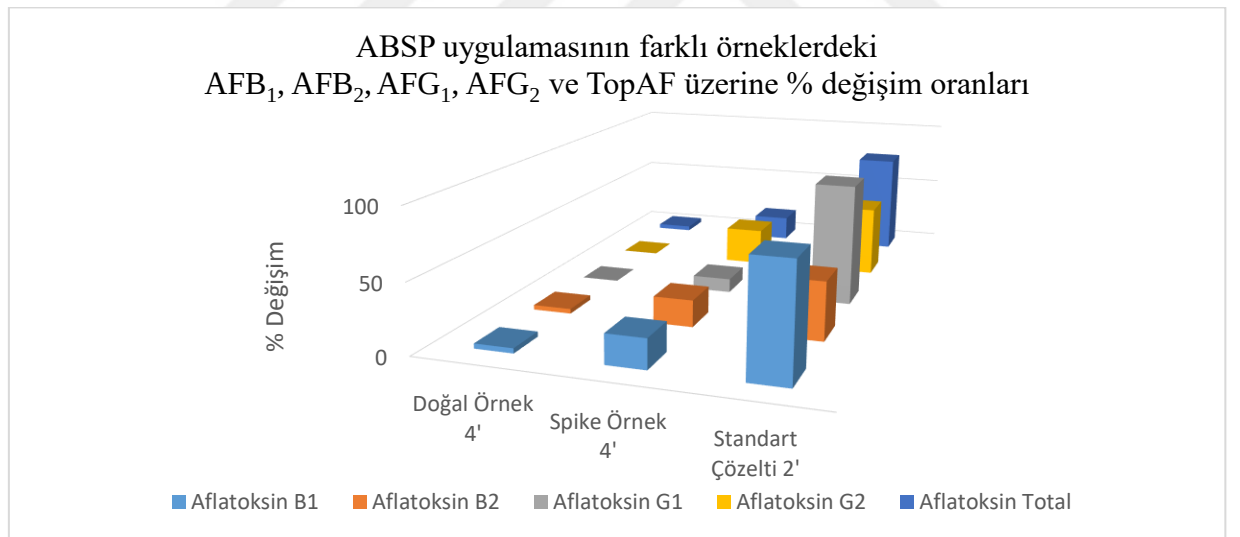
Standart Çözelti		
	1 Dakika	2 Dakika
AFB₁ (% Değişim)*	%56,7 ^b	%80,9 ^a
AFB₂ (% Değişim)*	%49,4 ^a	%42,1 ^b
AFG₁ (% Değişim)*	%55,5 ^b	%88,7 ^a
AFG₂ (% Değişim)*	%48,6 ^b	%52,1 ^a
TopAF (% Değişim)*	%55,1 ^b	%76,3 ^a

Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklıdır ($p < 0.05$). *% Aflatoksin karşılaştırması için referans örnek olarak kontrol örneği kullanılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre, AFB₁ seviyesinde, 1 dakikalık işlemle %56,7 oranında bir azalma sağlanırken, 2 dakikalık uygulamada bu oran %80,9'a ulaşmıştır. AFB₂ için 1 dakikalık

işleminde %49,4'lük bir düşüş gözlemlenirken, 2 dakikalık uygulamada azalma %42,1 olarak tespit edilmiştir. AFG₁'de 1 dakikalık süreçte %55,5'lik bir düşüş görülmüş, 2 dakikada bu oran %88,7'ye yükselmiştir. Benzer şekilde, AFG₂'de 1 dakikalık işleminde %48,6 oranında azalma sağlanırken, 2 dakikada bu oran %52,1 olmuştur. Toplam aflatoksin seviyeleri değerlendirildiğinde, 1 dakikalık işlem %55,1'lik bir azalma sağlarken, 2 dakikalık ABSP uygulaması bu oranı %76,3'e kadar çıkarmıştır. ABSP, standart toksin çözeltilerinde toksin seviyelerini hızlı bir şekilde azaltmada oldukça etkilidir. Bu durum, standart çözeltilerde, gıda matrislerine kıyasla daha kolay detoksifikasyon sağladığını göstermektedir. ABSP'nin kısa sürede yüksek oranda toksin degradasyonu sağlaması, bu teknolojiyi endüstriyel uygulamalar için uygun bir seçenek haline getirmektedir. Özellikle toksin içeriği yüksek ürünlerde hızlı işlem gerektiren senaryolar için ideal bir yöntem olabilir.

ABSP uygulamasının doğal toksin içeren karışık kuruyemiş örneğine 4 dakika uygulanması, spike yapılan karışık kuruyemiş örneğine 4 dakika uygulanması ve standart aflatoksin çözeltisi üzerine 2 dakika uygulanması sonucu elde edilen % değişimler aşağıda yer alan Şekil 3.2'de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Soğuk plazma etkisiyle doğal örnek, spike örnek ve standart örneklerdeki AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve TopAF miktarlarının % değişim oranlarının karşılaştırılması

Yapılan çalışma sonuçları, literatürdeki bulgularla büyük ölçüde uyum göstermektedir ve ABSP uygulamasının toksinlerin azaltılmasında etkili bir yöntem olduğunu ortaya koymaktadır. Doğal toksin içeren örneklerde 16 dakikalık ABSP uygulamasıyla AFB₁ seviyesinde %24,6 oranında bir azalma sağlanmıştır. Bu sonuç, Feizullahi ve arkadaşları [52] tarafından tespit edilen doğal matrislerin ABSP'nin etkinliğini sınırlayabileceği yönündeki

bulgularıyla örtüşmektedir. Spike yapılan örneklerde ise toksinlerin daha kolay bozunabildiği ve ABSP'nin etkinliğinin arttığı gözlemlenmiştir.

Bu durum, Sen [232] tarafından yapılan çalışmalarda rapor edilen %70-72 oranındaki toksin düşüşü ile paraleldir. Standart toksin çözeltilerinde ABSP'nin etkinliği çok daha yüksektir; 2 dakikalık bir uygulamada AFB₁ seviyesinde %80,9 ve toplam aflatoksin seviyesinde %76,3 oranında azalma kaydedilmiştir. Farklı çalışmalarda Park ve arkadaşları [68] tarafından standart çözeltide 5 saniyede AFB₁'in tamamen degradasyonu ve Shi ve arkadaşları [133] tarafından saf AFB₁ tozunda 5 dakikada %76'lık azalma sağlandığı belirtilmiştir. Ayrıca, çalışma sırasında numunelerin sıcaklığının 80-90°C'ye çıktığı gözlemlenmiş ve bu durum Iqdam ve arkadaşları [72] tarafından belirtilen sıcaklık artışıyla uyumlu bulunmuştur. Yüksek sıcaklık, ABSP'nin mikotoksin parçalama etkisini artırabilir ancak bazı gıda bileşenlerinin duyarlılığı göz önünde bulundurularak optimize edilmesi gereken bir faktördür.

Aflatoksin; badem, yer fıstığı, mısır, buğday ve pirinç gibi birçok gıdada bulunabilen bir toksindir. Genel olarak kuruyemişler üzerine yapılan çalışmalar sınırlı olup, antep fıstığı ve fındık üzerine odaklanılmıştır. Kanserojen olan aflatoksin B₁, guanin ile sinerjik bir şekilde etkileşime girerek kanser hücrelerinin büyümesini teşvik eder. Fındıklardaki aflatoksinlerin düşük basınçlı soğuk plazma ile işlenmesi sırasında, toplam aflatoksin seviyelerinin hava plazması ile %50, kükürt hekzaflorür (SF₆) plazması ile ise %20 oranında azaldığı bulunmuştur [234]. Daha sonraki çalışmalarda, ABSP ile işlem koşulları (gaz bileşimi ve güç) değiştirilerek fındıklardaki aflatoksinlerin parçalanması optimize edilmiştir. %21 oksijen içeren gaz kullanılarak yapılan uygulamada AFB₁'in parçalanmadığı görülmüş, ancak %100 azot ya da %0,1 oksijen içeren azot-oksijen karışımı ile işlem verimliliği artırılmıştır. Cam yüzeylerde 60, 120 ve 180 saniye boyunca soğuk plazma ile işlem, AFB₁'in sırasıyla %35,41, %60,97 ve %64,63 oranında parçalanmasına neden olurken, antep fıstığında bu oranlar sırasıyla %32,31, %44,77 ve %52,42 olarak ölçülmüştür [235]. Gıda matrisinin karmaşıklığı nedeniyle, aflatoksin parçalanma oranlarının cam yüzeylere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan çalışma, ABSP'nin doğal toksin içeren örneklerde daha sınırlı bir etki gösterdiğini ancak spike yapılan örneklerde ve standart çözeltilerde daha yüksek toksin giderimi sağladığını ortaya koymaktadır. ABSP'nin toksinleri doğrudan parçalayabildiği ortamlar, yani saf çözeltiler veya matris etkisi bulunmayan örnekler, işlem etkinliğinin en yüksek olduğu koşullardır. Gıda matrisinin toksin bozunma sürecine etkisi, çalışmadaki diğer literatürle tutarlıdır ve ABSP'nin farklı gıdalarda uygulanabilirliği açısından optimizasyon

gerekliliğini ortaya koymaktadır. Özellikle gaz bileşimi, işlem süresi ve sıcaklık faktörlerinin toksin azaltma etkinliğini nasıl değiştirdiği göz önünde bulundurularak, gıda güvenliği açısından en uygun işlem koşullarının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır.

3.1.3. Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları

ABSP uygulamasının karışık kuruyemiş örneklerindeki rutubet, yağ içeriği, serbest yağ asitliği (SYA), peroksit sayısı (PS), protein, selüloz ve kül üzerindeki etkilerini Çizelge 3.6'da göstermektedir.

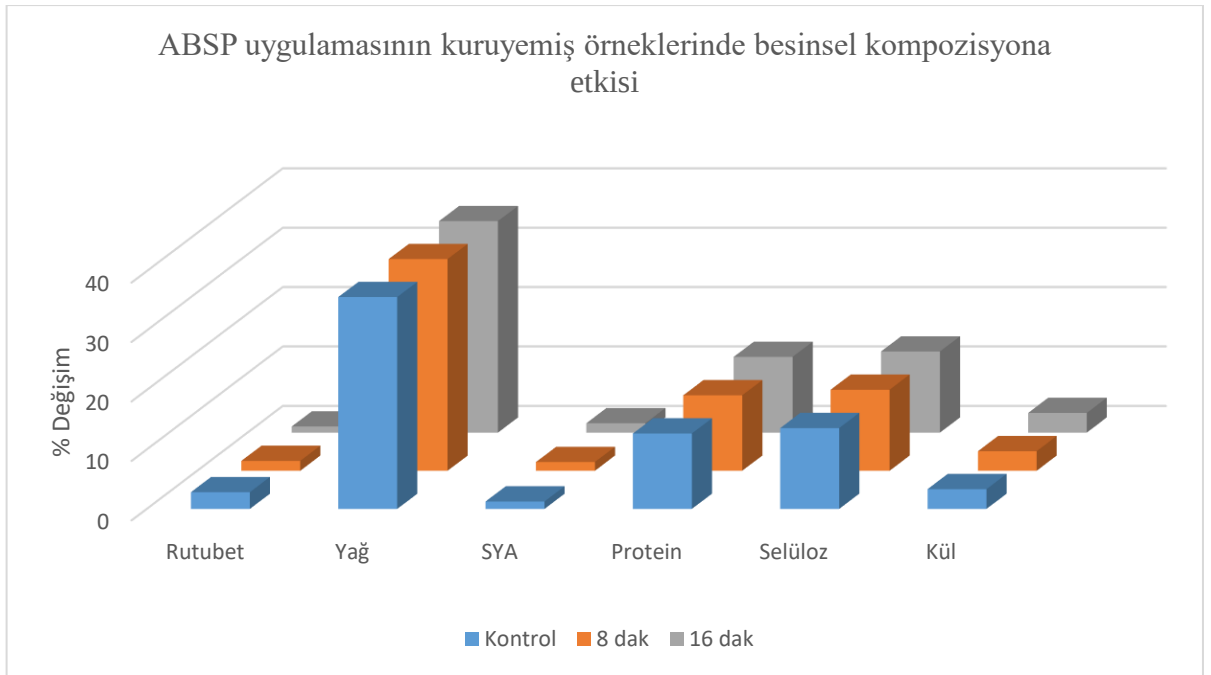
Çizelge 3.6. ABSP uygulamasının karışık kuruyemiş örneklerinde rutubet, yağ miktarı, serbest yağ asitliği, peroksit sayısı, protein, selüloz, kül üzerine etkisi

Analiz	Örnek		
	Kontrol	8 dakika ABSP	16 dakika ABSP
Rutubet (%)	2,81±0,15 ^a	1,66±0,14 ^b	1,03±0,13 ^c
Yağ (%)	35,63±0,22 ^a	35,61±0,28 ^a	35,60±0,25 ^a
SYA (%)	1,25±0,13 ^b	1,47±0,16 ^a	1,58±0,18 ^a
PS (mEq O₂/kg)	2,19±0,19 ^c	2,68±0,15 ^b	3,38±0,15 ^a
Protein (%)	12,68±0,19 ^a	12,69±0,15 ^a	12,73±0,18 ^a
Selüloz (%)	13,59±0,18 ^a	13,62±0,15 ^a	13,64±0,14 ^a
Kül (%)	3,32±0,16 ^a	3,29±0,14 ^a	3,31±0,13 ^a

Aynı satırda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p < 0.05$). SYA: serbest yağ asitliği, PS: peroksit sayısı

Elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubunda %2,81 olan rutubet oranı, ABSP uygulamasıyla belirgin şekilde azalarak 8 dakikada %1,66'ya, 16 dakikada ise %1,03'e düşmüştür. ABSP'nin rutubet içeriğini azaltma etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). Yağ içeriğinde kontrol örneğiyle (%35,63), 8 dakika (%35,61) ve 16 dakika (%35,60) ABSP uygulanmış örnekler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Serbest yağ asitliği (SYA) miktarı kontrol grubunda %1,25 iken, 8 dakikalık ABSP uygulaması ile %1,47'ye ve 16 dakikalık uygulamada %1,58'e yükselmiştir. Bu sonuca göre ABSP uygulaması serbest yağ asitliğini artırmıştır. Kontrol grubunda 2,19 mEq O₂/kg olan peroksit sayısı, 8 dakikalık uygulamada 2,68'e ve 16 dakikalık işlemde 3,38'e yükselmiştir. ABSP, oksidatif bozulmayı

temsil eden peroksit sayısını artırmıştır. Protein içeriği kontrol grubunda %12,68 iken, 8 dakikalık uygulamada %12,69 olarak, 16 dakikalık uygulamada ise %12,73 olarak tespit edilmiş ve uygulamalar arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Kontrol grubunda %13,59 olan selüloz oranı, 8 ve 16 dakikalık ABSP uygulamalarıyla hafif bir artış göstermiş (sırasıyla %13,62 ve %13,64) olup, bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Kül içeriğinde kontrol (%3,32), 8 dakika (%3,29) ve 16 dakikalık ABSP (%3,31) uygulaması arasında anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Bu sonuçlar, ABSP uygulamasının kuruyemiş örneğinin bazı kalite parametrelerini etkilediğini, özellikle rutubet ve oksidasyon parametrelerinde değişim meydana getirdiğini göstermiştir.



Şekil 3.3. ABSP uygulamasının karışık kuruyemişte besinsel kompozisyona etkisinin % değişim oranlarının karşılaştırılması

Şekil 3.3'te, ABSP uygulamasının karışık kuruyemiş örneklerindeki besinsel kompozisyona etkisi grafik üzerinde yüzde değişim oranlarıyla gösterilmiştir. Kontrol grubu ile 8 ve 16 dakikalık plazma uygulama süreleri karşılaştırıldığında, rutubet oranında belirgin bir azalma gözlenmiştir ve 16 dakikalık uygulama sonucunda rutubet minimum seviyeye inmiştir. Yağ içeriğinde plazma uygulamasının belirgin bir etkisi bulunmamış, tüm gruplarda benzer seviyeler korunmuştur. SYA değerlerinde ise plazma uygulaması süresi arttıkça kademeli bir artış tespit edilmiştir, bu durum oksidasyon süreçlerinin hızlandığını işaret edebilir. Protein, selüloz ve kül değerlerinde plazma uygulamasının belirgin bir değişikliğe yol açmadığı ve bu parametrelerin nispeten sabit kaldığı görülmüştür. Genel olarak, ABSP uygulamasının özellikle

rutubet ve SYA üzerinde önemli etkiler oluşturduğu, diğer nutrisyonel parametreler üzerinde ise sınırlı bir değişim yarattığı anlaşılmaktadır. Bu bulgular, plazma uygulamasının kalite ve stabilite üzerindeki etkilerini anlamada önemli bir veri sağlamaktadır.

ABSP uygulaması, rutubet içeriğini azaltarak kurutma etkisi göstermektedir. Serbest yağ asitliği ve peroksit sayısındaki artış, ABSP'nin lipit oksidasyonu ve asitlik üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. Protein, selüloz ve kül içeriklerinde ABSP'nin belirgin bir etkisi bulunmamaktadır. Uygulama süresi (8 ve 16 dakika), özellikle oksidatif parametrelerde (PS, SYA) artışa neden olmuştur. Sonuç olarak, ABSP'nin uygulama süresi ve etkileri dikkate alınarak ürün kalitesini optimize etmek için dikkatli değerlendirme yapılması gerekmektedir.

Çizelge 3.7. ABSP uygulamasının karışık kuruyemiş örneklerinde mineral analizleri (Cr, Hg, Pb, As, Mg, Fe, Cu, Zn, Cd, Sn) üzerine etkisi

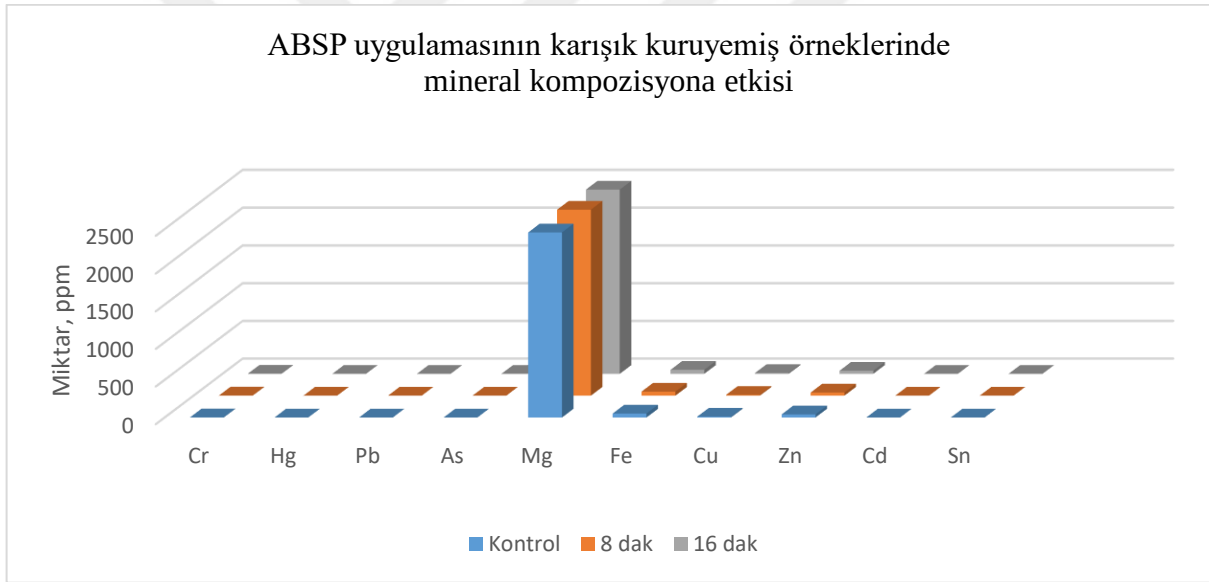
Mineral	Uygulama Süresi		
	Kontrol	8 dakika	16 dakika
Cr, ppm	1,66±0,01 ^a	1,67±0,01 ^a	1,65±0,02 ^a
Hg, ppm	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Pb, ppm	0,0113±0,001 ^a	0,0091±0,001 ^a	0,0127±0,004 ^a
As, ppm	0,0125±0,002 ^a	0,0120±0,002 ^a	0,0137±0,002 ^a
Mg, ppm	2455,00±15,82 ^a	2465,67±11,24 ^a	2441,00±24,76 ^a
Fe, ppm	52,67±0,27 ^a	53,66±0,40 ^a	52,93±0,37 ^a
Cu, ppm	10,35±0,10 ^a	10,35±0,09 ^a	10,35±0,04 ^a
Zn, ppm	41,52±1,37 ^a	41,42±1,14 ^a	41,52±1,40 ^a
Cd, ppm	0,0160±0,001 ^a	0,0162±0,002 ^a	0,0181±0,002 ^a
Sn, ppm	0,0071±0,001 ^a	0,0075±0,001 ^a	0,0060±0,002 ^a

Aynı satırda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p<0.05$).

ABSP uygulamasının karışık kuruyemiş örneklerindeki mineral içerikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Çizelge 3.7'deki sonuçlara göre, krom (Cr) konsantrasyonu uygulama süreleri boyunca stabil kalmış, cıva (Hg) ise tüm gruplarda LOQ altında kalarak tespit edilememiştir. Kurşun (Pb) konsantrasyonu, 8 dakikalık uygulama sırasında hafif bir düşüş

gösterirken, 16 dakikada tekrar artış göstermiştir. Arsenik (As) miktarında uygulama süresine bağlı olarak hafif bir artış gözlenmiştir. Magnezyum (Mg) içerikleri ise küçük dalgalanmalar göstermiş, ancak sonuçlarda istatistiksel olarak bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge 3.7’de görüldüğü üzere, demir (Fe), çinko (Zn) ve bakır (Cu) içeriği uygulama süresinden etkilenmemiştir. Kadmiyum (Cd) miktarında 8 dakikalık uygulamada nispeten bir artış gözlense de bu değişikliğin anlamlı seviyede olmadığı gözlenmiştir. Kalay (Sn) konsantrasyonu ise 16. dakikada 8. dakikaya göre sayısal olarak bir azalma meydana gelmiş fakat istatistiksel olarak bir farklılık olmadığı belirlenmiştir. Kalay (Sn) konsantrasyonu ise 16. dakikada 8. dakikaya göre sayısal olarak bir azalma meydana gelmiş fakat istatistiksel olarak bir farklılık olmadığı belirlenmiştir. Genel olarak, ABSP uygulamasının mineraller üzerinde ciddi bir değişime neden olmadığı, minerallerin çoğunluğunun stabil kaldığı ve önemli bir kayıp yaratmadığı belirlenmiştir.



Şekil 3.4. ABSP uygulamasının karışık kuruyemiş örneklerinde mineral kompozisyona etkisinin karşılaştırılması

Şekil 3.4'te ABSP uygulamasının karışık kuruyemiş örneklerinde mineral kompozisyonuna etkisi gösterilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, ABSP uygulamasının mineraller üzerinde genelde sınırlı bir etkisi olduğu görülmektedir. Magnezyum (Mg) ve demir (Fe) gibi yüksek konsantrasyonlu minerallerin miktarlarında uygulama süresine bağlı olarak değişiklik gözlense de bunun anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, cıva (Hg) tespit edilebilir seviyenin altında kalmıştır. Kurşun (Pb) ve arsenik (As) gibi toksik elementlerde hafif dalgalanmalar gözlenmiştir, ancak bu durumun istatistiksel olarak anlamlı

olmadığı belirlenmiştir. Çinko (Zn), bakır (Cu) ve kadmiyum (Cd) gibi diğer minerallerde ise uygulama sürelerine bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemiştir.

Sen [232] tarafından yapılan araştırmada ABSP uygulaması sonrasında fındıkta serbest yağ asitliği değerinin %0,54'den %1,29'a arttığı ve peroksit sayısının 0,11 mEq O₂/kg yağ'dan 5,26 mEq O₂/kg yağ'a arttığı görülmüştür. Rutubet değerinde %7,66'dan %5,41'e azalma görülmüş ve bu durumun yüzeyde meydana gelen sıcaklık değişimlerinden ve yapıda meydana gelen gevşemelerden kaynaklandığı belirtilmiştir [232]. Tez kapsamında rutubet değeri, serbest yağ asitliği ve peroksit sayısı için elde edilen sonuçlar bu bulgularla benzerlik göstermektedir.

Soğuk plazma uygulaması sırasında reaktif türlerin etkisiyle lipid oksidasyonu oluşabilir, ancak bu durum genellikle kontrol edilebilir seviyelerde kalır ve kuruyemişlerin tat ve aroma profiline ciddi bir zarar vermez. Yüzeydeki oksidasyon reaksiyonları nedeniyle hafif renk değişiklikleri ve antioksidan bileşiklerde azalmalar görülebilir. Bununla birlikte, plazma işlemi kimyasal kalıntı bırakmaması, raf ömrünü uzatması ve kuruyemişlerin güvenliğini artırmasıyla önemli avantajlar sunar. Bu etkilerin minimize edilmesi için plazma parametrelerinin dikkatlice optimize edilmesi gereklidir [236].

Genel olarak, ABSP uygulamasının karışık kuruyemiş örneğinde mineral kompozisyon üzerindeki etkilerinin minimal olduğu ve bu işlemin mineral stabilitesini koruduğu söylenebilir. ABSP uygulamasının mineral seviyeleri üzerinde önemli bir etkisi gözlemlenmemiştir. Çoğu mineralde (Cr, Hg, Pb, As, Mg, Fe, Cu, Zn, Cd, Sn) değişimler minimaldir ve istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0.05$). Bu durum, ABSP uygulamasının gıdalardaki mineral içeriğini koruma konusunda güvenli bir teknoloji olduğunu göstermektedir. ABSP'nin mikotoksin azaltımındaki etkinliği göz önüne alındığında, bu teknoloji mineral içerik üzerinde olumsuz bir etkiye neden olmadığı için gıda işleme süreçlerinde güvenle kullanılabilir.

3.2. Buğday Örneklerinde Gerçekleştirilen Analizler

3.2.1. OTA Analiz Sonuçları

Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Yönetmelikte buğday için Okratoksin A limit değeri 5 ppb olarak belirlenmiştir. Doğal yollarla toksin içeren kontrol örneğinde OTA miktarı 20,40 ppb olarak bulunmaktadır. Yapay olarak toksin ilave edilen kontrol örneğinde OTA miktarı 40,79 ppb olarak bulunmaktadır. Toksin standart çözeltisi OTA miktarı 20,00 ppb olarak hazırlanmıştır. ABSP uygulaması sonrasında

doğal toksin içeren buğday örneklerinde Okratoksin A analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular aşağıda yer alan Çizelge 3.8’de sunulmuştur.

Çizelge 3.8. ABSP Uygulamasının Buğday Örneklerinde OTA Üzerine Etkisi

Uygulama Süresi	Doğal Toksin İçeren Numune OTA	Yapay Toksin İçeren Numune OTA	Standart Toksin İçeren Numune OTA
Kontrol	20,40±0,17 ^a	40,79±0,24 ^a	20,00±0,14 ^a
2 dakika	*	*	9,79±0,14 ^b
4 dakika	11,70±0,12 ^b	30,97±0,22 ^b	5,94±0,15 ^c
8 dakika	10,46±0,14 ^c	25,34±0,16 ^c	*
16 dakika	9,79±0,10 ^d	24,35±0,18 ^d	*

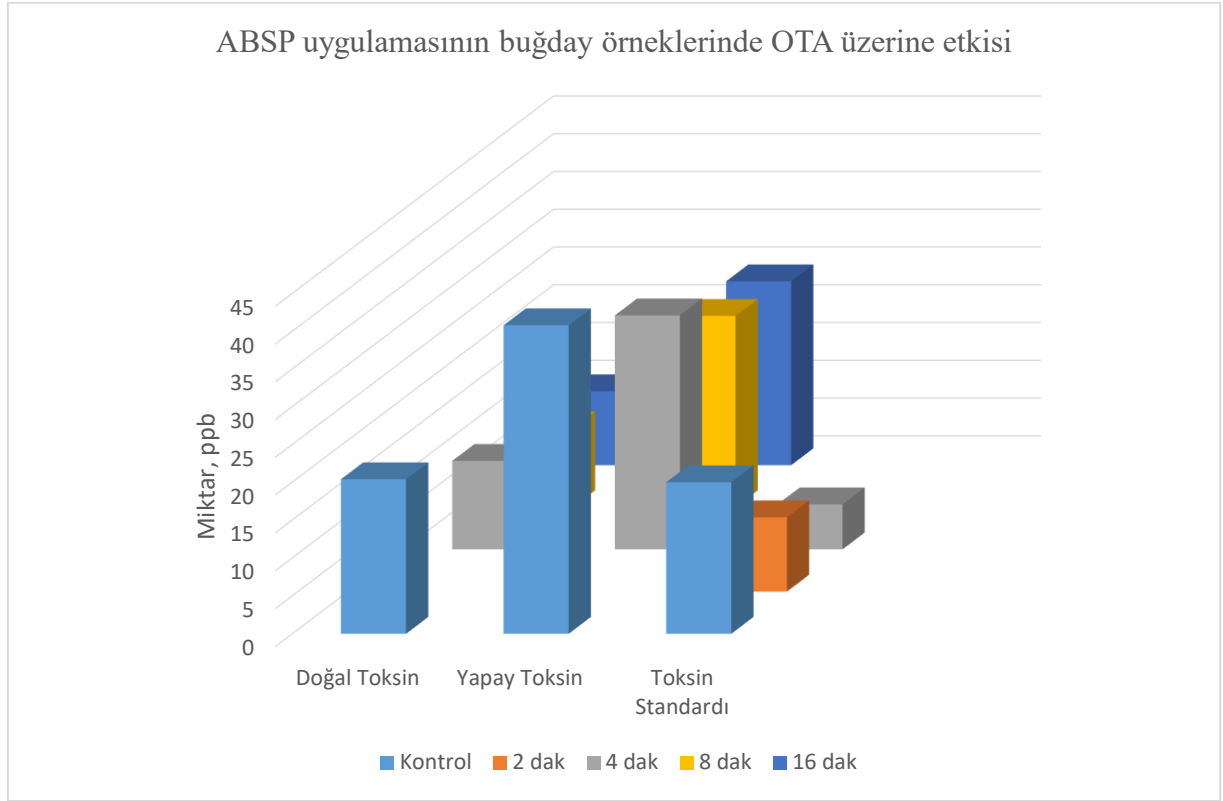
Aynı sütunda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p<0.05$). *Plazma uygulanmamıştır.

ABSP uygulamasının buğday örneklerinde OTA seviyeleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Doğal toksin içeren numunelerde, kontrol örneğinde 20,40 ppb olarak ölçülen OTA seviyesi, 16 dakikalık uygulama sonunda 9,79 ppb'ye düşmüştür. Uygulama süresi arttıkça OTA seviyelerinde azalma gözlenmiştir. Yapay toksin içeren numunelerde ise kontrol örneğinde 40,79 ppb olarak ölçülen OTA seviyesi, 16 dakikalık uygulama sonunda 24,35 ppb'ye gerilemiştir. Bu grupta da uygulama süresi ile birlikte azalma oranı artmıştır. Standart toksin içeren numunelerde, OTA seviyesi kontrol örneğinde 20,00 ppb olarak ölçülmüş ve yalnızca 4 dakika sonunda 5,94 ppb'ye düşmüştür. Standart toksin solüsyonu içeren örnekte ise kısa sürelerde bile yüksek azalma oranları elde edilmiştir. Tüm uygulamalarda süreye bağlı olarak örnekler arasında istatistiksel olarak farklılıklar olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Uygulama süresinin artışı, tüm numune gruplarında OTA seviyelerinde düzenli azalma sağlamıştır. Bununla birlikte, standart toksin çözeltileri, toksinlerin saf halde olması nedeniyle ABSP’ye en duyarlı grubu oluşturmuş ve en hızlı azalma burada gözlenmiştir. Doğal ve yapay toksin içeren numunelerde ise gıda matrisinin etkisi, toksin indirgeme oranını sınırlandırmıştır.

Elde edilen sonuçlar ABSP uygulamasının buğdayda OTA miktarını azaltmada etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir. Bu teknoloji mikotoksinlerin detoksifikasyonu için umut verici niteliktedir. Ancak, doğal ve yapay toksin içeren örneklerde etkinliğin artırılması için

plazma uygulama koşullarının optimize edilmesi gerekmektedir. Bu bulgular, ABSP'nin gıda güvenliği alanında uygulanabilir ve etkili bir teknoloji olduğunu göstermektedir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. ABSP uygulamasının buğdayda OTA üzerine etkisinin karşılaştırılması

Genel olarak, doğal ve yapay toksin içeren buğday örneklerinde gıda matrisinin ABSP'nin etkinliğini sınırlandırdığı gözlemlenmiştir. Ancak her iki durumda da uygulama süresi arttıkça toksin seviyelerinde düzenli bir azalma sağlanmıştır. Bu bulgular, ABSP'nin OTA seviyelerini azaltmada etkili bir yöntem olduğunu ve gıda güvenliği uygulamalarında kullanılabilecek potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Standart toksin çözeltilerindeki yüksek etkinlik, teknolojinin özellikle saf toksinlerin detoksifikasyonunda güçlü bir araç olduğunu ortaya koymaktadır.

3.2.2. OTA Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması

ABSP uygulaması ile doğal ve spike örnek için 4, 8 ve 16 dakika sonrasında doğal örnek ve spike örneklerde OTA analizleri gerçekleştirilmiş ve % değişim oranları hesaplanmıştır. Aynı analiz OTA içeren standart çözeltide 2 ve 4 dakikalık ABSP uygulaması sonrasında da yapılmıştır. Analiz sonuçlarındaki % değişim oranları aşağıda yer alan Çizelge 3.9'da sunulmuştur.

Çizelge 3.9. ABSP uygulamasının doğal, spike örneklerinde ve standart çözeltide OTA üzerine etkisi

Örnek	OTA (% Değişim)*			
	2 Dakika	4 Dakika	8 Dakika	16 Dakika
Doğal Örnek	**	%42,7 ^{Cb}	%48,8 ^{Ba}	%52,0 ^{Aa}
Spike Örnek	**	%24,1 ^{Cc}	%37,9 ^{Bb}	%40,3 ^{Ab}
Standart Çözelti	%51,1 ^B	%70,3 ^{Aa}	**	**

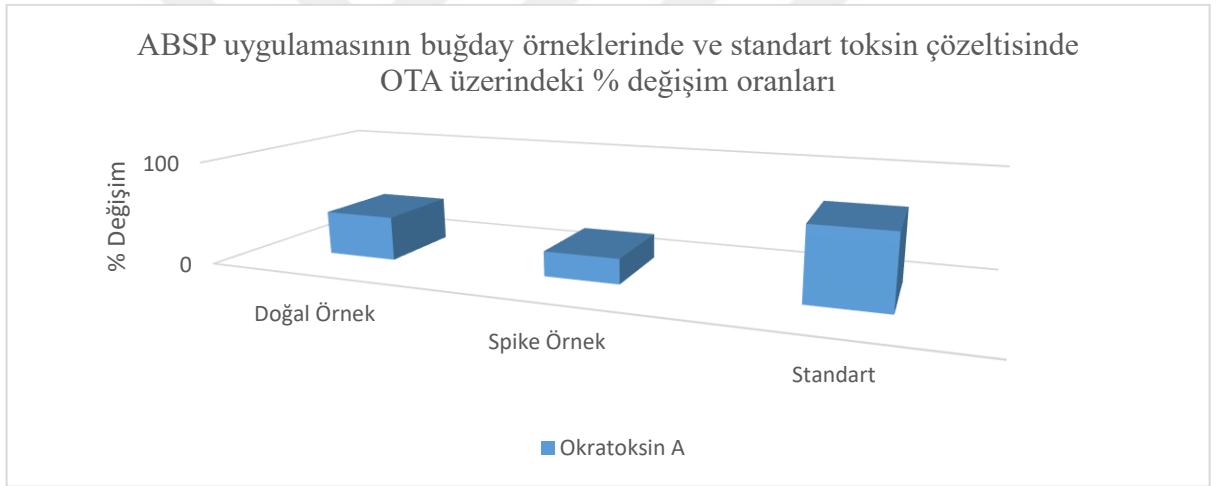
Aynı sütundaki farklı küçük harfler istatistiksel olarak farklılığı ifade etmektedir ($p < 0.05$). Aynı satırdaki farklı büyük harfler istatistiksel olarak farklılığı ifade etmektedir ($p < 0.05$). *% OTA karşılaştırması için referans örnek olarak kontrol örneği kullanılmıştır. **Plazma uygulanmamıştır.

ABSP uygulamasının, doğal ve yapay (spike) toksin içeren örneklerde okratoksin A (OTA) seviyeleri üzerindeki etkisi analiz edilmiş ve % değişim oranları incelenmiştir. Doğal toksin içeren numunelerde, OTA seviyesinde 4 dakikalık uygulama süresinde %42,7 oranında azalma gözlenmiş, 8 dakikada bu oran %48,8'e ve 16 dakikada %52'ye ulaşmıştır. Bu sonuçlar, doğal toksin içeren örneklerde ABSP uygulama süresinin artışıyla birlikte düzenli bir azalma sağlandığını göstermektedir. Yapay toksin (spike) içeren örneklerde ise 4 dakikalık uygulamada %24,1 oranında bir azalma görülmüş, 8 dakikalık uygulama sonunda %37,9'a ve 16 dakikada %40,3'e ulaşmıştır. Yapay toksin örneklerinde de azalma gözlenmiş olsa da, oranlar doğal toksin içeren numunelere kıyasla daha düşük seviyede kalmıştır. Bu durum, doğal gıda matrisinin toksin indirgeme üzerindeki olumlu etkisine işaret etmektedir. Spike örnek ve doğal örnek % değişim oranları karşılaştırıldığında önemli farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$). ABSP, her iki örnek grubunda da OTA seviyelerinde azalma sağlamış ve uygulama süresiyle bu etkinlik artış göstermiştir. Doğal toksin içeren numunelerde daha yüksek azalma oranları elde edilmesi, bu örneklerin ABSP'ye daha duyarlı olduğunu ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar, ABSP'nin OTA'nın detoksifikasyonu için etkili bir yöntem olduğunu ve farklı toksin türlerine karşı uygulanabilirliğini desteklemektedir. Ancak yapay toksin içeren numunelerdeki etkinliğin artırılması için daha fazla optimizasyon çalışmasına ihtiyaç vardır.

Çizelge 3.9'da görüldüğü üzere ABSP uygulaması, standart çözelti üzerinde OTA seviyelerinde etkili bir azalma sağlamıştır. İki dakikalık uygulama süresi sonunda OTA seviyesinde %51,1 oranında bir azalma gerçekleşmiş, bu oran dört dakikalık uygulama sonunda %70,3'e ulaşmıştır. Bu bulgular, ABSP'nin standart çözeltilerde kısa süreli uygulamalarda bile yüksek oranda etkili olduğunu göstermektedir. Standart çözelti, toksinlerin saf formda

bulunduğu bir ortamı temsil ettiği için plazma etkisi maksimum düzeyde gerçekleşmiştir. Bu durum, ABSP'nin saf toksinlerin detoksifikasyonu açısından son derece güçlü bir araç olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, sadece 2-4 dakika gibi kısa sürelerde bu denli yüksek azalma oranlarının elde edilmesi, ABSP'nin hızlı ve etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir.

ABSP'nin standart çözeltiler üzerindeki yüksek etkinliği, bu teknolojinin toksin detoksifikasyonunda güçlü bir potansiyele sahip olduğunu ve gıda güvenliği alanında uygulanabilirliğini desteklediğini göstermektedir. Ancak doğal ve yapay toksin içeren örneklerdeki etkisinin optimize edilmesi, teknolojinin daha geniş bir kullanım alanına uyarlanabilirliği açısından önemlidir. Doğal toksin içeren buğday örneği, spike yapılan buğday örneği ve standart OTA örneği üzerine soğuk plazmanın etkisinin karşılaştırılabilmesi amacıyla, soğuk plazmanın 4 dakika süreyle uygulanması sonucunda bulunan % değişimler Şekil 3.6'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. 4 dakika soğuk plazma etkisiyle doğal örnek, spike örnek ve standart örneklerdeki OTA miktarlarının % değişim oranlarının karşılaştırılması

Şekilde görüldüğü üzere doğal örneklerde, OTA seviyelerinde yaklaşık %42,7 oranında bir azalma gözlemlenmiştir. Bu, doğal gıda matrisinin plazma etkisine duyarlılığını göstermektedir. Yapay toksin içeren örneklerde, %24,1 oranında bir azalma görülmüş ve bu oran doğal örneklerden daha düşük kalmıştır. Gıda matrisindeki farklılıkların, toksinlerin plazma ile etkileşimini sınırladığı söylenebilir. Standart çözeltilerde ise en yüksek azalma oranı (%70,3) gözlenmiştir. Bu durum, toksinlerin saf halde bulunmasının, plazma ile daha etkili bir şekilde reaksiyona girmelerini sağladığını ortaya koymaktadır. Standart çözeltilerde kısa süreli plazma uygulamalarıyla bile yüksek etkinlik sağlanabilmektedir.

Bu çalışmanın bulguları, literatürde bildirilen ABSP'nin mikotoksin azaltımı üzerindeki etkileriyle büyük ölçüde uyumludur. Özellikle doğal ve yapay toksin içeren örneklerde plazma etkisinin daha sınırlı olduğu, ancak standart çözeltilerde çok daha yüksek bir toksin bozunumu sağlandığı gözlemlenmiştir. Jian ve arkadaşlarının [237] pirinç taneleri üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada soğuk plazma ile OTA seviyelerinde %55,64 azalma sağlanmış, bu da doğal ve yapay toksin içeren örneklerin plazma işlemine daha dirençli olabileceğini göstermiştir.

Standart çözeltilerde maksimum etki sağlanan durum, Wielogorska ve arkadaşları [70] tarafından yapılan çalışmada, ABSP ile standart çözeltilerde 60 dakika içinde %100'e yakın toksin azalma sağlanmasıyla desteklenmiştir. Bu durum, plazma teknolojisinin toksinlerin saf halde bulunduğu ortamlarda çok daha etkili olduğunu ve matris etkisinin detoksifikasyonu sınırlayabileceğini doğrulamaktadır.

Ayrıca, Ouf ve arkadaşları [238], çift jet argon plazması kullanarak hurma dilimlerinde OTA'nın tamamen bozulduğu bildirilmiştir. Bu durum, plazma uygulama koşullarının, özellikle gaz türü ve enerji yoğunluğunun, toksin bozunmasındaki önemli rolünü vurgulamaktadır [236]. Yapılan çalışmalarda, soğuk plazma işleminin tahıllar ve kuru meyveler gibi gıda ürünlerinde OTA seviyelerini %80-90 oranında azalttığı rapor edilmiştir [239]. Mevcut çalışmada, doğal ve yapay gıda matrislerinde etkinliğin sınırlı olması, gıda matrislerinin plazmanın toksinlere ulaşmasını sınırlandırdığı yönündeki literatür bulgularını desteklemiştir. Literatürde, soğuk plazmanın düşük sıcaklıkta çalışarak gıdaların besin değerlerini ve duyu özelliklerini koruması, kimyasal kalıntı bırakmaması ve çevre dostu olması gibi avantajları vurgulanmıştır [239]. Çalışma, bu avantajları doğrulamakla birlikte, farklı matrislerde etkinliğin artırılması için optimizasyon gerektiğini göstermektedir. Bu karşılaştırmalar, ABSP'nin mikotoksin detoksifikasyonunda etkili bir teknoloji olduğunu, ancak etkinliğinin toksin formu ve uygulama koşullarına bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir. Doğal ve yapay toksin içeren örneklerdeki etkinliği artırmak için uygulama parametrelerinin optimize edilmesi, teknolojinin daha geniş bir kullanım alanında etkinliğini artıracaktır. Standart çözeltiler üzerindeki yüksek performans, plazma teknolojisinin gıda güvenliği açısından önemli bir potansiyele sahip olduğunu kanıtlamaktadır.

3.2.3. Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları

ABSP uygulamasının buğday örneklerindeki rutubet, yağ miktarı, protein, selüloz ve kül üzerine etkilerine dair sonuçlar Çizelge 3.10'da verilmiştir.

Çizelge 3.10. ABSP uygulamasının buğday örneklerinde rutubet, yağ miktarı, protein, selüloz, kül üzerine etkisi

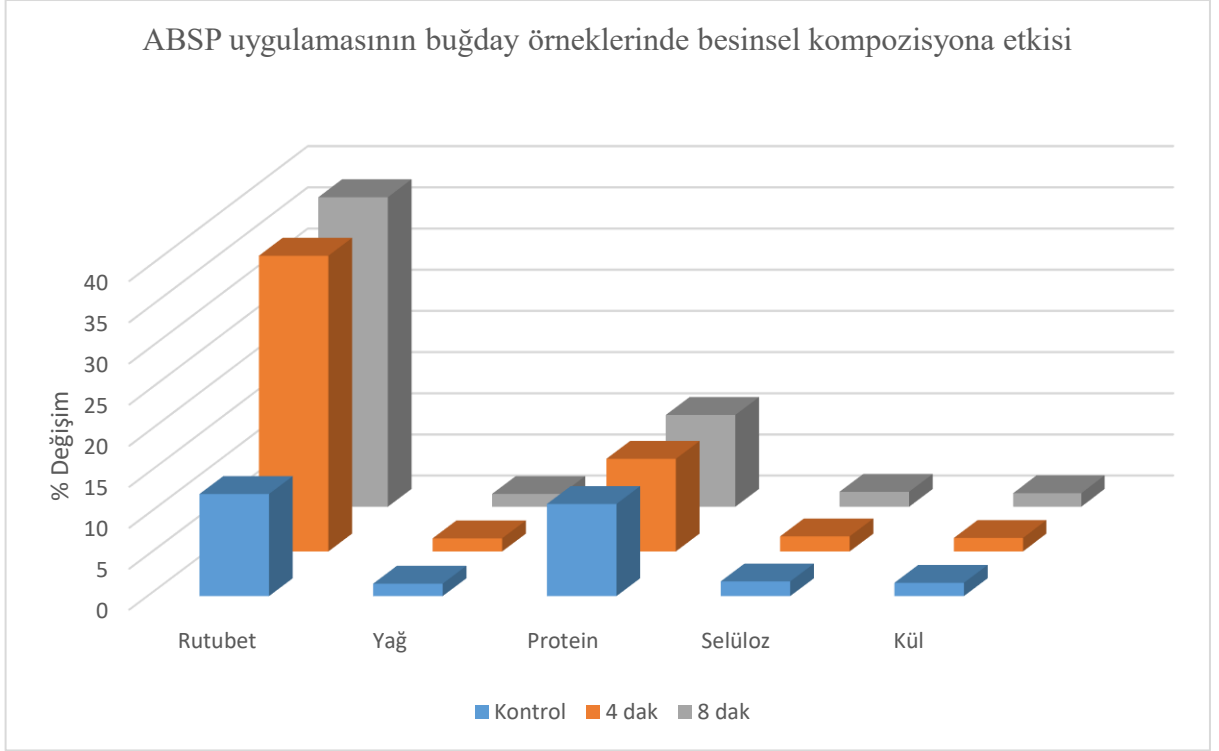
Analiz	Örnek		
	Kontrol	4 dakika ABSP	8 dakika ABSP
Rutubet (%)	12,47±0,22 ^c	35,96±0,21 ^b	37,61±0,20 ^a
Yağ (%)	1,52±0,14 ^a	1,60±0,15 ^a	1,57±0,15 ^a
Protein (%)	11,25±0,24 ^a	11,31±0,17 ^a	11,18±0,11 ^a
Selüloz (%)	1,79±0,17 ^a	1,84±0,16 ^a	1,83±0,17 ^a
Kül (%)	1,62±0,13 ^a	1,65±0,15 ^a	1,66±0,14 ^a

Aynı satırda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p<0.05$).

Elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubunda rutubet %12,47 iken, 4 dakikalık uygulama sonunda %35,96'ya, 8 dakikalık uygulama sonunda ise %37,61'e yükselmiştir. Bu artış, metot bölümünde açıklamalarda verilen uygulama kaynaklı rutubet seviyesini artırdığını göstermektedir. Yağ miktarı açısından bakıldığında, kontrol grubunda %1,52 olan değer, 4 dakikalık uygulamada %1,60 ve 8 dakikalık uygulamada %1,57 olarak ölçülmüştür. Bu durum, plazma uygulamasının yağ miktarı üzerinde önemli bir değişikliğe yol açmadığını göstermektedir. Protein miktarı kontrol grubunda %11,25 olarak belirlenirken, 4 dakikalık uygulamada %11,31 ve 8 dakikalık uygulamada %11,18 olarak kaydedilmiştir. Protein seviyesindeki bu küçük değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Selüloz miktarı kontrol grubunda %1,79 iken, plazma uygulaması sonrasında 4 dakikada %1,84, 8 dakikada ise %1,83 olmuştur. Selüloz seviyesi üzerindeki etkiler de minimal kalmıştır. Kül içeriği açısından ise kontrol grubunda %1,62 olan değer, plazma uygulaması sonrası 4 dakikada %1,65 ve 8 dakikada %1,66 olarak ölçülmüştür. Bu da kül içeriğinde anlamlı bir değişikliğin olmadığını göstermektedir (Şekil 3.7).

ABSP uygulamasının buğday örneklerinde rutubet seviyesini artırdığı, ancak yağ, protein, selüloz ve kül içerikleri üzerinde sınırlı bir etkisinin olduğu görülmüştür. Bu durum,

plazma uygulamasının besin içeriği açısından büyük bir değişime neden olmadan toksin miktarında düşüş ve gıda güvenliği sağlama potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, ABSP'nin gıda işleme süreçlerinde güvenle kullanılabileceğini ve besin değerlerini koruyabileceğini ortaya koymaktadır.



Şekil 3.7. ABSP uygulamasının buğdayda besinsel kompozisyona etkisinin % değişim oranlarının karşılaştırılması

Genel olarak, ABSP uygulamasında metot itibariyle rutubet miktarında belirgin bir artış sağlarken, diğer besinsel bileşenler üzerinde minimal etkiler göstermiştir. Bu bulgular, ABSP'nin gıda güvenliği ve toksin azaltımı için kullanılabilir bir teknoloji olduğunu, ayrıca besin değerleri açısından büyük bir değişime neden olmadığını ortaya koymaktadır. Gıda işlemeye yönelik bu teknoloji, besinsel özellikleri korurken gıda güvenliği açısından önemli faydalar sağlayabilir.

Çizelge 3.11. ABSP uygulamasının buğday örneklerinde mineral analizleri (Cr, Hg, Pb, As, Mg, Fe, Cu, Zn, Cd, Sn) üzerine etkisi

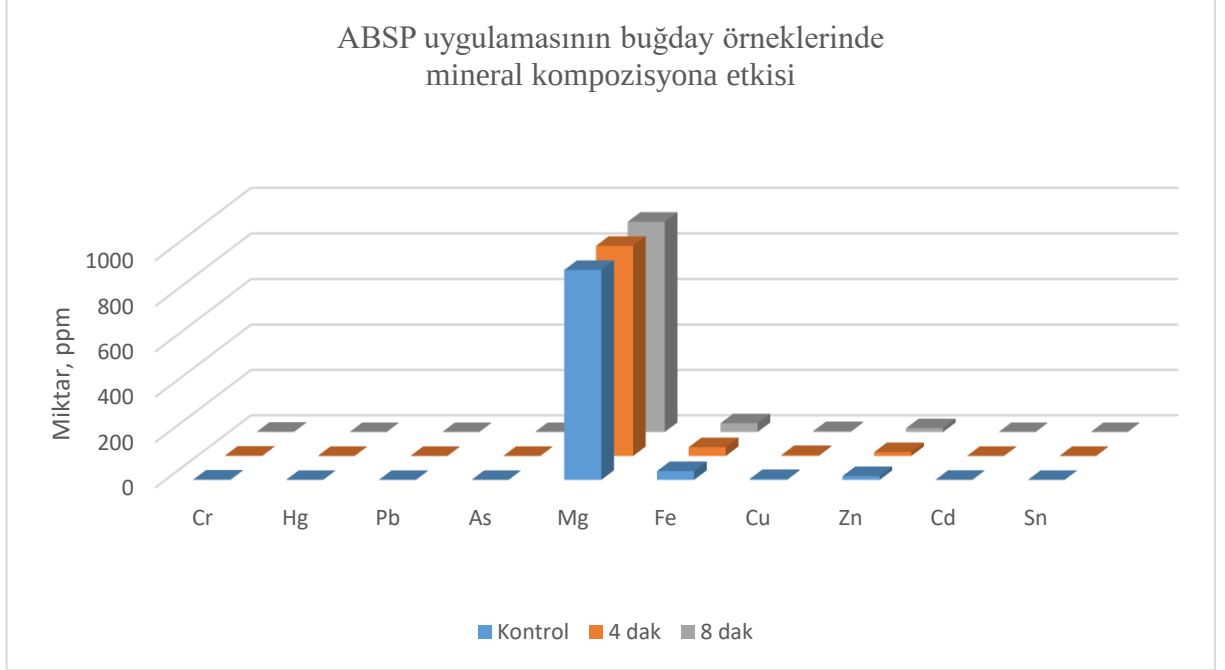
Mineral	Uygulama Süresi		
	Kontrol	8 dakika	16 dakika
Cr, ppm	1,36±0,01 ^a	1,36±0,06 ^a	1,36±0,03 ^a
Hg, ppm	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Pb, ppm	<LOQ	<LOQ	<LOQ
As, ppm	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Mg, ppm	924,61±0,50 ^a	924,66±0,45 ^a	924,64±0,56 ^a
Fe, ppm	38,91±0,42 ^a	38,49±0,72 ^a	38,63±0,35 ^a
Cu, ppm	4,13±0,12 ^a	4,16±0,10 ^a	4,03±0,08 ^a
Zn, ppm	16,81±0,13 ^a	16,86±0,11 ^a	16,90±0,09 ^a
Cd, ppm	0,03±0,01 ^a	0,03±0,01 ^a	0,03±0,01 ^a
Sn, ppm	<LOQ	<LOQ	<LOQ

Aynı satırda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Çizelge 3.11, ABSP uygulamasının buğday örneklerindeki mineral içerikler (Cr, Hg, Pb, As, Mg, Fe, Cu, Zn, Cd, Sn) üzerindeki etkilerini göstermektedir. Cr, Hg, Pb ve As miktarları uygulama süreleri boyunca sabit kalmıştır. Cr içeriği kontrol grubunda ve plazma uygulamaları sonrasında 1,36 ppm olarak ölçülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Hg, Pb ve As değerleri ise ölçüm limitinin (LOQ) altında kalmıştır. Mg içeriği kontrol grubunda 924,61 ppm olarak ölçülmüş ve uygulama süreleri boyunca bu değer sabit kalmıştır. Fe, Cu, Zn, Cd ve Sn içerikleri de kontrol ve plazma uygulamaları sonrasında değişiklik göstermemiştir. Fe miktarı kontrol grubunda 38,91 ppm iken, 4 dakikalık uygulamada 38,49 ppm, 8 dakikalık uygulamada ise 38,63 ppm olarak kaydedilmiştir. Cu, Zn ve Cd içerikleri de kontrol grubuyla benzer düzeylerde kalmıştır. Sn içeriği ise tüm uygulama sürelerinde ölçüm limitinin (LOQ) altında kalmıştır.

ABSP uygulamasının buğday örneklerindeki mineral içerikleri üzerinde belirgin bir etkisi olmadığı görülmüştür (Şekil 3.8). Bu bulgu, ABSP'nin mineral içeriği açısından gıda kalitesini koruduğunu ve bu uygulamanın güvenle kullanılabileceğini göstermektedir.

ABSP'nin gıda güvenliği ve toksin azaltımı açısından etkili bir teknoloji olduğu, ayrıca besin ve mineral içeriklerini önemli ölçüde değiştirmeden işleme yapılabileceği teyit edilmiştir. Bu durum, ABSP'nin gıda işleme süreçlerinde uygulanabilirliği açısından önemli bir avantaj sağlamaktadır.



Şekil 3.8. ABSP uygulamasının buğday örneklerinde mineral kompozisyona etkisinin karşılaştırılması

Genel olarak, ABSP uygulaması buğdaydaki mineral kompozisyon üzerinde önemli bir etkiye sahip olmamıştır. Bu durum, ABSP'nin mineral içerikleri koruyarak toksin azaltımı sağlamak için güvenli bir yöntem olduğunu göstermektedir. Mineral kompozisyon üzerindeki bu sınırlı etkiler, gıda kalitesini koruma açısından ABSP'nin avantajlı bir teknoloji olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bulgular, ABSP'nin gıda işleme süreçlerinde kullanıldığında, besinsel değerlerin zarar görmeden korunduğunu ve toksin azaltımı sağladığını desteklemektedir.

Bu çalışmada elde edilen bulgular, literatürde bildirilen ABSP'nin tahıllar üzerindeki etkileriyle büyük ölçüde uyumludur. Çeşitli tahıl türlerinde yapılan araştırmalar, soğuk plazmanın protein, yağ, selüloz ve kül içeriği gibi besin bileşenleri üzerinde minimal değişimlere neden olduğunu göstermektedir. Örneğin, Chen ve arkadaşları [49] tarafından gerçekleştirilen çalışmada, 50 kV ve 8 dakikalık hava atmosferi koşullarında uygulanan soğuk plazmanın buğday kalitesine önemli bir etkisi olmadığı belirtilmiştir. Mevcut çalışmada da protein, yağ, selüloz ve kül içeriğinde anlamlı değişiklikler gözlemlenmemiştir.

Sonal ve arkadaşları [240] tarafından yapılan çalışmada, soğuk plazma işlemlerinin buğday proteinlerinde herhangi bir değişikliğe yol açmadığı rapor edilmiştir. Bu çalışma da benzer şekilde, protein seviyelerinde sadece minimal değişiklikler olduğunu ve bunların istatistiksel olarak anlamlı olmadığını doğrulamaktadır. Ayrıca, soğuk plazmanın 15 dakika boyunca uygulanmasının rutubet, protein ve nişasta üzerindeki etkilerinin minimal olduğu başka bir çalışmanın sonuçları [51], mevcut çalışmada gözlemlenen rutubet dışındaki sınırlı etkilerle örtüşmektedir.

Farklı tahıllar üzerinde yapılan çalışmalar da ABSP'nin tahılların temel bileşenlerine sınırlı etkileri olduğunu desteklemektedir. Örneğin, arpada yapılan ABSP uygulamalarında kalite parametrelerinde önemli bir değişiklik olmadığı rapor edilmiştir [55]. Bu durum, ABSP'nin tahıllar genelinde benzer etkiler gösterdiğini ve besin bileşimi üzerinde büyük değişiklikler yaratmadığını göstermektedir. Jian ve arkadaşları [237] tarafından pirinç taneleri üzerinde yapılan bir çalışmada, 8 dakikalık plazma uygulamasının elektriksel iletkenlikte %30,14, malondialdehit içeriğinde ise %103,27 artışa neden olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, işlem süresi uzadığında tohum çimlenmesinde azalma olduğu, ancak başlıca besin maddelerinin prolamin hariç etkilenmediği bildirilmiştir. Bu sonuçlar, plazma uygulamasının temel besin bileşenleri üzerinde sınırlı etkiler gösterirken, rutubet gibi bazı fiziksel özellikleri değiştirebileceğini ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada, ABSP uygulamasının tahılların mineral içeriği üzerindeki etkileri de incelenmiştir. Genel olarak, literatürde soğuk plazmanın demir (Fe), magnezyum (Mg), çinko (Zn) gibi minerallerin kimyasal yapıları veya biyoyararlanımları üzerinde belirgin bir değişikliğe neden olmadığı belirtilmiştir. Ancak, yüzeyde reaktif türlerle sınırlı etkileşimler gözlemlenmiştir. Bu bulgular, mevcut çalışmada da doğrulanmıştır; ABSP'nin tahılların mineral içeriğinde anlamlı değişikliklere yol açmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, reaktif türlerin gıda yüzeyinde bulunan serbest minerallerle sınırlı etkileşim gösterebileceği ifade edilmiştir. Bu etkiler, gıdanın türüne, mineral içeriğine ve plazma işlem parametrelerine bağlıdır [236].

Mevcut çalışma ve literatürdeki bulgular, ABSP'nin besin bileşimi üzerindeki etkisinin sınırlı olduğunu göstermektedir. Pirinç ve buğday gibi hammaddelerde yapılan çalışmalar, soğuk plazmanın nişasta içeriğini etkilemediğini ve protein ile yağ asidi kompozisyonunda önemli değişiklikler yaratmadığını ortaya koymuştur. Ancak, serbest yağ asitlerinde artışlar gözlemlenmiş ve bazı ürünlerde hafif duyuşal değişiklikler (örneğin, süt ürünlerinde renk

değişimi) rapor edilmiştir. ABSP'nin etkilerinin genellikle yüzeyle sınırlı olduğu ve gıdanın dış katmanlarının plazmanın etkinliğini azaltabileceği belirtilmiştir [241].

Bu çalışma, ABSP'nin buğdayın besin bileşimi üzerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığını ve bu teknolojinin gıda güvenliği sağlarken besin değerlerini koruduğunu göstermektedir. Soğuk plazma uygulamasının, tahıllardaki toksinleri etkili bir şekilde azaltırken besin içeriğini büyük ölçüde muhafaza etmesi, bu teknolojinin gıda güvenliği açısından umut verici bir yöntem olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak, plazma uygulama parametrelerinin optimize edilmesi, etkinliğin artırılması açısından önemli bir gereklilik olarak öne çıkmaktadır.

3.3. Mısır Örneklerinde Gerçekleştirilen Analizler

3.3.1. Zearalenon Analiz Sonuçları

Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Yönetmelikte buğday için ZON limit değeri 75 ppb olarak belirlenmiştir. Doğal yollarla toksin içeren kontrol örneğinde ZON miktarı 212,08 ppb olarak bulunmaktadır. Yapay olarak toksin ilave edilen kontrol örneğinde ZON miktarı 224,91 ppb olarak bulunmaktadır. Toksin standart çözeltisi 196,60 ppb olarak hazırlanmıştır. ABSP uygulaması sonrasında doğal toksin içeren mısır örneklerinde, yapay toksin içeren mısır örneklerinde ve toksin standart çözeltilerinde Zearalenon analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular aşağıda yer alan Çizelge 3.12'de sunulmuştur.

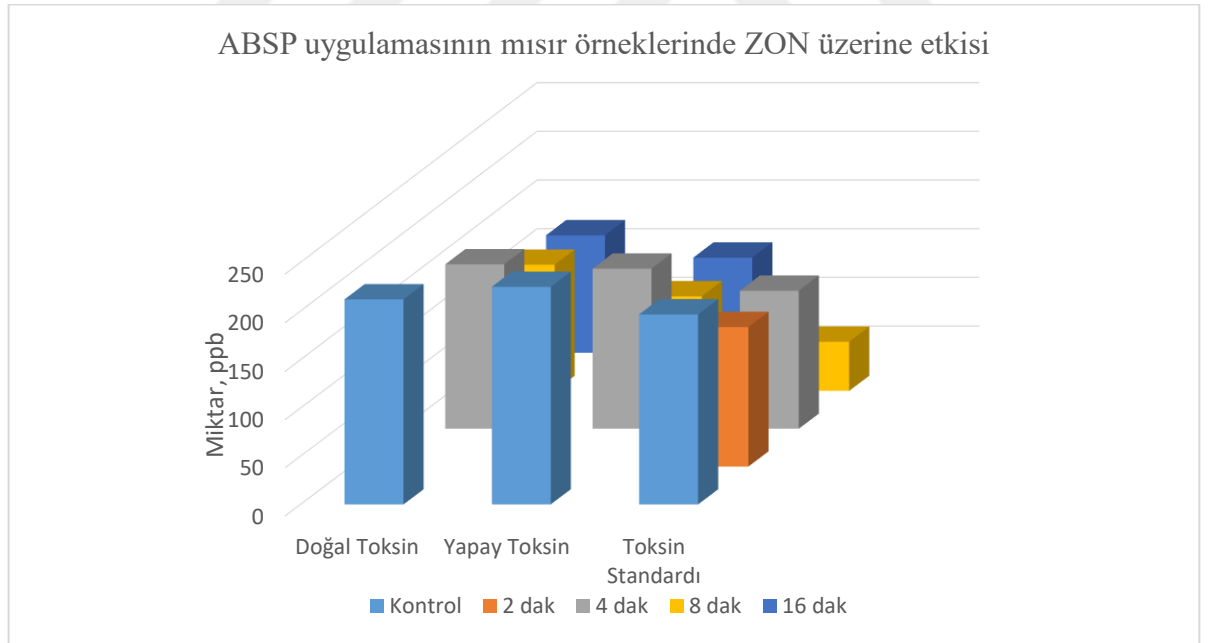
Çizelge 3.12. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde ZON üzerine etkisi

Uygulama Süresi	Doğal Toksin İçeren Numune ZON, ppb	Yapay Toksin İçeren Numune ZON, ppb	Standart Toksin İçeren Numune ZON, ppb
Kontrol	212,08±1,10 ^a	224,91±0,82 ^a	196,60±0,83 ^a
2 dakika	*	*	144,32±0,53 ^b
4 dakika	169,48±0,95 ^b	164,97±1,06 ^b	142,31±0,46 ^c
8 dakika	129,70±1,03 ^c	97,34±0,71 ^c	50,57±0,43 ^d
16 dakika	120,71±0,81 ^d	94,74±0,70 ^d	*

Aynı sütunda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p<0.05$). *Plazma uygulanmamıştır.

ABSP uygulamasının mısır örneklerindeki ZON seviyeleri üzerindeki etkisi incelenmiştir ve sonuçlar uygulama süresine göre önemli azalmalar göstermektedir. Doğal toksin içeren numunelerde, başlangıç ZON seviyesi 212,08 ppb iken 16 dakika sonunda 120,71 ppb'ye düşmüştür. Yapay toksin içeren numunelerde başlangıç seviyesi 224,91 ppb iken, 16 dakika sonunda 94,74 ppb'ye ulaşmıştır. Standart toksin içeren numunelerde ise başlangıç seviyesi 196,60 ppb iken 8 dakika sonunda 50,57 ppb'ye düşmüştür.

Bu sonuçlar, ABSP'nin ZON seviyelerinde etkili bir azalma sağladığını göstermektedir. Standart toksin içeren numunelerde en yüksek azalma oranı gözlemlenirken, doğal toksin içeren numunelerde azalma oranının daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durum, gıda matrisinin plazma etkinliği üzerinde kısıtlayıcı bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Yapay toksin içeren numunelerde ise doğal toksinlere göre daha yüksek bir azalma oranı elde edilmiş, ancak standart toksinlere kıyasla daha düşük kalmıştır. Sonuç olarak, ABSP'nin ZON azaltımı için etkili bir yöntem olduğu ve toksinlerin bulunduğu ortamın (matrisin) etkinlik üzerinde önemli bir faktör olduğu tespit edilmiştir. Tüm uygulamalarda süreye bağlı olarak örnekler arasında istatistiksel olarak farklılıklar olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 3.9. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde ZON üzerine etkisinin karşılaştırılması

Şekil 3.9'daki grafik, ABSP uygulamasının mısır örneklerinde ZON seviyeleri üzerindeki etkisini göstermektedir. Grafik, doğal olarak kontamine olmuş örnekler, yapay olarak toksin eklenmiş örnekler ve standart toksin çözeltilerindeki ZON seviyelerini, farklı uygulama süreleri (kontrol, 2, 4, 8 ve 16 dakika) boyunca karşılaştırmaktadır.

Genel olarak, ABSP tüm örnek türlerinde ZON seviyelerini etkili bir şekilde azaltmıştır ve en yüksek azalma, gıda matrisinin bulunmaması nedeniyle standart toksin çözeltisinde gözlemlenmiştir. Doğal olarak kontamine olmuş ve yapay toksin eklenmiş örneklerdeki azalma, gıda matrisinin ABSP'nin etkinliğini sınırlayabileceğini göstermektedir. Bu bulgular, ABSP'nin mısırdaki ZON detoksifikasyonu için umut vadeden bir yöntem olduğunu ortaya koymakta, ancak karmaşık gıda matrislerine sahip örneklerde etkinliğini artırmak için plazma parametrelerinin daha fazla optimize edilmesi gerektiğini işaret etmektedir.

3.3.2. ZON Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması

ABSP uygulaması ile doğal ve spike örnek için 4, 8 ve 16 dakika sonrasında doğal örnek ve spike örneklerde ZON analizleri gerçekleştirilmiş ve % değişim oranları hesaplanmıştır. Aynı analiz ZON içeren standart çözeltide 4 ve 8 dakikalık ABSP uygulaması sonrasında da yapılmıştır. Analiz sonuçlarındaki % değişim oranları aşağıda yer alan Çizelge 3.13'te sunulmuştur.

Çizelge 3.13. ABSP uygulamasının doğal, spike örneklerinde ve standart çözeltide ZON üzerine etkisi

ZON (% Değişim)*			
Örnek	4 Dakika	8 Dakika	16 Dakika
Doğal Örnek	%20,1 ^{Cc}	%38,8 ^{Bc}	%43,1 ^{Ab}
Spike Örnek	%26,6 ^{Cb}	%56,7 ^{Bb}	%57,9 ^{Aa}
Standart Çözelti	%27,6 ^{Ba}	%74,3 ^{Aa}	**

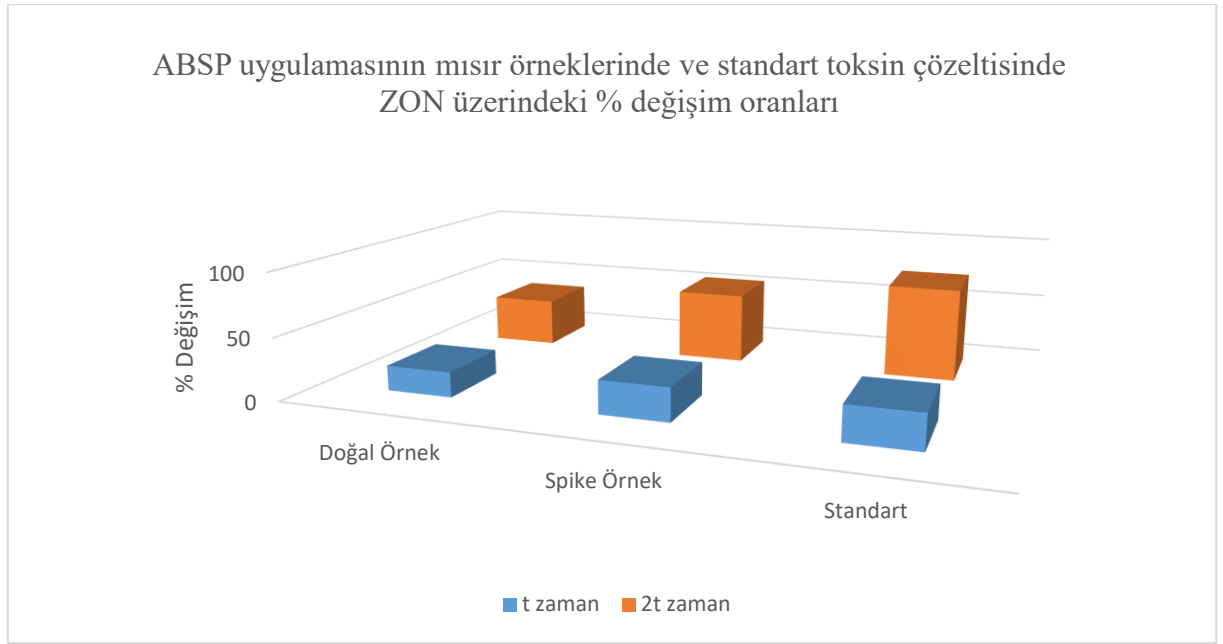
Aynı sütundaki farklı küçük harfler istatistiksel olarak farklılığı ifade etmektedir ($p < 0.05$). Aynı satırdaki farklı büyük harfler istatistiksel olarak farklılığı ifade etmektedir ($p < 0.05$). *% ZON karşılaştırması için referans örnek olarak kontrol örneği kullanılmıştır. **Plazma uygulanmamıştır.

Çizelge 3.13 ABSP uygulamasının doğal ve yapay (spike) toksin içeren örneklerde ZON seviyesi üzerindeki etkisini yüzde değişim oranları ile göstermektedir. ABSP uygulaması 4, 8 ve 16 dakika boyunca gerçekleştirilmiş ve analiz sonuçlarındaki ZON seviyelerindeki azalma oranları hesaplanmıştır. Doğal toksin içeren örneklerde, ZON seviyesinde 4 dakikalık ABSP uygulaması sonucunda %20,1'lik bir azalma gözlenmiştir. Bu oran, 8 dakikalık uygulamada %38,8'e, 16 dakikalık uygulamada ise %43,1'e yükselmiştir. Bu durum, ABSP uygulama süresi uzadıkça doğal toksin içeren örneklerde ZON seviyesinin giderek azaldığını göstermektedir. Yapay toksin içeren örneklerde ise daha yüksek oranlarda azalma gözlenmiştir. 4 dakikalık

ABSP uygulaması sonucunda ZON seviyesinde %26,6'lık bir azalma gerçekleşmiştir. Bu oran, 8 dakikalık uygulamada %56,7'ye, 16 dakikalık uygulamada ise %57,9'a yükselmiştir. Yapay toksin içeren örneklerin, doğal toksin içeren örneklerle kıyasla ABSP'ye daha duyarlı olduğu ve daha yüksek toksin azalma oranları gösterdiği gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler, ABSP'nin hem doğal hem de yapay toksin içeren örneklerde ZON seviyelerini azaltmada etkili bir yöntem olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışma, ABSP'nin gıda güvenliği uygulamalarında kullanılabilirliği konusunda umut verici sonuçlar sunmaktadır.

Çizelge 3.13'te görüldüğü üzere ABSP uygulamasının standart çözeltilerdeki ZON seviyelerini 4 ve 8 dakika sonra ne ölçüde azalttığını göstermektedir. Analiz sonuçları, ZON seviyelerinde önemli düşüşler olduğunu ve ABSP uygulamasının etkili bir detoksifikasyon yöntemi olduğunu ortaya koymaktadır. ABSP uygulamasından sonra, 4 dakikalık bir süre içerisinde standart çözeltilerdeki ZON seviyeleri %27,6 oranında azalmıştır. Bu azalma, 8 dakikalık uygulama sonunda önemli ölçüde artarak %74,3'e ulaşmıştır. Sonuçlar, ABSP'nin standart ZON çözeltilerini detoksifiye etmede oldukça etkili olduğunu ve uygulama süresi uzadıkça azaltma oranının hızlandığını göstermektedir. Standart çözeltilerde gözlemlenen yüksek azalma oranları, saf formdaki ZON'un ABSP uygulamasına daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Bu durum, toksin ile plazma arasındaki etkileşimi sınırlayabilecek karmaşık bir gıda matrisi olmamasından kaynaklanabilir. Bu bulgular, ABSP'nin saf mikotoksinlerin detoksifikasyonu için güçlü bir araç olduğunu ve toksin seviyelerini azaltmada hızlı ve etkili bir yöntem sunduğunu vurgulamaktadır.

Doğal toksin içeren mısır örneği, spike yapılan mısır örneği ve standart ZON örneği üzerine soğuk plazmanın etkisinin karşılaştırılabilmesi amacıyla, soğuk plazmanın 4 ve 8 dakika süreyle uygulanması sonucunda bulunan % değişimler aşağıdaki şekil 3.10'da gösterilmiştir.



Şekil 3.10. 4 ve 8 dakika soğuk plazma etkisiyle doğal örnek, spike örnek ve standart örneklerdeki Zearalenon miktarlarının % değişim oranlarının karşılaştırılması

Şekilde görüldüğü üzere, 4 ve 8 dakikalık ABSP uygulamasının doğal örnek, spike örnek ve standart örneklerde ZON miktarlarında meydana gelen % değişim oranlarını karşılaştırmaktadır. Grafik, ABSP'nin farklı örnek türlerinde ZON seviyelerini azaltmada etkili olduğunu ve etkinin uygulama süresiyle arttığını göstermektedir. Elde edilen veriler, ABSP'nin standart çözeltilerde daha yüksek etkinlik gösterdiğini ve bu etkinliğin saf toksin formlarının plazmaya olan duyarlılığından kaynaklanabileceğini göstermektedir. Doğal ve spike örneklerde ise gıda matrisi etkisi nedeniyle daha sınırlı bir azalma oranı elde edilmiştir. Bu bulgular, ABSP'nin toksin azaltmada etkili bir yöntem olduğunu ve uygulama süresi arttıkça etkinliğin daha da yükseldiğini ortaya koymaktadır. Standart çözeltilerde gözlemlenen yüksek etkinlik, ABSP'nin saf toksin detoksifikasyonunda güçlü bir araç olduğunu vurgulamaktadır.

Çalışmada elde edilen bulgular, ABSP'nin ZON toksinini azaltmada etkili bir yöntem olduğunu ortaya koymaktadır. Doğal örnekler, yapay (spike) örnekler ve standart çözeltiler arasında belirgin farklılıklar gözlemlenmiş, plazmanın etkinliğinin gıda matrisi ve toksinin bulunduğu ortam tarafından doğrudan etkilendiği belirlenmiştir.

ABSP uygulamasının en yüksek etkinliği standart çözeltilerde gözlemlenmiştir. Burada toksin saf formda olduğu için plazma ile doğrudan etkileşime girebilmiş, maksimum degradasyon oranları elde edilmiştir. Bu durum, Feizollahi ve arkadaşlarının [52] çalışmasıyla uyumludur; onların çalışmasında da standart çözeltilerde 30 saniyelik bir ABSP uygulamasıyla

%100 ZON indirgeme sağlanmıştır. Bu da toksin saf haldeyken, plazmanın bozunma mekanizmasının daha hızlı ve etkin çalıştığını göstermektedir. Feizollahi ve arkadaşları [52] tarafından yapılan çalışmada, ABSP uygulamasının ZON toksinini etkili bir şekilde degrade ettiği, uygulama koşullarına ve ürün substratına bağlı olarak farklı degradasyon oranları sağladığı görülmüştür. Feizollahi ve arkadaşlarının [52] çalışmasında da benzer bir eğilim gözlemlenmiştir; kuru substratlarda 15 dakika süren plazma uygulaması %66,8 oranında toksin bozunması sağlarken, kanola tohumu gibi farklı matrislerde bu oran değişiklik göstermiştir. Örneğin, kanola tohumunda %91,6, kanola ürününde %83,2 ve arpa tohumunda %64,8 oranında ZON degradasyonu rapor edilmiştir. Bu bulgular, ürünün yapısının ve toksinin bulunduğu ortamın, plazmanın etkisini doğrudan belirlediğini göstermektedir.

Benzer şekilde, Wielogorska ve arkadaşları [70], Hojnik ve arkadaşları [261] ve Ten Bosch ve arkadaşları [205] tarafından yapılan çalışmalarda standart çözeltelerde kısa sürelerde yüksek oranlarda ZON bozunması sağlandığını göstermiştir. Örneğin, Hojnik ve arkadaşları [261] tarafından yapılan çalışmada 8 dakikada, Wielogorska ve arkadaşları [70] tarafından yapılan çalışmada 60 dakikada, Ten Bosch ve arkadaşları [205] tarafından yapılan çalışmada ise 60 saniyede %100 ZON'u indirgemiştir. Bu sonuçlar, ABSP'nin toksinin bulunduğu ortam saf olduğuunda, oldukça kısa sürede maksimum etki gösterebildiğini doğrulamaktadır. Ayrıca, uygulama süresi ve voltaj arttıķa degradasyon yüzdesinin de arttığı gözlemlenmiştir; örneğin, 50 kV ve 120 saniyelik uygulamada degradasyon oranı %98 olarak kaydedilmiştir [56]. Yapılan bir çalışmada, ABSP'nin, buğdayda yaygın olarak bulunan ZON toksinini etkili bir şekilde detoksifiye ettiği görülmüştür. Buğday ununda ZON miktarı %50,55 oranında, mısır ununda ZON miktarı %58,07 oranında azaltılmıştır. Mikotoksin bozunma oranı, plazma parametrelerine (işlem süresi, güç seviyesi ve uygulama mesafesi) bağlı olarak değişiklik göstermiştir [242].

Elde edilen veriler, ürün substratının ABSP etkinliği üzerindeki önemli rolünü ortaya koymaktadır. Standart zeltelerde toksin saf formda olduğu için en yüksek azalma oranları elde edilmiştir. Doğal toksin içeren numunelerde ise gıda matrisinin plazmanın etkisini sınırladığı ve degradasyon oranlarını düşürdüğü gözlemlenmiştir. Yapay toksin içeren örnekler, doğal toksinlere göre daha yüksek oranlarda toksin indirgeme göstermiş olsa da, standart zeltelere kıyasla daha düşük seviyelerde kalmıştır. Bunun temel nedeni, spike yapılan numunelerde toksinlerin yüzeyde bulunması ve plazmanın bunlara daha kolay ulaşabilmesidir. Sonuç olarak,

ABSP'nin ZON toksinini azaltmada etkili bir yöntem olduğu, ancak etkinliğin substratın türüne ve uygulama koşullarına bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirlenmiştir.

3.3.3. DON Analiz Sonuçları

Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Yönetmelikte mısır için DON limit değeri 750 ppb olarak belirlenmiştir. Doğal yollarla toksin içeren kontrol örneğinde DON miktarı 1057,01 ppb olarak bulunmaktadır. Yapay olarak toksin ilave edilen kontrol örneğinde DON miktarı 1304,92 ppb olarak bulunmaktadır. Toksin standart çözeltisi 1003,56 ppb olarak hazırlanmıştır. ABSP uygulaması sonrasında doğal toksin içeren mısır örneklerinde, yapay toksin içeren mısır örneklerinde ve toksin standart çözeltilerinde Deoksinivalenol analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular aşağıda yer alan Çizelge 3.14'te sunulmuştur.

Çizelge 3.14. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde DON üzerine etkisi

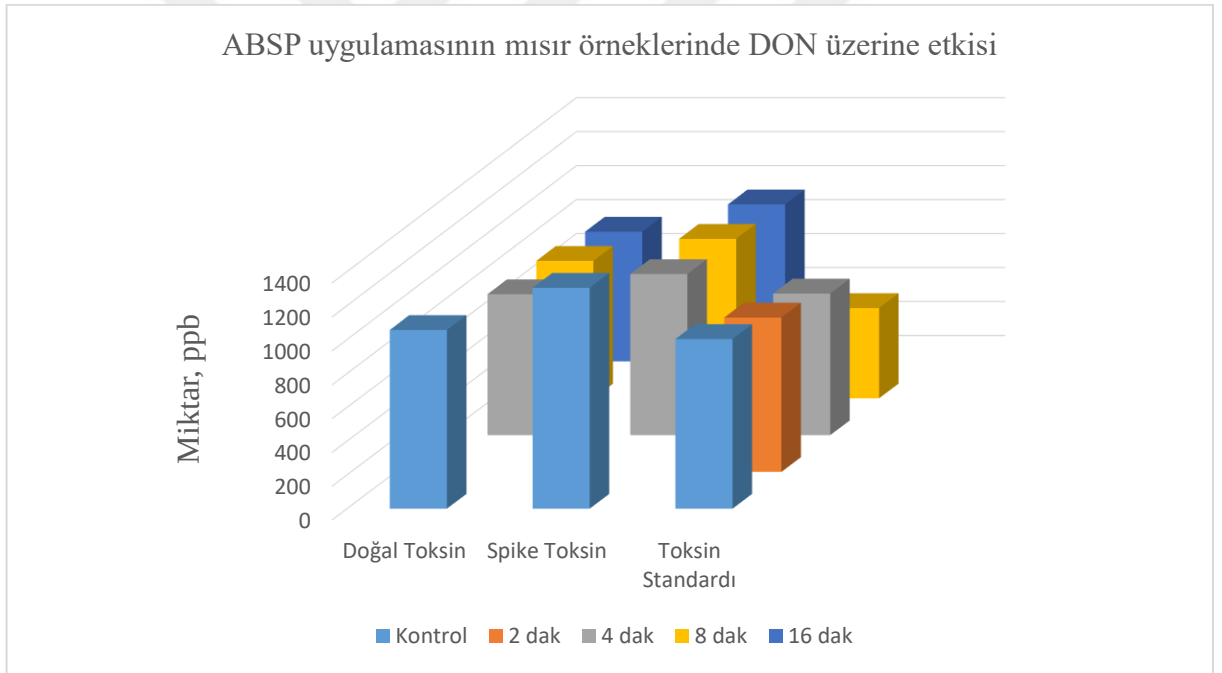
Uygulama Süresi	Doğal Toksin İçeren Numune DON, ppb	Yapay Toksin İçeren Numune DON, ppb	Standart Toksin İçeren Numune DON, ppb
Kontrol	1057,01±6,65 ^a	1304,92±4,01 ^a	1003,56±3,32 ^a
2 dakika	*	*	912,16±7,21 ^b
4 dakika	831,43±4,41 ^b	949,87±7,66 ^b	835,18±6,43 ^c
8 dakika	809,50±3,92 ^c	939,29±7,20 ^b	531,96±3,61 ^d
16 dakika	763,51±5,51 ^d	924,01±7,21 ^c	*

Aynı sütunda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p<0.05$). *Plazma uygulanmamıştır.

Çizelge 3.14'te sunulan analiz sonuçları, ABSP uygulamasının mısır örneklerinde DON seviyeleri üzerindeki etkisini göstermektedir. Doğal toksin içeren numunelerde başlangıç DON seviyesi 1057,01 ppb olarak ölçülmüştür. 4 dakikalık plazma uygulamasından sonra seviye 831,43 ppb'ye düşmüştür. Bu azalma, 8 dakikalık uygulama sonrasında 809,50 ppb'ye ve 16 dakikalık uygulamada 763,51 ppb'ye ulaşmıştır. Yapay toksin içeren numunelerde başlangıç DON seviyesi 1304,92 ppb olarak ölçülmüştür. ABSP uygulamasının 4 dakikalık süresi sonunda 949,87 ppb'ye düşmüştür. 8 dakikalık uygulama sonrasında 939,29 ppb'ye, 16 dakikalık uygulama sonrasında ise 924,01 ppb'ye ulaşmıştır. Standart toksin içeren

numunelerde ise başlangıç DON seviyesi 1003,56 ppb olarak ölçülmüştür. Plazma uygulamasının 2 dakikası sonunda 912,16 ppb'ye düşmüştür. 4 dakikalık uygulamada 835,18 ppb'ye ulaşmıştır. En yüksek azalma, 8 dakikalık uygulamada 531,96 ppb olarak kaydedilmiştir.

Genel olarak, sonuçlar ABSP'nin tüm numune türlerinde DON seviyelerini azaltmada etkili olduğunu göstermektedir. En yüksek azalma oranları, gıda matrisi gibi karmaşık bir ortamın bulunmamasından dolayı standart toksin çözeltilerinde gözlemlenmiştir. Doğal ve yapay toksin içeren numunelerde daha düşük azalma miktarları kaydedilmiş, bu da gıda matrisinin plazma etkinliğini sınırlayıcı bir etkisi olduğunu ortaya koymaktadır. DON seviyelerindeki azalmalar, uygulama süresi uzadıkça artış göstermekte olup, ABSP'nin gıda güvenliği uygulamaları için umut verici bir araç olduğunu vurgulamaktadır. Tüm uygulamalarda süreye bağlı olarak örnekler arasında istatistiksel olarak farklılıklar olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 3.11. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde DON üzerine etkisinin karşılaştırılması

Şekil 3.11'deki grafik, ABSP uygulamasının mısır örneklerindeki DON seviyeleri üzerindeki etkisini farklı uygulama sürelerine göre karşılaştırmaktadır. Grafikte kontrol grubu ile 2 dakika, 4 dakika, 8 dakika ve 16 dakika boyunca uygulanan plazma sürelerinin DON seviyeleri üzerindeki değişim oranları gözlemlenmiştir. Elde edilen bulgular, ABSP'nin özellikle standart toksin çözeltilerinde DON seviyelerini etkili bir şekilde azaltabildiğini, ancak doğal ve yapay toksin içeren örneklerde gıda matrisinin azalma miktarını sınırlayabileceğini

göstermektedir. Uygulama süresi arttıkça tüm numune türlerinde DON seviyelerinde belirgin azalmalar gerçekleşmiş olup, ABSP'nin gıda güvenliği açısından umut verici bir teknoloji olduğu ortaya konulmuştur.

3.3.4. Deoksinivalenol Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması

ABSP uygulaması ile doğal ve spike örnek için 4, 8 ve 16 dakika sonrasında doğal örnek ve spike örneklerde DON analizleri gerçekleştirilmiş ve % değişim oranları hesaplanmıştır. Aynı analiz DON içeren standart çözeltide 4 ve 8 dakikalık ABSP uygulaması sonrasında da yapılmıştır. Analiz sonuçlarındaki % değişim oranları aşağıda yer alan Çizelge 3.15'de sunulmuştur.

Çizelge 3.15. ABSP Uygulamasının Doğal, Spike Örneklerinde ve Standart Çözeltide DON üzerine etkisi

Örnek	DON (% Değişim)*		
	4 Dakika	8 Dakika	16 Dakika
Doğal Örnek	%21,3 ^{Cc}	%23,4 ^{Bc}	%27,8 ^{Ab}
Spike Örnek	%27,2 ^{Cb}	%28,0 ^{Bb}	%29,2 ^{Aa}
Standart Çözelti	%27,4 ^{Ba}	%47,0 ^{Aa}	**

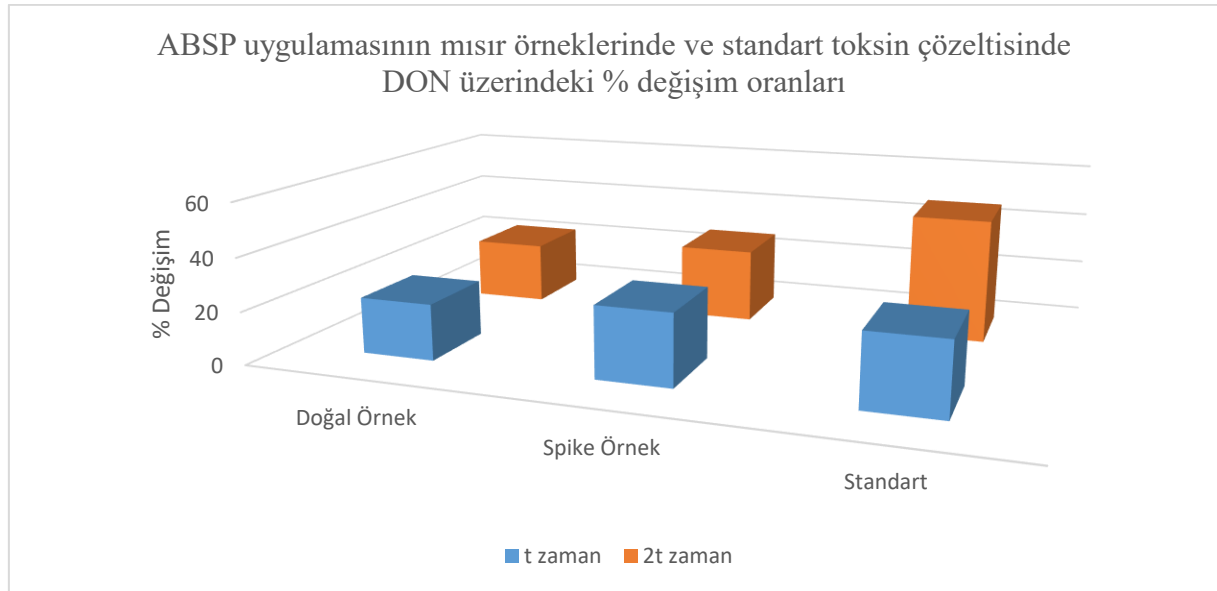
Aynı sütundaki farklı küçük harfler istatistiksel olarak farklılığı ifade etmektedir ($p < 0.05$). Aynı satırdaki farklı büyük harfler istatistiksel olarak farklılığı ifade etmektedir ($p < 0.05$). *% DON karşılaştırması için referans örnek olarak kontrol örneği kullanılmıştır. **Plazma uygulanmamıştır.

Çizelge 3.15'de ABSP uygulamasının doğal ve yapay (spike) örneklerde DON üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Doğal toksin içeren örneklerde, 4 dakikalık ABSP uygulaması sonrası DON seviyesinde %21,3'lük bir azalma gözlenmiş, bu oran 8 dakikalık uygulamada %23,4'e ve 16 dakikalık uygulamada ise %27,8'e yükselmiştir. Bu durum, ABSP uygulama süresi arttıkça doğal toksin içeren örneklerde DON seviyesinin giderek azaldığını göstermektedir. Yapay toksin içeren örneklerde ise DON seviyesindeki azalma oranı daha yüksek bulunmuştur. 4 dakikalık ABSP uygulaması ile %27,2'lik bir azalma gerçekleşmiş, bu oran 8 dakikalık uygulamada %28,0'e ve 16 dakikalık uygulamada %29,2'ye ulaşmıştır. Yapay toksin içeren örneklerin, doğal toksin içerenlere kıyasla ABSP uygulamasına karşı daha duyarlı olduğu ve daha yüksek toksin azalma oranları gösterdiği görülmüştür. Elde edilen veriler, ABSP'nin hem doğal hem de yapay toksin içeren örneklerde DON seviyelerini azaltmada etkili bir yöntem olduğunu ve uygulama süresinin etkinlik üzerinde önemli bir rol oynadığını ortaya

koymaktadır. Ancak, doğal örneklerdeki toksin azaltma oranlarının daha düşük olması, gıda matrisinin plazma etkinliğini sınırlayan bir faktör olabileceğini düşündürmektedir.

Çizelge 3.15’de, ABSP uygulamasının standart çözeltilerde DON üzerindeki etkisini göstermektedir. Verilere göre, 4 dakikalık ABSP uygulaması sonrası standart çözelti örneklerindeki DON seviyesinde %27,4’lük bir azalma gözlenmiştir. Bu oran, 8 dakikalık uygulama sonucunda %47,0’e yükselmiştir. Sonuçlar, ABSP’nin standart DON çözeltilerinde toksin azaltımı konusunda oldukça etkili olduğunu ve uygulama süresi arttıkça toksin azaltma oranının belirgin şekilde arttığını ortaya koymaktadır. Standart çözeltilerdeki yüksek etkinlik, plazmanın toksinleri saf formda etkili bir şekilde parçalayabilme yeteneğini göstermektedir. Bu durum, ABSP’nin toksin detoksifikasyonu için güvenilir ve hızlı bir yöntem olduğunu ve özellikle standart çözeltilerde başarılı sonuçlar verdiğini göstermektedir. Ancak, etkinliğin optimize edilmesi, doğal ve yapay örneklerde de benzer başarı elde edilebilmesi için önemli bir adımdır.

Doğal toksin içeren mısır örneği, spike yapılan mısır örneği ve standart DON örneği üzerine soğuk plazmanın etkisinin karşılaştırılabilmesi amacıyla, soğuk plazmanın 4 ve 8 dakika süreyle uygulanması sonucunda bulunan % değişimler aşağıdaki Şekil 3.12’de gösterilmiştir.



Şekil 3.12. 4 ve 8 dakika soğuk plazma etkisiyle doğal örnek, spike örnek ve standart örneklerdeki DON miktarlarının % değişim oranlarının karşılaştırılması

Elde edilen bulgular, ABSP uygulamalarının DON toksininin detoksifikasyonunda etkili bir teknoloji olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışmada doğal, spike ve standart çözeltiler üzerinde gerçekleştirilen plazma uygulamalarında farklı oranlarda toksin azalmaları gözlemlenmiştir. Genel olarak, standart çözeltilerde maksimum toksin giderimi sağlanırken, doğal ve yapay örneklerde daha düşük oranlarda bozunma gözlemlenmiştir.

Bu durum, literatürdeki çeşitli çalışmalarla da uyumluluk göstermektedir. Feizollahi ve arkadaşları [55] tarafından yapılan çalışmada, 6 ve 10 dakikalık soğuk plazma uygulamalarının arpada DON seviyelerini sırasıyla %48,9 ve %54,4 oranında azalttığı bildirilmiştir. Çalışmamızda spike örneklerde 16 dakikalık ABSP uygulaması sonucunda DON seviyesinde %29,2'lik bir azalma gözlenmiş olup, arpa numunelerindeki bu yüksek indirgeme oranları ile kısmi benzerlik göstermektedir.

Chen ve arkadaşları [49] tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada, 50 kV'de 8 dakikalık ABSP uygulamasıyla DON katı standardında %84'lük bir azalma sağlanmıştır. Bu oran, çalışmamızda standart çözeltilerde elde edilen yüksek oranlı DON bozunmasıyla uyumludur. Ayrıca, Feizollahi ve arkadaşları [50] tarafından yapılan başka bir çalışmada, 5 dakikalık soğuk plazma uygulaması DON çözeltisinde %100 degradasyona neden olmuştur. Çalışmamızda da standart çözeltilerde DON seviyelerinde en yüksek indirgeme oranları sağlanmıştır ve bu durum literatürdeki benzer bulgularla örtüşmektedir.

DON'un plazma ile bozunma mekanizmaları, plazma reaktif türlerinin (ROS ve RNS), plazma uygulama süresi, voltaj seviyesi ve plazma gaz bileşimi gibi çeşitli parametrelere bağlı olarak değişmektedir. DBD soğuk plazma kullanılarak yapılan bir çalışmada, DON çözeltisinde 25 dakika sonunda %99 oranında bozunma sağlanmıştır [51]. Bu çalışma, daha uzun plazma maruziyet süresinin toksin degradasyonunu artırdığını göstermektedir.

Jian ve arkadaşları [237], pirinç taneleri üzerinde gerçekleştirdiği bir çalışmada DON seviyelerinin %61,25 oranında azaldığını rapor etmiştir. Çalışmamızda buğday taneleri üzerinde yapılan uygulamalarda %61'lik bir DON indirgeme oranı gözlemlenmiştir. Bu durum, ABSP'nin tahıl bazlı matrislerde DON azaltmada benzer bir performans gösterdiğini kanıtlamaktadır.

Bununla birlikte, Park ve arkadaşları [68] tarafından yapılan çalışmada, cam substrat üzerindeki DON'un atmosferik argon mikrodalga plazma ile 5 saniyeden kısa sürede tamamen bozunduğu bildirilmiştir. Bu, plazma gaz bileşiminin toksin indirgeme kapasitesine doğrudan

etki ettiğini ve argon gibi inert gazların güçlü iyonlaştırma yeteneği sayesinde daha kısa sürede etkin bozunma sağlanabildiğini göstermektedir.

DON'un toksik etkileri göz önüne alındığında, ABSP'nin yalnızca toksin seviyelerini azaltmakla kalmayıp, aynı zamanda toksinlerin biyolojik aktivitesini de değiştirdiği görülmektedir. Yapılan bir çalışmada, ABSP'nin DON mikotoksininin neden olduğu hepatotoksisiteyi (karaciğer toksisitesi) azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir. ABSP uygulaması, DON'u %97 oranında parçalayarak toksisitesini önemli ölçüde azaltmıştır. İn vitro ve in vivo deneylerde, ABSP'nin DON'un karaciğerde oksidatif stres, mitokondriyal hasar ve hücrel yaşlanma gibi olumsuz etkilerini ortadan kaldırdığı rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, ABSP'nin yalnızca toksin miktarını azaltan bir teknoloji olmanın ötesinde, mikotoksinlerin biyolojik etkilerini de değiştiren bir detoksifikasyon aracı olduğunu göstermektedir [243].

ABSP'nin DON indirgeme etkinliği kullanılan plazma cihazının türüne, uygulama süresine, voltaj seviyesine, gaz bileşimine ve ortam koşullarına bağlı olarak değişmektedir. Wielogorska ve arkadaşları [70], 20 dakikalık ABSP uygulaması sonrası DON'un %50 oranında bozunduğunu rapor etmiştir. Ott ve arkadaşları [244], yüksek voltajlı atmosferik soğuk plazma uygulamasının 20 dakika içinde DON'u %99'dan fazla bozduğunu göstermiştir. Sıvı ve katı fazlardaki DON'un ABSP ile bozunma verimliliğini inceleyen bir çalışmada, sıvı fazdaki DON'un 3,5 dakikada %95 oranında parçalandığı, ancak katı fazda bu oranın %56 ile sınırlı kaldığı belirlenmiştir [245]. Buğday tanelerinde yapılan uygulamalarda DON seviyeleri %61 oranında azaltılmış, ancak bu etkinliğin yüzey koruma etkisi ve plazmanın düşük penetrasyon derinliği nedeniyle sınırlı olduğu gözlemlenmiştir [246].

Bu bulgular, plazma uygulama süresi ve voltaj arttıkça DON bozunum oranlarının da yükseldiğini göstermektedir. Ayrıca, sıvı fazdaki toksinlerin plazmaya daha duyarlı olduğu, katı fazdaki toksinlerin ise daha dirençli olduğu görülmüştür. Bu durum, toksinin bulunduğu ortamın, plazma ile bozunma sürecinde kritik bir rol oynadığını göstermektedir.

ABSP, DON toksininin gideriminde etkili bir yöntemdir, ancak etkinliği toksinin bulunduğu ortam ve plazma parametrelerine bağlı olarak değişmektedir. Standart çözeltilerde en yüksek DON bozunma oranları gözlemlenirken, doğal ve spike örneklerde daha sınırlı indirgeme oranları kaydedilmiştir. Plazma uygulama süresi, voltaj seviyesi ve gaz bileşimi, DON bozunma sürecinde belirleyici faktörlerdir. ABSP, yalnızca toksin seviyelerini azaltmakla

kalmayıp, aynı zamanda DON'un toksik etkilerini de ortadan kaldırarak gıda güvenliğini artırmaktadır.

3.3.5. FUMO B1 ve B2 Analiz Sonuçları

Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Yönetmelikte mısır için FUMOB1 ve B2 toplam limit değeri 1000 ppb olarak belirlenmiştir. Doğal yollarla toksin içeren kontrol örneğinde FUMO B1 ve B2 toplam miktarı 935,35 ppb olarak bulunmaktadır. Yapay olarak toksin ilave edilen kontrol örneğinde FUMO B1 ve B2 toplam miktarı 1568,13 ppb olarak bulunmaktadır. Toksin standart çözeltisi 2224,71 ppb olarak hazırlanmıştır. ABSP uygulaması sonrasında doğal toksin içeren mısır örneklerinde, yapay toksin içeren mısır örneklerinde ve toksin standart çözeltilerinde FUMO B1 ve B2 analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular aşağıda yer alan Çizelge 3.16, Çizelge 3.17 ve Çizelge 3.18'de sunulmuştur.

Çizelge 3.16. ABSP uygulamasının doğal toksin içeren mısır örneklerinde FUMO B1 ve B2 üzerine etkisi

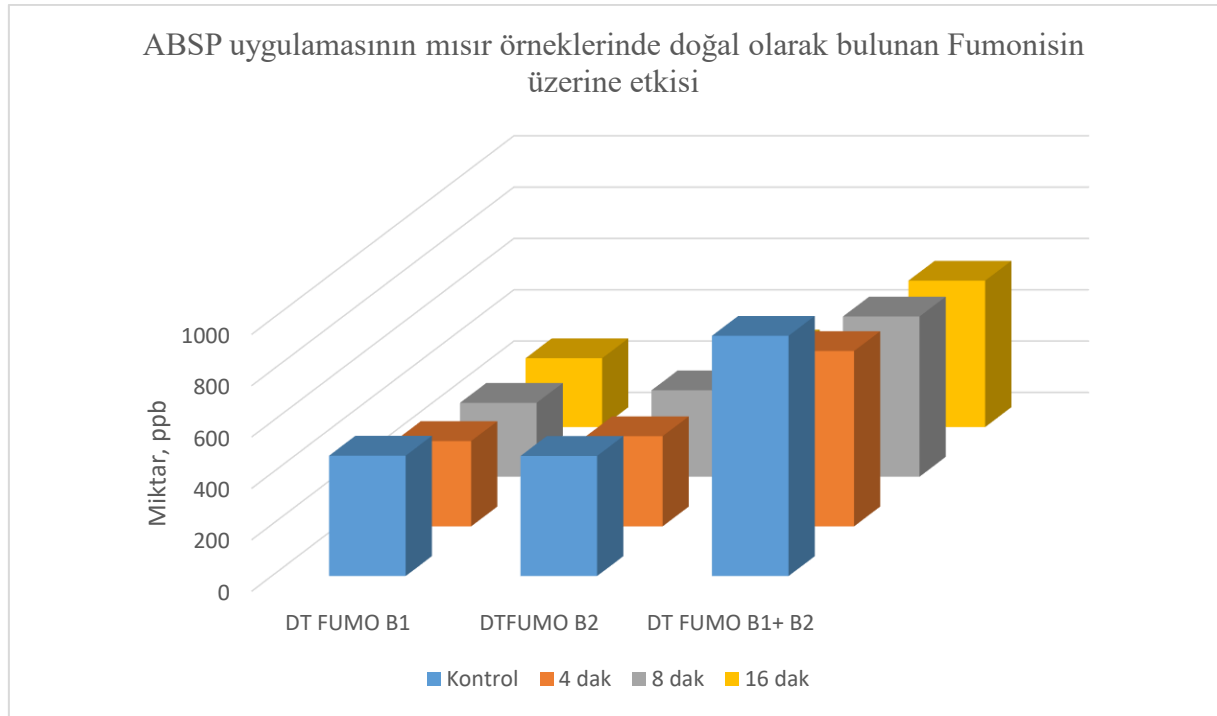
Uygulama Süresi	Doğal Toksin İçeren Numune FUMO B1, ppb	Doğal Toksin İçeren Numune FUMO B2, ppb	Doğal Toksin İçeren Numune Toplam FUMO, ppb
Kontrol	468,14±7,97 ^a	467,20±7,86 ^a	935,35±14,45 ^a
4 dakika	331,85±4,95 ^b	350,80±6,47 ^b	682,66±10,08 ^b
8 dakika	287,67±9,45 ^c	336,48±11,56 ^b	624,14±4,70 ^c
16 dakika	268,27±3,25 ^d	302,32±10,78 ^c	570,59±14,02 ^d

Aynı sütunda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Şekilde görüldüğü üzere, ABSP uygulamasının doğal toksin içeren mısır örneklerindeki FUMO B1 ve B2 toksin seviyelerine etkisini göstermektedir. Kontrol örneğinde, başlangıç seviyeleri FUMO B1 için 468,14 ppb, FUMO B2 için 467,20 ppb ve toplam FUMO için 935,35 ppb olarak ölçülmüştür. ABSP uygulamasıyla birlikte toksin seviyelerinde belirgin azalmalar gözlenmiştir. 4 dakikalık plazma uygulaması sonucunda, FUMO B1 seviyesinde 331,85 ppb'ye, FUMO B2 seviyesinde 350,80 ppb'ye düşüş kaydedilmiştir. Toplam FUMO seviyesi ise 682,66 ppb'ye ulaşmıştır. 8 dakikalık uygulama sonrasında FUMO B1 seviyesi 287,67 ppb'ye, FUMO B2 seviyesi 336,48 ppb'ye gerilemiştir. Toplam FUMO seviyesi 624,14 ppb olarak

kaydedilmiştir. 16 dakikalık plazma uygulamasıyla FUMO B1 seviyesi 268,27 ppb'ye, FUMO B2 seviyesi 302,32 ppb'ye gerilemiştir. Toplam FUMO seviyesi ise 570,59 ppb'ye düşmüştür.

Bu sonuçlar, ABSP'nin FUMO B1 ve B2 toksin seviyelerini azaltmada etkili bir yöntem olduğunu ve uygulama süresi uzadıkça toksin azaltım oranlarının arttığını göstermektedir. Bununla birlikte, toplam FUMO seviyesindeki azalmaların da benzer şekilde önemli olduğu görülmektedir. Bu bulgular, ABSP'nin mısır gibi doğal toksin içeren gıda ürünlerinde toksin detoksifikasyonu için kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Tüm uygulamalarda süreye bağlı olarak örnekler arasında istatistiksel olarak farklılıklar olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 3.13. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde doğal olarak bulunan Fumonisin üzerine etkisinin karşılaştırılması (DT: Doğal Toksin)

Şekil 3.13'deki grafik, ABSP uygulamasının mısır örneklerinde doğal olarak bulunan FUMO B1 ve B2 toksinleri üzerindeki etkisini göstermektedir. Bu bulgular, ABSP'nin FUMO B1 ve B2 toksin seviyelerinde önemli düşüşler sağladığını ve uygulama süresinin toksin azaltma etkinliği üzerinde belirleyici bir rol oynadığını göstermektedir. FUMO B1, ABSP uygulamasına karşı FUMO B2'ye göre daha yüksek bir azalma oranı sergilemiştir. Toplamda, ABSP'nin doğal olarak bulunan Fumonisin toksinlerini azaltmada etkili bir yöntem olduğu ve bu yöntemin gıda güvenliği açısından önemli bir potansiyel taşıdığı ortaya konulmuştur.

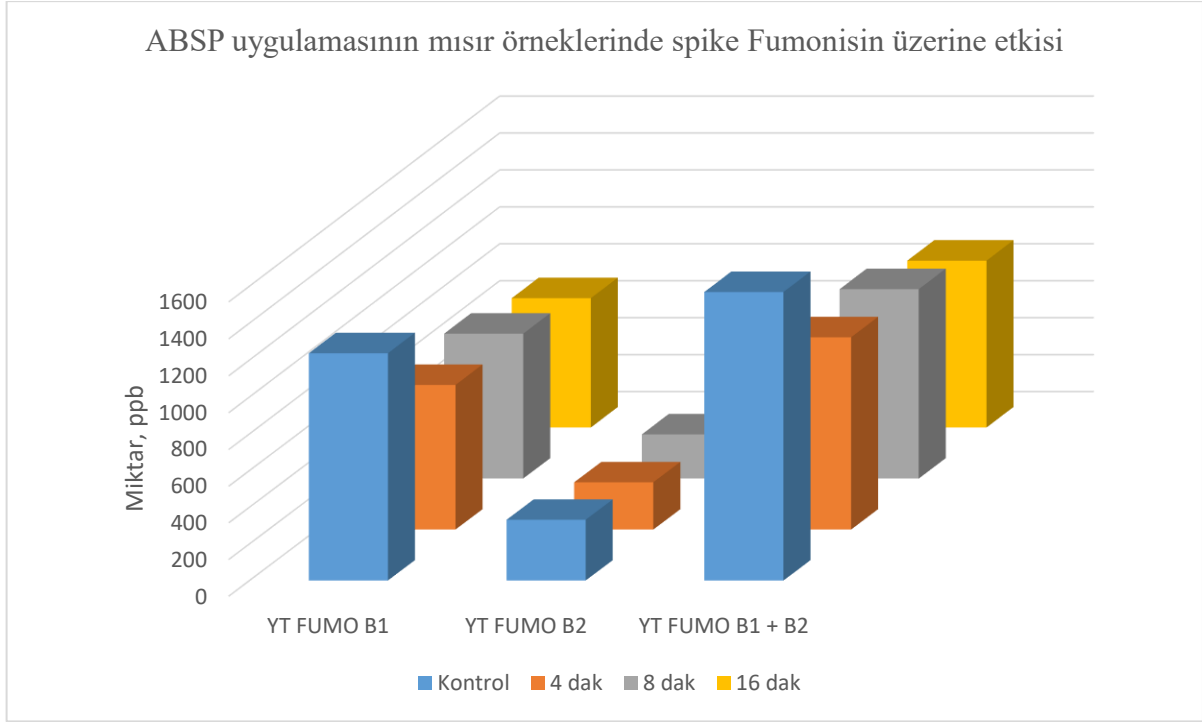
Çizelge 3.17. ABSP uygulamasının yapay toksin içeren mısır örneklerinde FUMO B1 ve B2 üzerine etkisi

Uygulama Süresi	Yapay Toksin İçeren Numune FUMO B1, ppb	Yapay Toksin İçeren Numune FUMO B2, ppb	Yapay Toksin İçeren Numune Toplam FUMO, ppb
Kontrol	1236,67±6,84 ^a	331,46±7,99 ^a	1568,13±12,05 ^a
4 dakika	786,89±9,21 ^b	257,67±7,61 ^b	1044,57±7,44 ^b
8 dakika	786,20±7,98 ^b	240,89±7,62 ^b	1027,10±11,57 ^b
16 dakika	700,21±6,36 ^c	203,10±4,54 ^c	903,32±10,72 ^c

Aynı sütunda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Çizelge 3.17, ABSP uygulamasının yapay toksin içeren mısır örneklerindeki Fumonisin (FUMO) B1 ve B2 seviyelerine etkisini detaylı olarak sunmaktadır. Kontrol örneklerinde başlangıç FUMO B1 seviyesi 1236,67 ppb, FUMO B2 seviyesi 331,46 ppb ve toplam FUMO (B1+B2) seviyesi 1568,13 ppb olarak ölçülmüştür. 4 dakikalık ABSP uygulaması sonrasında FUMO B1 seviyesi 786,89 ppb'ye düşmüştür. Aynı süre içinde FUMO B2 seviyesi 257,67 ppb'ye, toplam FUMO seviyesi 1044,57 ppb'ye gerilemiştir. 8 dakikalık uygulama sonucunda FUMO B1 seviyesi 786,20 ppb olarak sabit kalmış, FUMO B2 seviyesi 240,89 ppb'ye düşmüş, toplam FUMO seviyesi ise 1027,10 ppb olarak hesaplanmıştır. 16 dakikalık ABSP uygulamasında, FUMO B1 seviyesi 700,21 ppb'ye, FUMO B2 seviyesi 203,10 ppb'ye ve toplam FUMO seviyesi 903,32 ppb'ye ulaşmıştır.

Bu bulgular, ABSP'nin yapay toksin içeren mısır örneklerinde FUMO B1 ve B2 seviyelerini etkili bir şekilde azaltabildiğini ve uygulama süresi arttıkça azalma miktarının belirgin şekilde yükseldiğini göstermektedir. Özellikle 16 dakikalık uygulama, en yüksek toksin degradasyonu sağlamıştır. Bu sonuçlar, ABSP'nin fumonisin toksinlerinin indirgenmesinde etkili bir yöntem olduğunu ve FUMO B1'in FUMO B2'ye göre daha yüksek bir duyarlılık sergilediğini ortaya koymaktadır.



Şekil 3.14. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde yapay Fumonisin üzerine etkisinin karşılaştırılması (YT: Yapay Toksin)

Şekil 3.14'deki grafik, ABSP uygulamasının yapay toksin (spike) içeren mısır örneklerindeki Fumonisin B1, B2 ve toplam Fumonisin (B1+B2) seviyeleri üzerindeki etkilerini göstermektedir. Kontrol örneklerinde başlangıç FUMO B1 seviyesi en yüksek düzeyde, ardından FUMO B2 ve toplam FUMO seviyeleri sırasıyla izlenmiştir. 4 dakikalık ABSP uygulaması sonucunda, FUMO B1 seviyesinde önemli bir azalma gözlenmiştir. Benzer şekilde, FUMO B2 seviyelerinde de belirgin bir düşüş görülmüş ve toplam FUMO seviyelerinde ise gözle görülür bir azalma kaydedilmiştir. 8 dakikalık uygulama, her iki fumonisin türünde daha fazla azalma sağlamış ve toplam FUMO seviyesinde daha belirgin bir düşüşe neden olmuştur. 16 dakikalık uygulama sonucunda, FUMO B1 ve B2'nin seviyeleri en düşük düzeylere ulaşmış, toplam FUMO seviyesi ise uygulamanın en etkili sonucu olarak kaydedilmiştir.

Genel olarak, plazma uygulama süresi arttıkça FUMO B1 ve B2 seviyelerindeki azalma oranları artış göstermiştir. FUMO B1'in daha yüksek başlangıç seviyeleri nedeniyle azalma oranlarının etkisi, FUMO B2'ye kıyasla daha belirgin olmuştur. Bu durum, ABSP'nin fumonisin toksinlerinin indirgenmesinde etkili bir yöntem olduğunu ve uygulama süresinin etkinlik üzerindeki belirleyici rolünü vurgulamaktadır. Ayrıca, toplam FUMO seviyelerindeki düşüş, FUMO B1 ve B2'nin her ikisinin de etkin bir şekilde indirgenebildiğini ortaya koymaktadır. Bu

sonuçlar, ABSP'nin özellikle yapay toksin içeren örneklerde etkili bir detoksifikasyon yöntemi olduğunu göstermektedir.

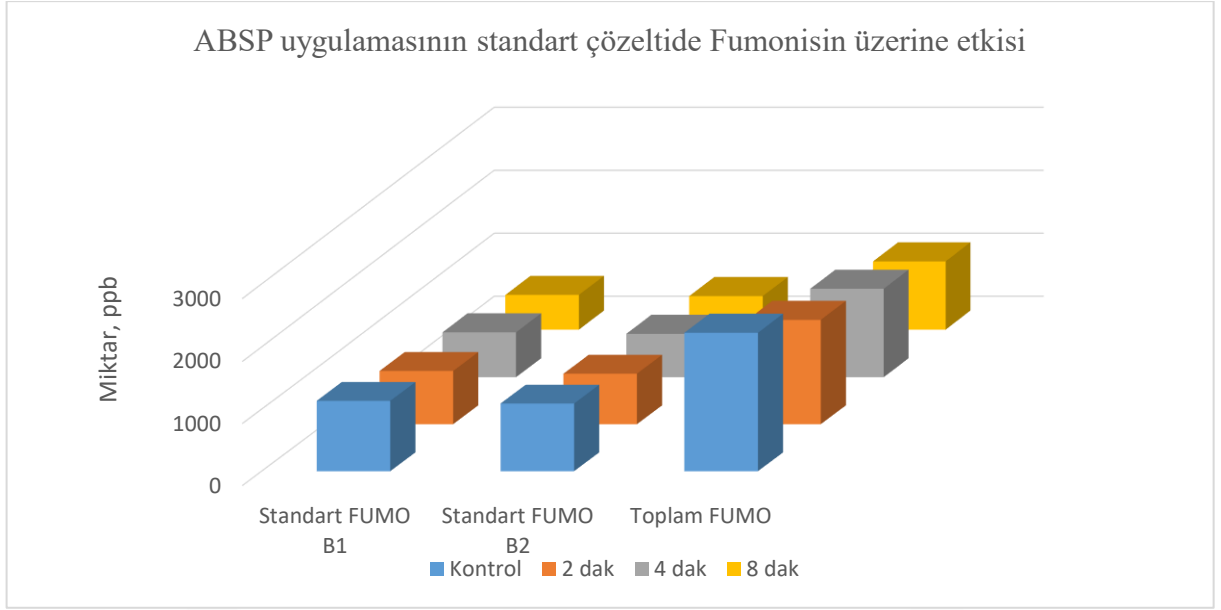
Çizelge 3.18. ABSP uygulamasının FUMO B1 ve B2 standart çözeltisi üzerine etkisi

Uygulama Süresi	FUMO B1 Standardı, ppb	FUMO B2 Standardı, ppb	Toplam FUMO Standardı, ppb
Kontrol	1134,64±5,94 ^a	1091,07±4,48 ^a	2224,71±6,03 ^a
2 dakika	857,81±7,71 ^b	813,81±5,86 ^b	1671,62±13,54 ^b
4 dakika	714,85±6,14 ^c	691,77±4,58 ^c	1406,62±10,70 ^c
8 dakika	551,09±3,85 ^d	532,42±4,81 ^d	1083,52±5,38 ^d

Aynı sütunda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Çizelge 3.18, ABSP uygulamasının FUMO B1, B2 ve toplam FUMO standartları üzerindeki etkisini göstermektedir. Kontrol grubunda FUMO B1 seviyesi 1134,64 ppb, FUMO B2 seviyesi 1091,07 ppb ve toplam FUMO seviyesi 2224,71 ppb olarak ölçülmüştür. Bu değerler, plazma uygulamasının başlangıçtaki standart toksin seviyelerini temsil etmektedir. 2 dakikalık ABSP uygulaması sonucunda FUMO B1 seviyesi 857,81 ppb'ye düşmüş, FUMO B2 seviyesi 813,81 ppb'ye gerilemiştir. Toplam FUMO seviyesi 1671,62 ppb'ye düşmüştür. 4 dakikalık uygulamada, bu azalma oranları artış göstermiştir; FUMO B1 seviyesi 714,85 ppb'ye, FUMO B2 seviyesi 691,77 ppb'ye ve toplam FUMO seviyesi 1406,62 ppb'ye düşmüştür. 8 dakikalık uygulamada ise toksin seviyelerinde en belirgin azalma görülmüştür. FUMO B1 seviyesi 551,09 ppb'ye, FUMO B2 seviyesi 532,42 ppb'ye ve toplam FUMO seviyesi 1083,52 ppb'ye ulaşmıştır. Bu sonuçlar, uygulama süresi arttıkça ABSP'nin toksin azaltma etkinliğinin önemli ölçüde arttığını göstermektedir.

Sonuç olarak, ABSP'nin hem FUMO B1 hem de FUMO B2 standartları üzerindeki indirgeme etkisi oldukça başarılıdır. Uygulama süresi uzadıkça toksin seviyelerinde belirgin bir azalma gözlemlenmiştir. Özellikle 8 dakikalık uygulama, Fumonisin standardı üzerinde en yüksek degradasyonu sağlamıştır. Bu bulgular, ABSP'nin toksin standartları üzerinde etkili bir detoksifikasyon yöntemi olduğunu ve uzun süreli uygulamaların toksinlerin azaltılmasında daha etkili olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 3.15. ABSP uygulamasının standart çözeltide Fumonisin üzerine etkisinin karşılaştırılması

Şekil 3.15, ABSP uygulamasının standart çözeltide FUMO B1, FUMO B2 ve toplam FUMO üzerindeki etkisini görselleştirmektedir. Genel olarak, ABSP uygulamasının plazma süresi arttıkça FUMO B1, B2 ve toplam FUMO seviyelerinde etkili bir azalma sağladığı görülmüştür. Bu bulgular, ABSP'nin toksin indirgeme kapasitesinin hem hızlı hem de etkili olduğunu ve toksinleri azaltmada umut vaat eden bir yöntem olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Standart çözeltilerdeki bu yüksek etkinlik, ABSP'nin toksin detoksifikasyonu için özellikle güvenilir bir yöntem olduğunu ortaya koymaktadır.

3.3.6. FUMO B1, FUMO B2 ve Toplam FUMO Analiz Sonuçlarının Karşılaştırılması

ABSP uygulaması ile doğal ve spike örnek için 4, 8 ve 16 dakika sonrasında doğal örnek ve spike örneklerde FUMO B1, FUMO B2 ve Toplam FUMO analizleri gerçekleştirilmiş ve % değişim oranları hesaplanmıştır. Aynı analiz FUMO B1, FUMO B2 ve Toplam FUMO içeren standart çözeltide 4 ve 8 dakikalık ABSP uygulaması sonrasında da yapılmıştır. Analiz sonuçlarındaki % değişim oranları aşağıda yer alan Çizelge 3.19'da sunulmuştur.

Çizelge 3.19. ABSP uygulamasının doğal, spike örneklerinde ve standart çözeltide FUMO B1, FUMO B2 ve Toplam FUMO üzerine etkisi

Örnek	FUMO B1 (% Değişim)*			FUMO B2 (% Değişim)*			Toplam FUMO (% Değişim)*		
	4	8	16	4	8	16	4	8	16
	Dakika	Dakika	Dakika	Dakika	Dakika	Dakika	Dakika	Dakika	Dakika
Doğal Örnek	%29,1 ^{Bb}	%38,6 ^{Ab}	%42,7 ^{Aa}	%24,9 ^{Bb}	%28,0 ^{Bb}	%35,3 ^{Ab}	%27,0 ^{Cc}	%33,3 ^{Bb}	%39,0 ^{Ab}
Spike Örnek	%36,4 ^{Ba}	%36,4 ^{Bc}	%43,4 ^{Aa}	%22,3 ^{Bc}	%27,3 ^{Bb}	%38,7 ^{Aa}	%33,4 ^{Cb}	%34,5 ^{Bb}	%42,4 ^{Aa}
Standart Çözelti	%36,9 ^{Ba}	%51,4 ^{Aa}	**	%36,6 ^{Ba}	%51,2 ^{Aa}	**	%36,8 ^{Ba}	%51,3 ^{Aa}	**

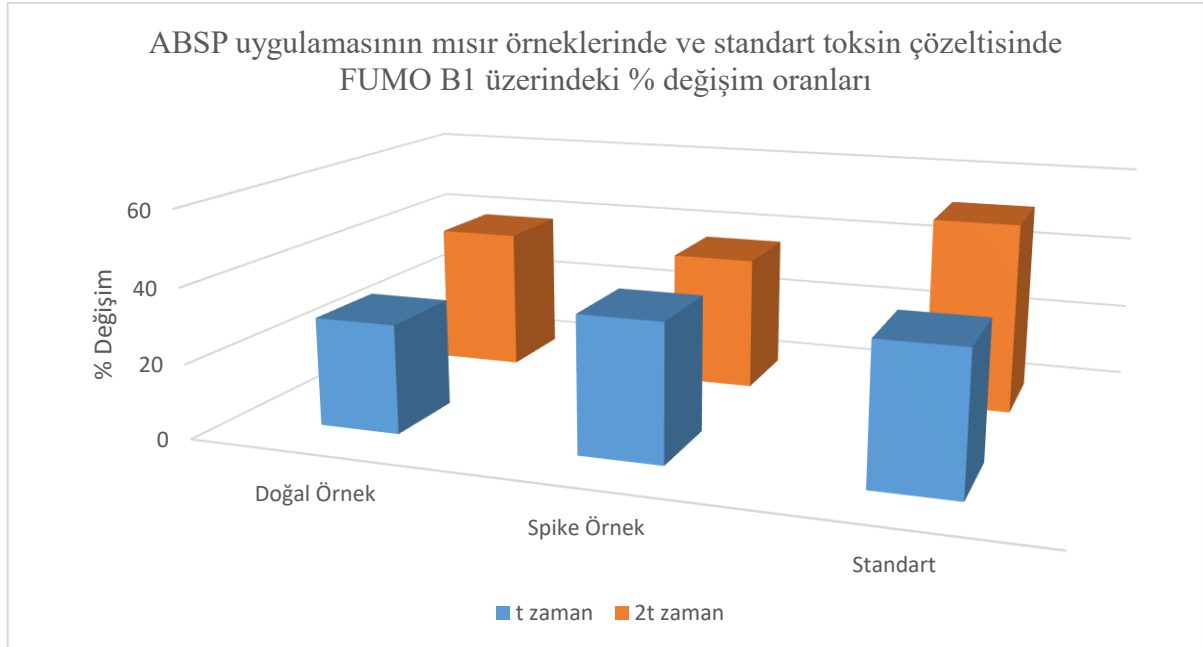
*Doğal ve spike örneklerin kendi arasında olmak kaydıyla aynı satırda yer alan farklı büyük harfler değerler arasındaki farklılığı ifade etmektedir (p<0.05). Aynı sütundaki farklı küçük harfler istatistiksel olarak farklılığı ifade etmektedir (p<0.05). *% FUMO B1, FUMO B2 ve Toplam FUMO karşılaştırması için referans örnek olarak kontrol örneği kullanılmıştır. **Uygulama yapılmadı.*

Çizelge 3.19, ABSP uygulamasının doğal, spike örneklerinde ve standart çözeltide FUMO B1, FUMO B2 ve toplam FUMO seviyeleri üzerindeki etkilerini göstermektedir. ABSP uygulama süresine bağlı olarak toksin seviyelerinde önemli azalmalar gözlenmiştir. Doğal örneklerde, 4 dakikalık ABSP uygulaması sonucunda FUMO B1 seviyesinde %29,1'lik bir azalma gözlenirken, bu oran 8 dakikalık uygulamada %38,6'ya ve 16 dakikalık uygulamada %42,7'ye yükselmiştir. FUMO B2 seviyelerinde ise 4 dakikada %24,9, 8 dakikada %28,0 ve 16 dakikada %35,3 oranında azalma kaydedilmiştir. Toplam Fumonisin seviyelerinde ise 4 dakikada %27,0, 8 dakikada %33,3 ve 16 dakikada %39,0 oranında azalma gözlemlenmiştir. Yapay (spike) örneklerde, FUMO B1 seviyesindeki azalma oranları 4 dakikada %36,4, 8 dakikada yine %36,4 ve 16 dakikada %43,4 olarak ölçülmüştür. FUMO B2 seviyelerinde ise 4 dakikada %22,3, 8 dakikada %27,3 ve 16 dakikada %38,7 oranında azalma tespit edilmiştir. Toplam FUMO seviyelerinde, 4 dakikada %33,4, 8 dakikada %34,5 ve 16 dakikada %42,4 oranında azalma gerçekleşmiştir. Standart örneklerde, 4 dakikalık ABSP uygulaması sonucunda FUMO B1 seviyesinde %36,9 oranında azalma gerçekleşirken, bu oran 8 dakikalık uygulama sonucunda %51,4'e yükselmiştir. FUMO B2 seviyelerinde ise 4 dakikalık uygulamada %36,6, 8 dakikalık uygulamada %51,2 oranında azalma gözlenmiştir. Toplam Fumonisin seviyeleri incelendiğinde, 4 dakikalık ABSP uygulaması %36,8 oranında azalma sağlarken, 8 dakikalık uygulama sonucunda bu oran %51,3'e ulaşmıştır. Bu bulgular, ABSP'nin

standart çözültide FUMO indirgemedi oldukça etkili olduğunu ve uygulama süresinin artışıyla toksin degradasyonunun belirgin şekilde arttığını göstermektedir.

Elde edilen verilere göre, ABSP uygulamasının hem doğal hem de yapay toksin içeren örneklerde Fumonisin seviyelerini azaltmada etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, doğal örneklerdeki toksin azalım oranlarının genellikle yapay örneklerle kıyasla daha düşük olduğu dikkat çekmektedir. Bu durum, gıda matrisinin plazma etkinliği üzerinde sınırlayıcı bir etkisi olabileceğini göstermektedir. ABSP'nin toksin indirgeme kapasitesinin optimize edilmesi, doğal örneklerde de daha yüksek etkinlik sağlanması açısından önemlidir. Standart çözültide elde edilen yüksek etkinlik, plazmanın saf formdaki toksinler üzerindeki etkisinin daha güçlü olduğunu ortaya koymaktadır. Bu durum, standart çözültide toksin detoksifikasyonu için ABSP'nin güvenilir ve hızlı bir yöntem olduğunu desteklemektedir. Bununla birlikte, doğal ve yapay örneklerde de benzer başarı oranları elde edebilmek için uygulama parametrelerinin optimize edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

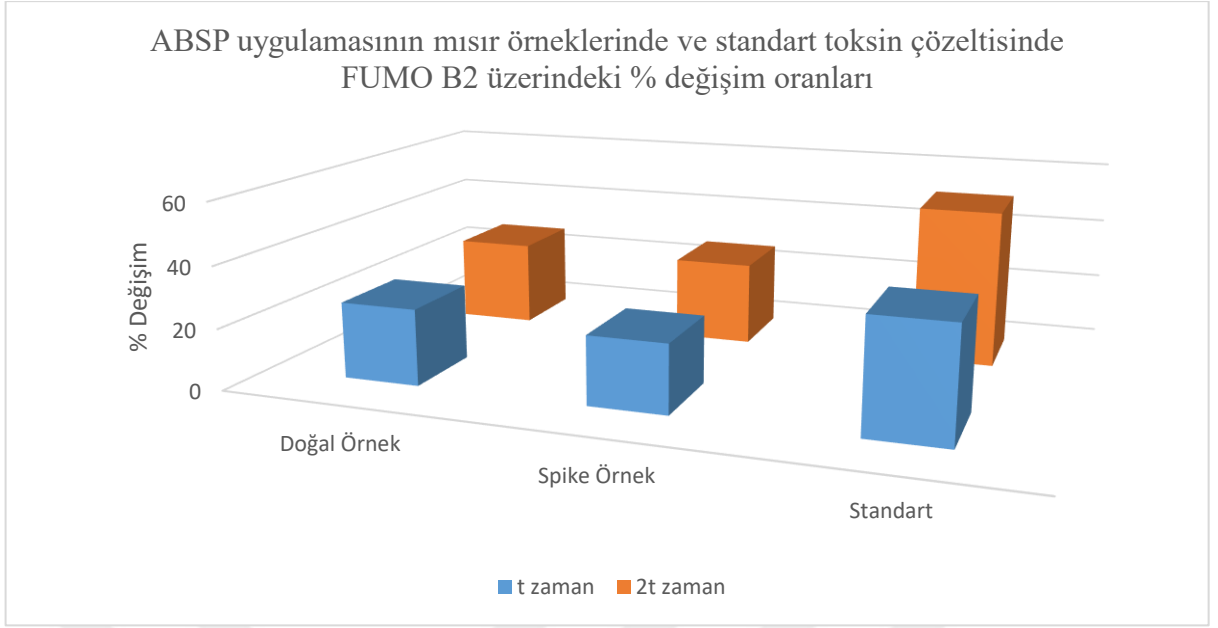
Doğal toksin içeren mısır örneği, spike yapılan mısır örneği ve standart çözültide FUMO B1 örneği üzerine soğuk plazmanın etkisinin karşılaştırılabilmesi amacıyla, soğuk plazmanın 4 ve 8 dakika süreyle uygulanması sonucunda bulunan % değişimler aşağıdaki Şekil 3.25'de gösterilmiştir.



Şekil 3.16. 4 ve 8 dakika soğuk plazma etkisiyle doğal örnek, spike örnek ve standart örneklerdeki FUMO B1 miktarlarının % değişim oranlarının karşılaştırılması

Şekilde görüldüğü üzere, ABSP uygulamasının 4 ve 8 dakikalık etkisiyle doğal, spike ve standart örneklerde FUMO B1 miktarlarının % değişim oranlarını karşılaştırmaktadır. Doğal örneklerde, 4 dakikalık ABSP uygulaması sonrası FUMO B1 seviyelerinde %29,1 oranında azalma gözlenmiştir. Bu oran, uygulama süresi 8 dakikaya çıkarıldığında %38,6'ya yükselmiştir. Bu bulgular, doğal örneklerde uygulama süresine bağlı olarak plazmanın etkinliğinin arttığını göstermektedir. Spike örneklerde ise daha yüksek azalma oranları elde edilmiştir. 4 dakikalık ABSP uygulaması ile %36,4'lük bir azalma kaydedilirken, 8 dakikalık uygulamada bu oran değişmemiştir. Spike örneklerin, doğal örneklerle kıyasla plazma uygulamasına karşı daha yüksek bir duyarlılığa sahip olduğu ancak süreye bağlı olarak sabit bir etkinlik sergilediği gözlemlenmiştir. Standart çözeltiler ise en yüksek etkinlik oranlarını göstermiştir. 4 dakikalık uygulamada %36,9 oranında azalma gözlenirken, 8 dakikalık uygulamada bu oran %51,4'e ulaşmıştır. Standart çözeltilerde elde edilen bu yüksek azalma oranları, plazmanın saf formdaki toksinleri parçalamada daha etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Genel olarak, ABSP uygulamasının etkinliği uygulama süresine bağlı olarak artış göstermekte, standart çözeltilerde en yüksek etkinlik oranları kaydedilmekte ve doğal örneklerdeki etkinlik gıda matrisinin etkisiyle sınırlanmaktadır. Bu durum, plazma uygulamasının optimize edilerek farklı örnek türlerinde benzer etkinlik elde edilmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

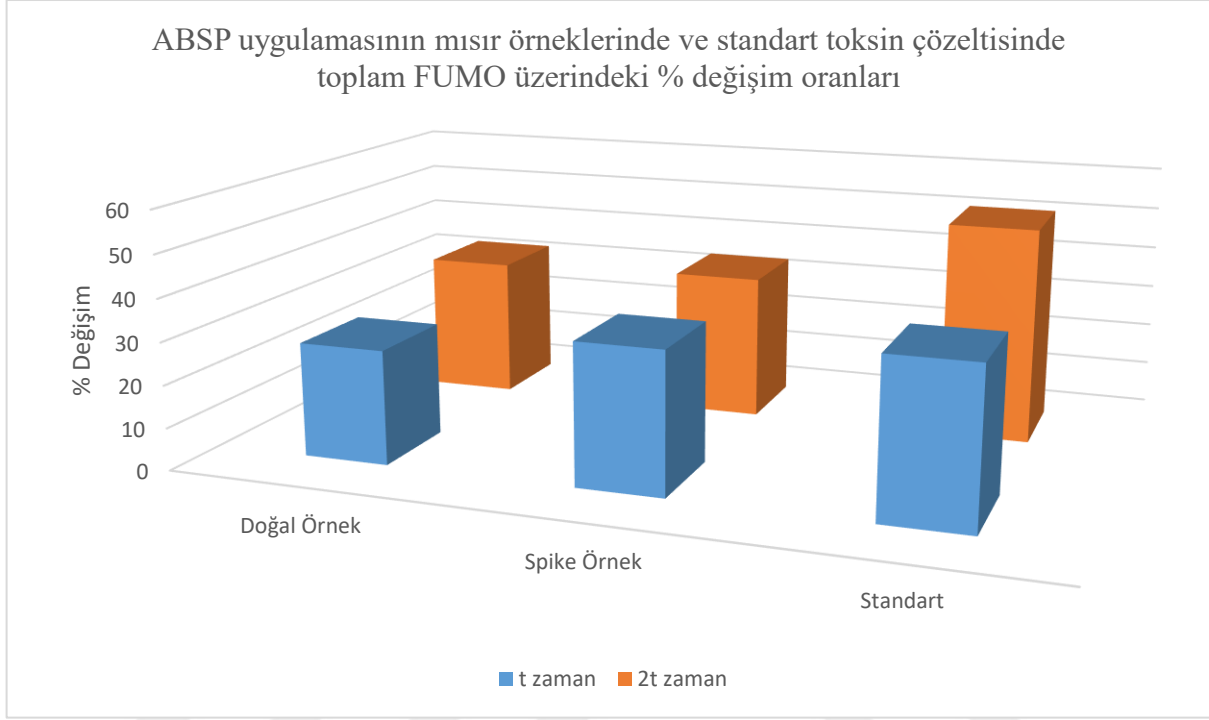
Doğal toksin içeren mısır örneği, spike yapılan mısır örneği ve standart çözeltide FUMO B2 örneği üzerine soğuk plazmanın etkisinin karşılaştırılabilmesi amacıyla, soğuk plazmanın 4 ve 8 dakika süreyle uygulanması sonucunda bulunan % değişimler aşağıdaki Şekil 3.26'da gösterilmiştir.



Şekil 3.17. 4 ve 8 dakika soğuk plazma etkisiyle doğal örnek, spike örnek ve standart örneklerdeki FUMO B2 miktarlarının % değişim oranlarının karşılaştırılması

Şekilde görüldüğü üzere, ABSP uygulamasının 4 ve 8 dakikalık etkisiyle doğal, spike ve standart örneklerdeki FUMO B2 miktarlarının % değişim oranlarını karşılaştırmaktadır. Doğal örneklerde, 4 dakikalık plazma uygulaması sonucunda FUMO B2 miktarının %24,9 oranında azaldığı gözlemlenmiştir. Bu oran, 8 dakikalık uygulamada %35,3'e yükselmiştir. Bu bulgular, doğal örneklerde uygulama süresi arttıkça plazma etkinliğinin arttığını ortaya koymaktadır. Spike örneklerde ise benzer bir trend gözlenmiştir. 4 dakikalık uygulama sonrası FUMO B2 seviyesinde %22,3 oranında bir azalma kaydedilmiş, bu oran 8 dakikalık uygulama sonucunda %38,7'ye yükselmiştir. Spike örnekler, doğal örneklere kıyasla daha yüksek azalma oranları göstermiştir ve bu durum plazma uygulamasına karşı daha yüksek bir duyarlılığı işaret etmektedir. Standart çözeltilerde ise plazma uygulamasının etkinliği çok daha belirgin olmuştur. 4 dakikalık uygulamada FUMO B2 seviyesinde %36,6 oranında bir azalma gözlenirken, 8 dakikalık uygulama sonunda bu oran %51,2'ye çıkmıştır. Standart çözeltilerdeki yüksek azalma oranları, plazmanın saf toksinleri etkili bir şekilde parçalayabildiğini göstermektedir. Genel olarak, ABSP uygulamasının etkisinin uygulama süresine bağlı olarak arttığı ve en yüksek etkinliğin standart çözeltilerde elde edildiği görülmektedir. Doğal ve spike örneklerdeki azalma oranlarının daha düşük olması, gıda matrisinin plazma etkinliği üzerinde sınırlayıcı bir faktör olabileceğini göstermektedir. Bu bulgular, plazma uygulama parametrelerinin optimize edilmesi gerektiğini ve standart çözeltilerin toksin detoksifikasyonunda daha etkili sonuçlar sunduğunu vurgulamaktadır.

Doğal toksin içeren mısır örneği, spike yapılan mısır örneği ve standart çözeltide Toplam FUMO örneği üzerine soğuk plazmanın etkisinin karşılaştırılabilmesi amacıyla, soğuk plazmanın 4 ve 8 dakika süreyle uygulanması sonucunda bulunan % değişimler aşağıdaki Şekil 3.18’de gösterilmiştir.



Şekil 3.18 4 ve 8 dakikalık ABSP uygulamasının doğal, spike ve standart örneklerdeki Toplam FUMO miktarlarının % değişim oranlarını karşılaştırmaktadır.

Şekilde görüldüğü üzere, doğal örneklerde, 4 dakikalık plazma uygulaması sonucunda Toplam FUMO miktarının %27,0 oranında azaldığı gözlemlenmiştir. Bu oran, 8 dakikalık uygulamada %33,3’e yükselmiştir. Spike örneklerde, benzer bir trend izlenmiş ve 4 dakikalık uygulama sonunda %33,4’lük bir azalma kaydedilmiş, bu oran 8 dakikalık uygulamada %34,5 olarak hesaplanmıştır. Standart çözeltilerde ise plazma uygulamasının etkisi çok daha belirgin olmuştur. 4 dakikalık uygulamada Toplam FUMO miktarında %36,8’lik bir azalma gözlenirken, bu oran 8 dakikalık uygulamada %51,3’e ulaşmıştır. Standart çözeltilerin plazma uygulamasına karşı gösterdiği yüksek azalma oranları, plazmanın saf toksinleri parçalama yeteneğinin etkinliğini ortaya koymaktadır. Genel olarak, ABSP uygulamasının etkisinin uygulama süresi ile arttığı ve en yüksek toksin azaltımının standart çözeltilerde elde edildiği görülmüştür. Doğal ve spike örneklerdeki daha düşük azalma oranları, gıda matrisinin plazma etkinliğini sınırlayan bir faktör olabileceğini göstermektedir. Bu bulgular, ABSP

uygulamalarının optimize edilmesi gerektiğini ve standart çözeltilerde toksin detoksifikasyonunda başarılı sonuçlar sunduğunu vurgulamaktadır.

Elde edilen veriler, ABSP uygulamalarının FUMO B1 ve FUMO B2 toksinlerinin indirgenmesinde etkili olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda, standart toksin çözeltilerinde daha yüksek bozunma oranları gözlemlenirken, doğal ve yapay toksin içeren örneklerde daha düşük oranlarda toksin indirgeme sağlanmıştır. Bu durum, literatürdeki çeşitli çalışmalarla karşılaştırıldığında plazma ortamındaki reaktif türlerin gıda matrisiyle etkileşimi sonucu etkinliğinin değişebileceğini göstermektedir.

Wielogorska ve arkadaşları [70], ABSP ile mısırdaki FUMO B1 konsantrasyonunun %66 oranında azaldığını rapor etmiştir. Çalışmamızda 16 dakikalık ABSP uygulaması sonucunda FUMO B1’de %42,7 ve FUMO B2’de %35,3 azalma sağlanmıştır. Ten Bosch ve arkadaşları [205], DBD plazma kullanarak kuru koşullarda FUMO B1’i 60 saniye içinde tamamen bozundurmıştır. Bu, DBD plazmanın FUMO üzerinde oldukça etkili olduğunu ve daha kısa sürede yüksek bozunma sağladığını göstermektedir. Ouf ve arkadaşları [238] tarafından yapılan çalışmada, çift jet argon plazma işlemiyle FUMO B2’nin tamamen bozunduğu rapor edilmiştir. Bu sonuç, argon gazı destekli plazma sistemlerinin fumonisin bozunmasını artırabileceğini göstermektedir. Oksijen destekli soğuk plazma uygulamalarının FUMO B1 üzerinde %68 oranında parçalanma sağladığı belirlenmiştir [251]. Oksijen, plazma reaktif türleri (ROS) oluşturma kapasitesini artırarak toksin bozunmasını hızlandırabilmektedir. Bu veriler değerlendirildiğinde, plazma gaz bileşimi ve reaktif türlerin fumonisin bozunma sürecinde kritik bir rol oynadığı görülmektedir. DBD plazma ve argon destekli plazmalar, kısa sürede daha yüksek bozunma oranları sağlayabilirken, oksijen destekli plazmalar da reaktif türlerin oluşumunu artırarak fumonisinleri parçalamada etkili olmuştur.

Çalışmamızda, standart toksin çözeltilerinde %51,3 gibi yüksek oranlarda fumonisin indirgeme sağlanırken, doğal ve yapay toksin içeren örneklerde daha düşük oranlar gözlemlenmiştir. Bu durum, literatürde de vurgulandığı gibi gıda matrisinin plazma etkinliği üzerinde önemli bir sınırlayıcı faktör olduğunu göstermektedir. Feizollahi ve arkadaşları [236], plazma içindeki reaktif türlerin gıda bileşenleri tarafından nötralize edilerek etkinliğinin sınırlandığını rapor etmiştir. Standart çözeltilerde toksinlerin saf formda bulunması nedeniyle reaktif türlerle daha hızlı ve doğrudan etkileşime girdiği, bu nedenle daha yüksek bozunma oranlarının elde edildiği belirlenmiştir. Doğal ve yapay örneklerde ise, proteinler, lipitler ve diğer kompleks organik bileşikler reaktif türlerle etkileşime girerek plazmanın toksinler

üzerindeki bozunma etkinliğini düşürmektedir. Bu bağlamda, ABSP'nin gıda matrisine bağlı olarak değişen etkinliği göz önüne alındığında, uygulama parametrelerinin optimize edilmesi gerekmektedir.

Plazma uygulamalarında reaktif türlerin (ROS ve RNS) oluşumu, voltaj seviyesi, işlem süresi ve plazma gaz bileşimi gibi çeşitli faktörler fumonisin indirgeme oranlarını doğrudan etkilemektedir. DBD plazma ve mikro dalga destekli plazmalar, kısa sürede (60 saniye – 5 dakika) yüksek bozunma sağlayabilmektedir. Argon ve oksijen destekli plazmalar, iyonlaştırma kapasitesini artırarak fumonisinlerin daha hızlı parçalanmasını sağlamaktadır. Yüksek voltajlı atmosferik plazmalar (HVACP), daha uzun işlem sürelerinde (%80-90 bozunma) daha etkili sonuçlar elde edilebileceğini göstermektedir [236].

Bu parametreler göz önüne alındığında, çalışmamızda doğal ve yapay örneklerde gözlenen daha düşük fumonisin indirgeme oranlarının, reaktif türlerin gıda bileşenleri ile nötralize olması ve plazma penetrasyonunun sınırlı olmasıyla ilişkilendirilebileceği düşünülmektedir.

3.3.7. Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları

ABSP uygulamasının mısır örneklerinde rutubet, yağ içeriği, serbest yağ asitliği (SYA), peroksit sayısı (PS), protein, selüloz ve kül üzerindeki etkilerini Çizelge 3.20'de göstermektedir.

Çizelge 3.20. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde rutubet, yağ miktarı, serbest yağ asitliği, peroksit sayısı, protein, selüloz, kül üzerine etkisi

Analiz	Örnek		
	Kontrol	8 dakika ABSP	16 dakika ABSP
Rutubet (%)	11,76±0,18 ^c	29,73±0,12 ^b	30,02±0,17 ^a
Yağ (%)	3,50±0,12 ^a	3,51±0,14 ^a	3,48±0,15 ^a
SYA (%)	2,03±0,12 ^b	2,08±0,15 ^b	2,22±0,17 ^a
PS (mEq O₂/kg)	9,01±0,16 ^a	9,11±0,14 ^a	9,16±0,17 ^a
Protein (%)	7,90±0,17 ^a	7,96±0,18 ^a	7,93±0,16 ^a
Selüloz (%)	1,70±0,15 ^a	1,70±0,16 ^a	1,70±0,13 ^a
Kül (%)	1,27±0,12 ^a	1,26±0,14 ^a	1,27±0,13 ^a

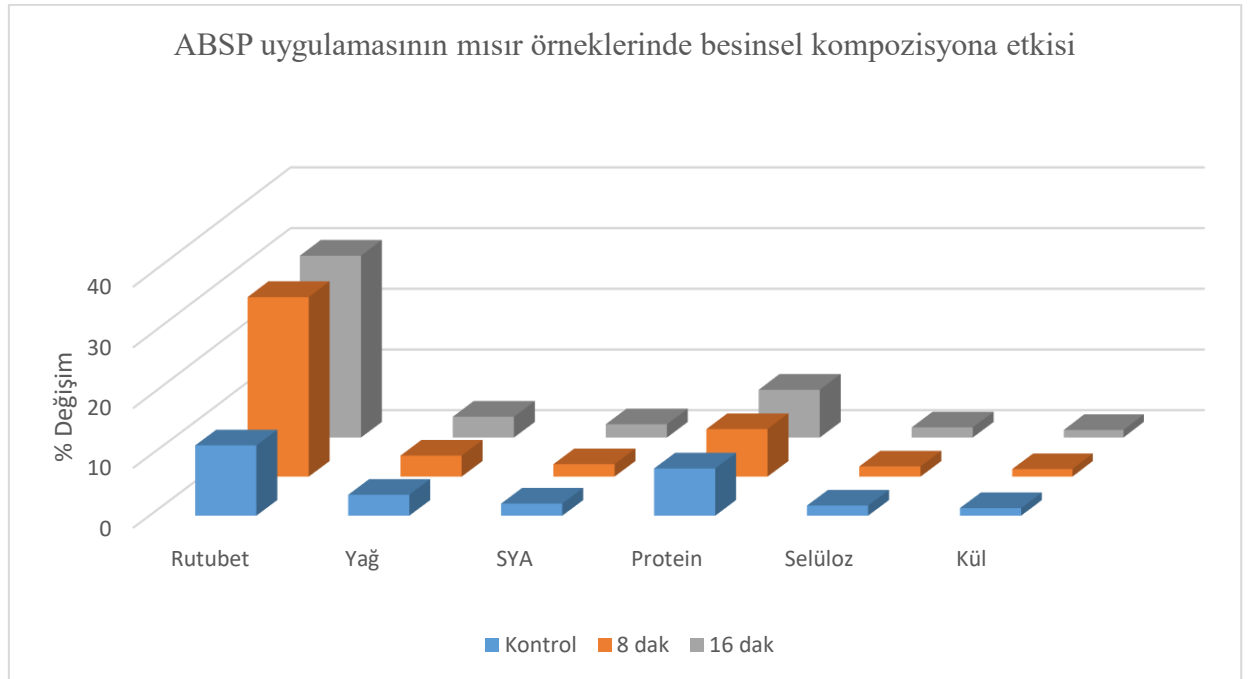
Aynı satırda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p<0.05$). SYA: serbest yağ asitliği, PS: peroksit sayısı

Elde edilen sonuçlara göre, kontrol örneğinde rutubet oranı %11,76 olarak ölçülmüş, ancak ABSP uygulamasında sırasında, hava akımının etkisiyle öğütülmüş mısır parçacıklarının çevreye dağılmasını ve tozların uçmasını engellemek için örnek yüzeyine ultra saf su püskürtülerek plazma uygulaması gerçekleştirilmesinden dolayı bu oran önemli ölçüde artmıştır. 8 dakikalık uygulamada %29,73'e, 16 dakikalık uygulamada ise %30,02'ye yükselmiştir. Plazma uygulaması sırasında, hava akımının etkisiyle öğütülmüş mısır parçacıklarının çevreye dağılmasını ve tozların uçmasını engellemek için örnek yüzeyine ultra saf su püskürtülerek plazma uygulaması gerçekleştirilmiştir. TS 3415:2018 mısır standardına göre rutubet en çok %14,0 olmalıdır. Çalışma kapsamında kullanılan örnek başlangıç rutubet içeriği bakımından mısır standardına uygundur, ancak plazma uygulama işlem basamaklarında rutubet artışı olmuştur. Yağ içeriğinde ABSP uygulamasıyla birlikte önemli bir değişim gözlenmemiştir. Kontrol örneğinde %3,50 olarak ölçülen yağ miktarı, 8 dakikalık uygulamada %3,51'e, 16 dakikalık uygulamada ise %3,48'e gerilemiştir. Bu durum, ABSP'nin yağ içeriği üzerinde minimal etkisi olduğunu göstermektedir. Kontrol grubunda %2,03 olarak ölçülen SYA değeri, 8 dakikalık uygulamada %2,08'e, 16 dakikalık uygulamada ise %2,22'ye yükselmiştir. Artışlar sınırlı olmasına rağmen, uygulama süresine bağlı olarak serbest yağ asitliğinde bir artış eğilimi gözlemlenmiştir. Kontrol örneğinde 9,01 mEq O₂/kg olarak ölçülen PS değeri, 8 dakikalık uygulamada 9,11 mEq O₂/kg, 16 dakikalık uygulamada ise 9,16 mEq O₂/kg olarak

kaydedilmiştir. Değerlerdeki artış minimal olup, yağ oksidasyonu açısından önemli bir değişiklik yaratmamıştır. Protein, selüloz ve kül içeriklerinde ABSP uygulaması sonrası herhangi bir anlamlı değişiklik gözlenmemiştir. Bu durum, ABSP'nin bu parametreler üzerinde etkisiz olduğunu ve besin değerini koruduğunu göstermektedir.

ABSP uygulaması, mısır örneklerinde rutubeti artırırken, yağ, protein, selüloz ve kül içeriklerinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Serbest yağ asitliği ve peroksit sayısındaki minimal artışlar, ABSP'nin yağ kalitesine sınırlı bir etkisi olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, ABSP'nin toksin azaltımı sırasında ürünün besin değerini büyük ölçüde koruduğunu ve güvenilir bir detoksifikasyon yöntemi olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

Kontrol örneğinde bulunan sonuçlar ile 8 ve 16 dakika soğuk plazma uygulanmış mısır örnekleri karşılaştırıldığında rutubet, yağ, serbest yağ asitliği, peroksit sayısı, protein, selüloz ve kül analizlerinde varyansların homojen dağıldığı görülmüştür ($p>0,05$). Rutubet analizlerine ait sonuçlarda gruplar arasında farklar bulunmuştur ($p<0,05$). Rutubet analizlerinde kontrol ile 8 ve 16 dakika arasında fark bulunmuştur. Serbest yağ asitliği analizinde kontrol ve 8 dakika uygulama sonuçları arasında önemli fark bulunmamış ($p>0,05$) ancak 16 dakikada anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$) (Şekil 3.19).



Şekil 3.19. ABSP uygulamasının mısırdaki besinsel kompozisyona etkisinin % değişim oranlarının karşılaştırılması

ABSP uygulaması, mısırın besinsel kompozisyonunda büyük değişikliklere yol açmamıştır. En büyük etki uygulamaya bağlı olarak rutubet artışı üzerinde görülürken, diğer parametreler (yağ, protein, selüloz ve kül) büyük ölçüde sabit kalmıştır. Serbest yağ asitliğinde kısmi bir artış gözlenmiştir. Bu sonuçlar, ABSP'nin mısır örneklerinde toksin indirgeme işlemi sırasında besin değerini büyük ölçüde koruduğunu ve güvenilir bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Çizelge 3.21. ABSP uygulamasının mısır örneklerinde mineral analizleri (Cr, Hg, Pb, As, Mg, Fe, Cu, Zn, Cd, Sn, Na, P, K, Ca) üzerine etkisi

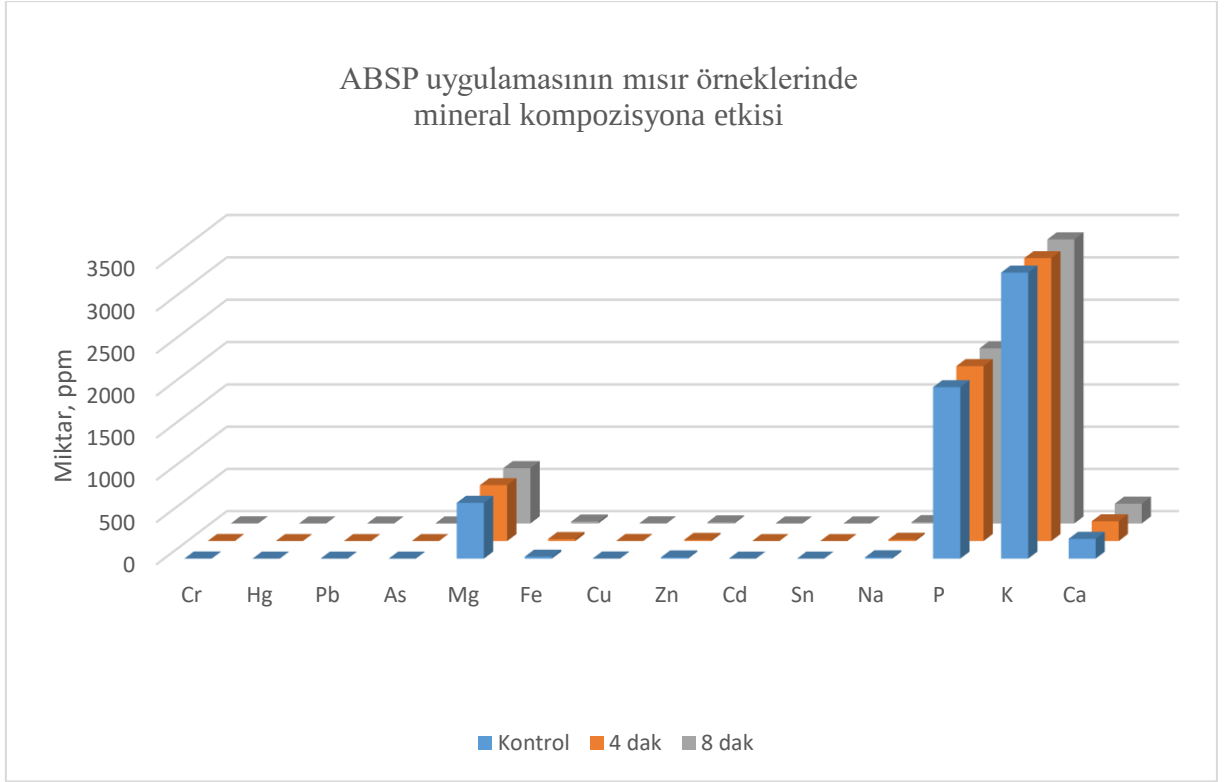
Uygulama Süresi			
Mineral	Kontrol	4 dakika	8 dakika
Cr, ppm	1,24±0,02 ^a	1,27±0,03 ^a	1,26±0,03 ^a
Hg, ppm	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Pb, ppm	<LOQ	<LOQ	<LOQ
As, ppm	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Mg, ppm	661,42±4,69 ^a	662,45±1,02 ^a	654,71±3,15 ^a
Fe, ppm	23,50±0,33 ^a	23,53±0,13 ^a	22,48±1,16 ^a
Cu, ppm	1,56±0,28 ^a	1,45±0,12 ^a	1,38±0,07 ^a
Zn, ppm	14,34±0,37 ^a	13,16±0,13 ^a	13,44±0,97 ^a
Cd, ppm	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Sn, ppm	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Na, ppm	15,65±0,27 ^a	15,85±0,25 ^a	15,50±0,24 ^a
P, ppm	2030,47±25,54 ^a	2071,14±14,68 ^a	2072,08±12,66 ^a
K, ppm	3382,81±13,79 ^a	3344,75±21,26 ^a	3357,55±28,20 ^a
Ca, ppm	235,02±0,39 ^a	234,28±1,29 ^a	234,42±3,12 ^a

Aynı satırda farklı harf taşıyan grupların ortalama değerleri birbirinden farklıdır ($p < 0.05$)

ABSP uygulamasının mısır örneklerindeki mineral içerikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Çizelge 3.21'deki sonuçlara göre, kontrol grubundaki Cr miktarı 1,24 ppm olarak

ölçülmüştür ve ABSP uygulamasının ardından bu değer 4 dakikalık uygulamada 1,27 ppm'e, 8 dakikalık uygulamada ise 1,26 ppm'e yükselmiştir. Ancak bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildir. Hg, Pb, As tüm uygulamalarda bu minerallerin miktarı ölçüm sınırının altında (<LOQ) kalmıştır, yani ABSP'nin bu mineraller üzerinde gözlemlenebilir bir etkisi olmamıştır. Kontrol grubundaki Mg seviyesi 661,42 ppm olarak ölçülmüş, 4 dakikalık uygulamada 662,45 ppm'e çıkmış, 8 dakikalık uygulamada ise 654,71 ppm'e düşmüştür. Ancak bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Kontrol grubundaki Fe miktarı 23,50 ppm olup ABSP uygulamasıyla 4 dakikada 23,53 ppm ve 8 dakikada 22,48 ppm olarak ölçülmüştür. Fe seviyesindeki bu değişimlerin de istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Kontrol grubunda 1,56 ppm olarak ölçülen Cu seviyesi, ABSP uygulamalarında 4 dakikada 1,45 ppm ve 8 dakikada 1,38 ppm olarak ölçülmüştür. Ancak bu değişimler de anlamlı değildir. Kontrol grubundaki Zn seviyesi 14,34 ppm olup, ABSP uygulamalarıyla 4 dakikada 13,16 ppm'e, 8 dakikada ise 13,44 ppm'e düşmüştür. Ancak bu değişimler anlamlı bir azalma göstermemektedir. Cd, Sn (Kadmiyum, Kalay), bu minerallerin miktarı tüm uygulamalarda ölçüm sınırının altında (<LOQ) kalmıştır. Kontrol grubundaki Na seviyesi 15,65 ppm olarak ölçülmüş ve 4 dakikada 15,85 ppm, 8 dakikada ise 15,50 ppm olarak kaydedilmiştir. Ancak bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildir. Kontrol grubundaki P miktarı 2030,47 ppm olup, 4 dakikada 2071,14 ppm ve 8 dakikada 2072,08 ppm olarak ölçülmüştür. Bu değişimler de anlamlı değildir. Kontrol grubunda 3382,81 ppm olarak ölçülen K seviyesi, 4 dakikada 3344,75 ppm ve 8 dakikada 3357,55 ppm olmuştur. Bu değişimler de anlamlı değildir. Kontrol grubundaki Ca seviyesi 235,02 ppm olup, 4 dakikalık uygulamada 234,28 ppm, 8 dakikalık uygulamada ise 234,42 ppm olarak ölçülmüştür. Ancak bu değişimler de istatistiksel olarak anlamlı değildir.

ABSP uygulamaları, mısır örneklerindeki mineral içeriği üzerinde genel olarak belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı bir etki yaratmamıştır. Çoğu mineralde gözlemlenen değişimler ölçüm sınırları dahilinde kalmıştır ve bu durum, ABSP'nin mineral bileşenler üzerinde herhangi bir bozucu veya artırıcı etki yaratmadığını göstermektedir. Bu bulgular, ABSP'nin gıda ürünlerinin mineral yapısını koruyarak detoksifikasyon sağlamada güvenilir bir yöntem olduğunu desteklemektedir.



Şekil 3.20. ABSP uygulamasının mısırdaki mineral kompozisyona etkisinin karşılaştırılması

Şekil 3.20, ABSP uygulamasının mısır örneklerindeki mineral kompozisyon üzerindeki etkisini göstermektedir. İncelenen mineraller arasında Cr, Hg, Pb, As, Mg, Fe, Cu, Zn, Cd, Sn, Na, P, K ve Ca bulunmaktadır. Grafik, kontrol, 4 dakikalık ve 8 dakikalık ABSP uygulamalarının her bir mineralin seviyeleri üzerindeki etkilerini karşılaştırmaktadır. Şekil 3.20'de gösterilen sonuçlar, ABSP uygulamasının mısır örneklerindeki mineral kompozisyon üzerinde belirgin bir etkisi olmadığını ortaya koymaktadır. Çoğu mineral seviyesinde uygulama süresi boyunca istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($0,05 < p$). Bu bulgular, ABSP'nin gıdaların mineral kompozisyonunu bozmadığını ve bu yöntemin toksin detoksifikasyonu sağlarken mineral içeriğini koruyabildiğini göstermektedir. Bu durum, ABSP'nin gıda güvenliği açısından önemli bir avantaj sunduğunu ortaya koymaktadır.

Genel olarak, ABSP'nin mısır, pirinç, arpa, buğday, yer fıstığı ve un gibi çeşitli gıdalarda mikotoksinleri başarıyla azaltabildiği veya yok edebildiği belirtilmiştir. Literatürde yer alan çalışmalar, ABSP'nin bu etkilerini gerçekleştirirken gıdanın besinsel ve duyuşal özelliklerini büyük ölçüde koruduğunu vurgulamaktadır. Örneğin, Ten Bosch ve arkadaşları [205] DBD plazmanın mikotoksinleri kısa sürelerde tamamen bozundurabileceğini göstermiştir. Benzer şekilde, Jian ve arkadaşlarının [237] çalışmaları, soğuk plazmanın antifungal aktiviteyi artırırken gıda kalitesine minimum etkisi olduğunu ortaya koymuştur.

ABSP teknolojisi, tahıllarda mikotoksinlerin azaltılması ve ürün kalitesinin korunmasında etkili bir yöntem olarak umut vaat etmektedir. Bu teknoloji, AFB₁, DON, ZON ve OTA gibi yaygın mikotoksinlerin kimyasal yapısını bozarak toksisitesini azaltmıştır. Araştırmalar, kısa süreli uygulamalarda %80-90'a varan mikotoksin azaltım oranları sağlandığını göstermektedir. Ayrıca, plazmanın düşük sıcaklıkta çalışması sayesinde tahılların protein, nişasta ve mineral içeriği gibi besin değerleri korunurken, duyu özellikler (tat, koku, renk ve doku) üzerinde belirgin bir olumsuz etki gözlenmemiştir [247].

ABSP işlemi, mısırın mineral içeriği (örneğin, çinko, demir, magnezyum ve kalsiyum) üzerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Besin ve mineral içerikleri üzerinde minimal değişiklikler yapması ve ürün kalitesini koruması, bu teknolojiyi mısır işleme süreçlerinde umut verici bir seçenek haline getirmektedir. Ancak, toksin indirgeme oranlarını artırmak ve işlem koşullarını optimize etmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır [236].

Literatürde pirinç üzerine yapılan çalışmalar, ABSP'nin nişasta ve amiloz içeriği üzerinde sınırlı bir etki yarattığını belirtmiştir. Jian ve arkadaşları [237] soğuk plazmanın pirinç proteini üzerinde ihmal edilebilir bir etkiye sahip olduğunu ancak prolamin içeriğini etkilediğini rapor etmiştir. Ayrıca, pirinçte SYA bileşenlerinin çeşitliliğinde artış gözlenmiş ancak toplam içerikte belirgin bir değişim olmamıştır. Bu bulgular, soğuk plazmanın gıda matrisinin morfolojisi ve bileşimindeki spesifik özelliklere bağlı olarak farklı etki mekanizmalarına sahip olduğunu göstermektedir.

Mohammad ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada [236], ABSP işleminin, mısırın yüzeyinde hafif değişikliklere yol açtığı tespit edilmiştir. Yüzeydeki mikrobiyal kontaminasyonun ve toksinlerin temizlenmesi amacıyla yapılan uygulamada mısırın fiziksel özellikleri büyük ölçüde korunmuştur. Rutubet oranında hafif artış gözlenmiş, ancak bu durumun gıdanın genel kalitesini olumsuz etkilemediği belirtilmiştir. Protein, yağ, selüloz ve kül gibi besin içeriklerinde de plazma uygulaması sonrası belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir [236]. ABSP uygulamasının mısırın besinsel içerikleri üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığı, ancak fiziksel özelliklerinde (renk ve doku gibi) hafif değişikliklere yol açtığı gözlemlenmiştir. Bu teknolojinin daha geniş ölçekli uygulamalar için optimize edilmesi gerektiği vurgulanmıştır [242].

Çalışma kapsamında elde edilen veriler, literatürdeki çalışmalarla büyük ölçüde uyum göstermektedir. ABSP uygulamalarının mineral içeriği üzerindeki etkileri incelendiğinde, Hg,

Pb ve As gibi ağır metallerin ölçüm sınırının altında kaldığı ve Cr, Mg, Fe, Cu, Zn, Na, P, K ve Ca gibi minerallerde istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler gözlenmediği belirlenmiştir. Benzer şekilde, literatürdeki çalışmalar da ABSP'nin mısır, pirinç, arpa, buğday ve diğer tahıllarda mikotoksin indirgeme sürecinde besin içerikleri üzerinde minimal değişiklik yaptığını göstermektedir. Özellikle Ten Bosch ve arkadaşlarının [205] çalışmaları, DBD plazmanın mikotoksinleri kısa sürede tamamen bozundurduğunu, Jian ve arkadaşlarının [237] araştırmaları ise soğuk plazmanın antifungal etkisini artırırken gıda kalitesine minimum düzeyde etki ettiğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, Şen'in [232] fındık üzerinde yaptığı çalışmalarda serbest yağ asitliği ve peroksit sayısında artış görülmüş, ancak bu değişimlerin yüzeyde meydana gelen sıcaklık değişikliklerinden kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Mevcut çalışmada rutubet, yağ, protein ve kül içeriklerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiş, ABSP uygulamalarının mısır örneklerinin besin değerlerini koruyarak mikotoksinleri başarılı bir şekilde azaltabildiği belirlenmiştir. Genel olarak, ABSP'nin mikotoksin detoksifikasyonu sağlarken besinsel değerleri koruduğu ve gıda güvenliği açısından önemli bir avantaj sunduğu teyit edilmiştir. Bununla birlikte, plazmanın etkinliğinin gıda matrisi, uygulama süresi ve işlem parametrelerine bağlı olarak değişebileceği görülmektedir. Bu nedenle, ABSP'nin farklı gıda türlerinde optimize edilmiş koşullarda uygulanması, bu teknolojinin güvenilir ve etkili bir yöntem olarak kullanımını daha da yaygınlaştırabilir.

Standart çözeltilerde daha yüksek etkinlik sağlanırken, doğal ve yapay toksin içeren örneklerde etkinlik sınırlı kalmıştır. Bu durum, plazma reaktif türlerinin (ROS ve RNS) gıda bileşenleriyle etkileşime girerek toksin bozunmasını yavaşlatmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, plazma uygulama parametrelerinin (işlem süresi, güç seviyesi, gaz bileşimi ve voltaj) optimize edilmesi gerekmektedir.

3.4. Mikotoksinler Üzerine ABSP Etkilerinin Karşılaştırılması

ABSP uygulamasının çeşitli toksinler (Aflatoksinler, Okratoksin A, Zearalenon, Deoksinivalenol, Fumonisin B1 ve B2) üzerindeki etkisini doğal toksin içeren örneklerde, toksin spike yapılan örneklerde ve toksin standart çözeltilerinde değerlendirmektedir (EK-6).

Toksin azaltımı süresi ve etkinliği: ABSP uygulaması süresi arttıkça toksin azaltım oranlarında genel olarak bir artış gözlemlenmiştir. En yüksek azaltım oranları toksin standart çözeltilerinde elde edilmiştir, bu da ABSP'nin toksinlerin matristeki karmaşıklığı arttıkça

etkinliğinin azaldığını göstermektedir. Toksin spike yapılan örnekler, doğal toksin içeren örneklerle kıyasla daha yüksek oranda toksin azalması göstermiştir.

Toksin türüne göre değişim: Aflatoksinler için en yüksek azaltım oranları toksin spike yapılan örneklerde ve standart çözeltilerde 16 dakikalık uygulamada elde edilmiştir. Okratoksin A ve Zearalenon toksinlerinde de önemli oranlarda toksin azaltımı gözlenmiştir. Okratoksin A için doğal örneklerde %52, toksin spike örneklerde %40,30'a kadar azalma elde edilmiştir. Fumonisin B1 ve B2 üzerinde de etkili bir toksin azaltımı gözlenmiştir, ancak oranlar diğer toksinlere kıyasla daha düşük seviyelerde kalmıştır.

Standart çözelti vs. gıda matrisi: Standart toksin çözeltilerinde toksin azaltım oranlarının diğer matrislere göre daha yüksek olması, ABSP'nin toksin yapısına etkili olduğunu ancak gıda matrisinin toksin azaltımı üzerinde sınırlayıcı bir etkisi olabileceğini göstermektedir. Örneğin, Zearalenon için standart çözeltide 8 dakikalık uygulamada %74,30 toksin azaltımı görülürken, doğal toksin içeren örneklerde 16 dakikalık uygulama sonucu %43,10 oranında bir azalma gerçekleşmiştir.

Potansiyel uygulama alanları: ABSP, özellikle toksinlerin matrise bağlı olduğu durumlarda bile anlamlı azaltımlar sağlamaktadır, bu da gıda güvenliği alanında kullanım potansiyelini artırmaktadır. Daha yüksek süreler ve optimize edilmiş plazma parametreleri ile matristeki toksinlerin azaltım oranlarının daha da artırılabilirliği düşünülmektedir.

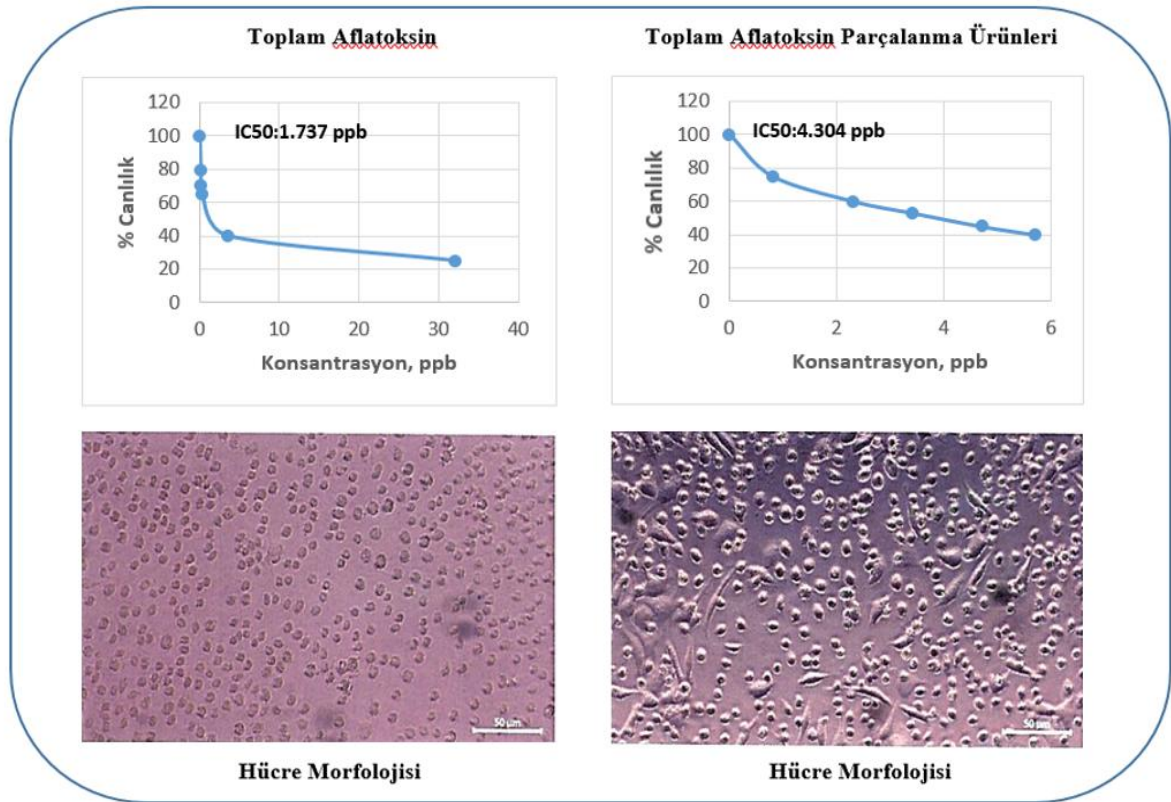
Sonuç olarak, ABSP, mikotoksinlerin kimyasal yapısını bozarak toksisitesini azaltmada etkili bir yöntemdir. Ancak toksin türü, uygulama süresi ve örnek türü (doğal, spike veya standart çözelti) toksin azaltım etkinliğini önemli ölçüde etkilemektedir. Gıda güvenliği açısından, bu teknoloji umut vaat eden bir detoksifikasyon yöntemi olarak değerlendirilmelidir. Optimizasyon çalışmalarıyla etkinlik daha da artırılabilir.

3.5. Mikotoksin Sitotoksisite Testi (MTT)

Sitotoksisite testi, ABSP uygulanan Toplam Aflatoksin, Deoksinivalenol, Fumonisin (B1+B2), Okratoksin A ve Zearalenon'un L-929 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

3.5.1. Toplam Aflatoksin (TopAF) Sitotoksikite Testi Sonuçları

Hücreler uygun besiyerinde kültüre edilmiş ve Toplam Aflatoksine maruz bırakılmıştır. Toplam Aflatoksinin hücreler üzerindeki inhibitör etkisi, MTT sitotoksikite testi kullanılarak 24 saatlik bir inkübasyon süresi sonunda belirlenmiştir. Ayrıca, Toplam Aflatoksin standart çözeltisine soğuk plazma uygulaması yapılmış olup, uygulama sonrası çözelti hücrelere uygulanmıştır. Soğuk plazma uygulaması Toplam Aflatoksinin kimyasal yapısını değiştirdiği öngörülerek bu modifikasyonların hücre üzerindeki inhibitör etkileri de belirlenmiştir (Şekil 3.21).



Şekil 3.21. TopAF standardının ve soğuk plazma uygulanmış TopAF standart çözeltisinin L-929 hücrelerinde 24 saat inkübasyon sonucu sitotoksik etkisi.

Şekil 3.21, TopAF standardının ve soğuk plazma uygulaması sonrası oluşan parçalanma ürünlerinin L-929 hücrelerinde 24 saat inkübasyon sonucunda sitotoksik etkilerini göstermektedir. Grafiklerde IC50 değerleri (yarı maksimum inhibitör konsantrasyon) belirtilmiştir. IC50 sitotoksik analizde en önemli parametrelerden biridir. TopAF standardı için IC50 değeri 1,737 ppb olarak ölçülürken, soğuk plazma uygulaması sonrası parçalanma ürünleri için bu değer 4,304 ppb olarak belirlenmiştir. Bu, soğuk plazma uygulamasının

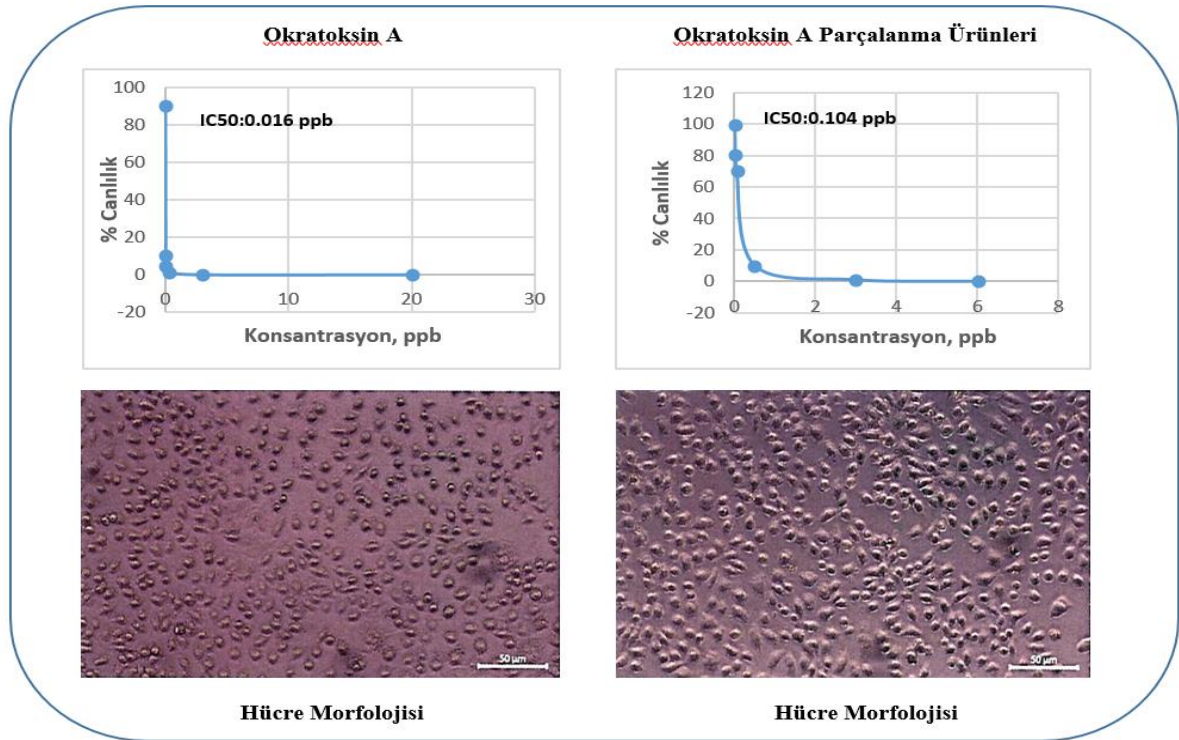
toksistekte belirgin bir azalma sağladığını ve parçalanma ürünlerinin daha düşük sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Şekilde alt kısımda yer alan hücre morfolojisi görüntüleri, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında TopAF standardı ve parçalanma ürünlerinin L-929 hücrelerinde farklı etkiler yarattığını göstermektedir. TopAF standardı hücre morfolojisini belirgin şekilde bozarken, parçalanma ürünleriyle muamele edilmiş hücrelerde daha az hasar gözlenmiştir.

Sonuç olarak, soğuk plazma uygulaması, toplam aflatoksinlerin toksisitesini azaltarak parçalanma ürünlerinin hücreler üzerindeki sitotoksik etkisini önemli ölçüde düşürmüştür. Bu bulgular, soğuk plazmanın toksinlerin biyolojik zararlılıklarını azaltmada etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir.

3.5.2. Okratoksin A (OTA) Sitotoksikite Testi Sonuçları

Hücreler, uygun besiyerinde kültüre edilmiş ve OTA'ya maruz bırakılmıştır. OTA'nın hücreler üzerindeki inhibitör etkisi, MTT sitotoksikite testi kullanılarak 24 saatlik bir inkübasyon süresi sonunda belirlenmiştir. Ayrıca OTA'ya soğuk plazma uygulaması yapılmış olup, uygulama sonrası OTA hücrelere uygulanmıştır (Şekil 3.22).



Şekil 3.22. OTA standardının ve soğuk plazma uygulanmış OTA standart çözeltisinin L-929 hücrelerinde 24 saat inkübasyon sonucu sitotoksik etkisi.

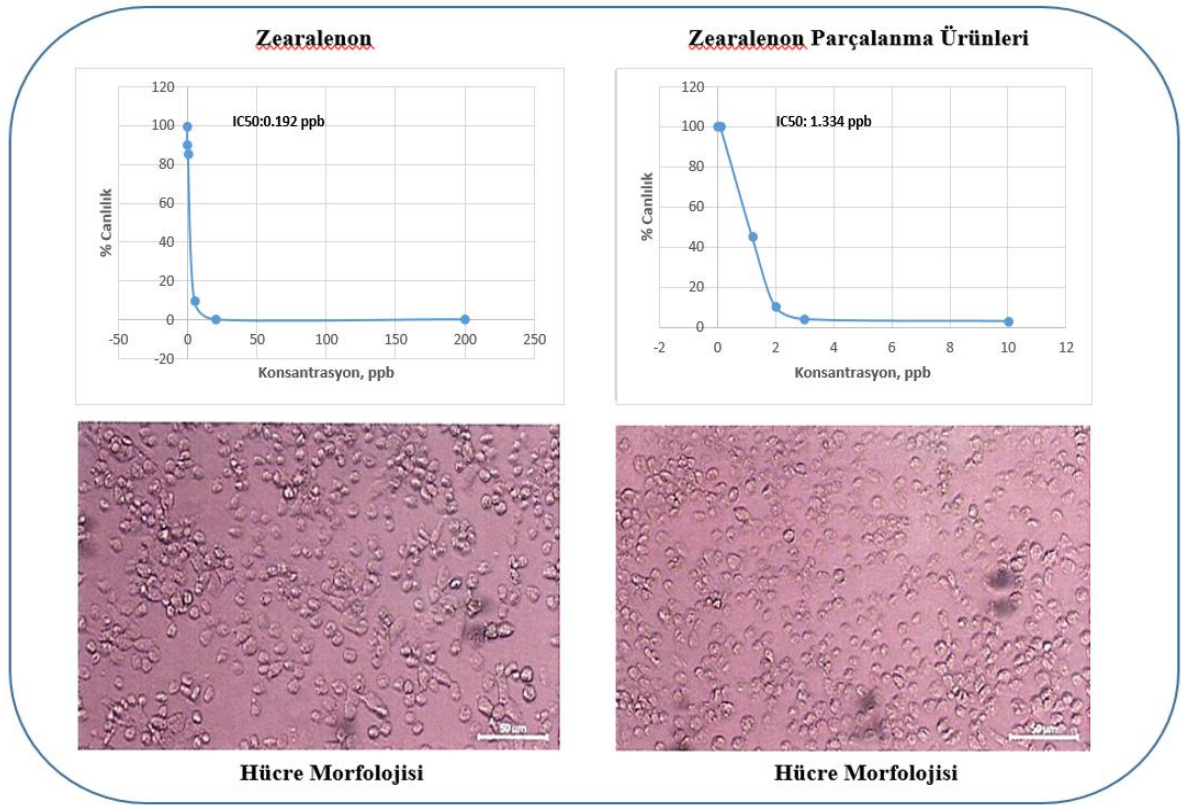
Şekil 3.22, OTA standardının ve soğuk plazma uygulamasıyla parçalanmış ürünlerinin L-929 hücrelerinde 24 saatlik inkübasyon sonrası sitotoksik etkilerini göstermektedir. Grafikte IC50 değerleri (yarı maksimum inhibitör konsantrasyon) belirtilmiştir. OTA standardı için IC50 değeri 0,016 ppb olarak ölçülürken, soğuk plazma sonrası oluşan parçalanma ürünleri için bu değer 0,104 ppb olarak belirlenmiştir. Bu, soğuk plazma uygulamasının OTA toksisitesini azaltmada etkili olduğunu ve parçalanma ürünlerinin daha düşük sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Şekilde alt kısımda yer alan hücre morfolojisi görüntüleri, OTA standardı ve parçalanma ürünlerinin hücreler üzerindeki etkilerini karşılaştırmaktadır. OTA standardı hücre morfolojisini ciddi şekilde bozmuş ve hücre canlılığını önemli ölçüde azaltmıştır. Buna karşılık, parçalanma ürünleriyle muamele edilen hücrelerde daha az morfolojik bozulma gözlenmiştir, bu da toksisite azalmasını desteklemektedir.

Bu bulgular, soğuk plazma uygulamasının OTA gibi mikotoksinlerin toksik etkilerini azaltmada etkili bir yöntem olduğunu ve toksisiteyi önemli ölçüde düşürdüğünü ortaya koymaktadır. Bu durum, soğuk plazmanın gıda güvenliği açısından önemli bir potansiyel taşıdığını göstermektedir.

3.5.3. Zearalenon (ZON) Sitotoksikite Testi Sonuçları

Hücreler, uygun besiyerinde kültüre edilmiş ve ZON'a maruz bırakılmıştır. ZON'un hücreler üzerindeki inhibitör etkisi, MTT sitotoksikite testi kullanılarak 24 saatlik bir inkübasyon süresi sonunda belirlenmiştir. Ayrıca ZON'a soğuk plazma uygulaması yapılmış olup, uygulama sonrası ZON hücrelere uygulanmıştır (Şekil 3.23).



Şekil 3.23. ZON standardının ve soğuk plazma uygulanmış ZON standart çözeltisinin L-929 hücrelerinde 24 saat inkübasyon sonucu sitotoksik etkisi.

Şekil 3.23, ZON standardının ve soğuk plazma ile parçalanmış ürünlerinin L-929 hücrelerinde 24 saatlik inkübasyon sonrasında gösterdiği sitotoksik etkileri sunmaktadır. IC50 değerleri (yarı maksimum inhibitör konsantrasyon) her iki durumda da belirtilmiştir. ZON standardı için IC50 değeri 0,192 ppb olarak ölçülmüş, bu da yüksek toksisiteyi göstermektedir. Soğuk plazma uygulamasıyla elde edilen ZON parçalanma ürünlerinde ise IC50 değeri 1,334 ppb olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, soğuk plazmanın ZON toksisitesini önemli ölçüde azalttığını göstermektedir.

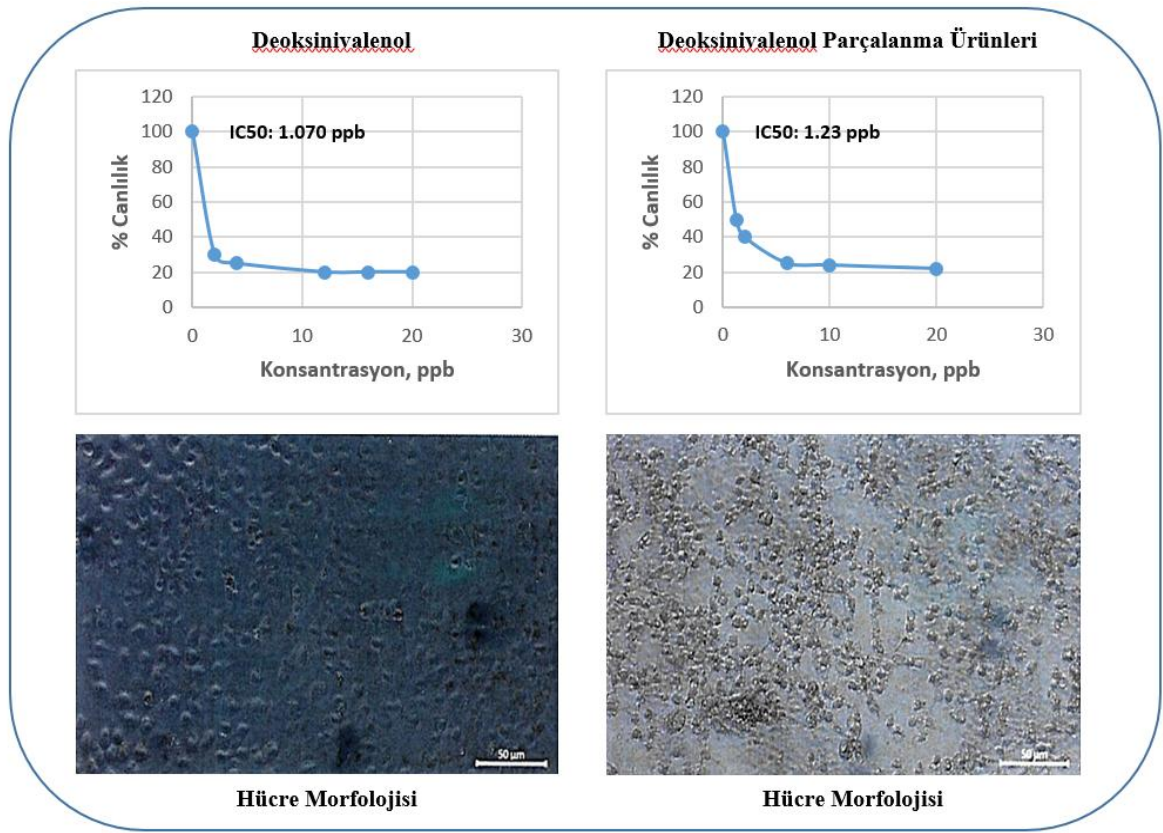
Şekilde alt kısımdaki hücre morfolojisi görüntüleri, toksin etkisini daha net bir şekilde görselleştirmektedir. ZON standardına maruz kalan hücrelerde ciddi morfolojik bozulmalar ve hücre bütünlüğünde kayıplar gözlemlenirken, soğuk plazma uygulaması sonucu oluşan parçalanma ürünlerine maruz kalan hücrelerde daha az zarar ve daha sağlıklı bir morfoloji görülmüştür.

Bu bulgular, ZON'un sitotoksik etkisinin soğuk plazma uygulamasıyla önemli ölçüde azaldığını ve parçalanma ürünlerinin toksisitesinin standarda göre daha düşük olduğunu

göstermektedir. Bu durum, soğuk plazma teknolojisinin mikotoksin azaltma ve gıda güvenliği uygulamalarında etkili bir yöntem olabileceğini vurgulamaktadır.

3.5.4. Deoksinivalenol (DON) Sitotoksikite Testi Sonuçları

Hücreler, uygun besiyerinde kültüre edilmiş ve DON'a maruz bırakılmıştır. DON'un hücreler üzerindeki inhibitör etkisi, MTT sitotoksikite testi kullanılarak 24 saatlik bir inkübasyon süresi sonunda belirlenmiştir. Ayrıca DON'a soğuk plazma uygulaması yapılmış olup, uygulama sonrası DON hücrelere uygulanmıştır (Şekil 3.24)



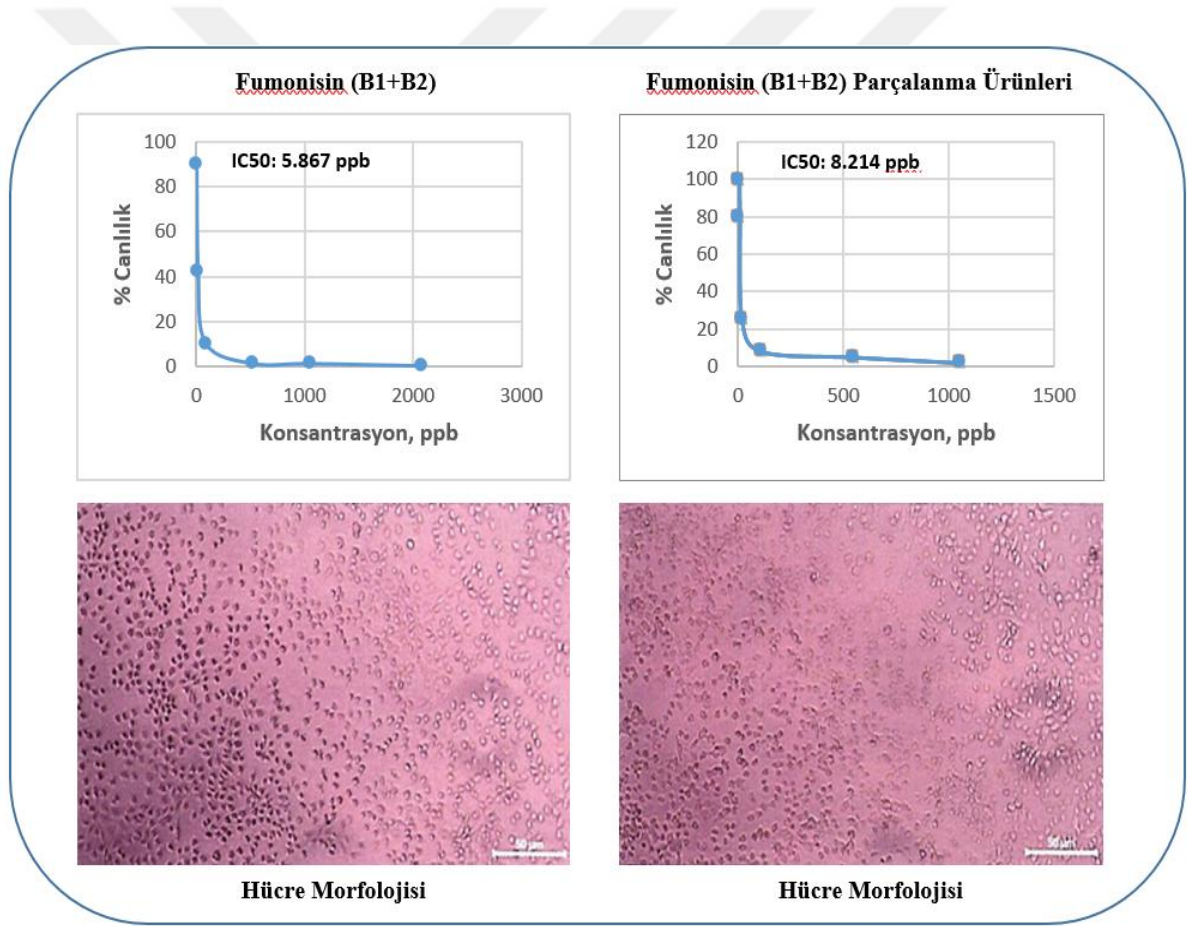
Şekil 3.24. DON standardının ve soğuk plazma uygulanmış DON standart çözeltisinin L-929 hücrelerinde 24 saat inkübasyon sonucu sitotoksik etkisi.

Şekil 3.24, DON standardının ve soğuk plazma uygulamasıyla işlenmiş DON parçalanma ürünlerinin L-929 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkilerini göstermektedir. DON standardının IC50 değeri 1,070 ppb olarak ölçülmüş ve hücre canlılığı üzerinde güçlü bir toksik etki gözlenmiştir. Soğuk plazma ile işlenmiş DON parçalanma ürünlerinde ise IC50 değeri 1,23 ppb olarak belirlenmiş, bu da toksisitenin bir miktar azaldığını ortaya koymaktadır. Hücre morfolojisi incelendiğinde, DON standardına maruz kalan hücrelerde belirgin deformasyonlar ve hücresel kayıplar meydana gelmiştir. Buna karşın, DON parçalanma ürünlerine maruz kalan

hücrelerde daha az zarar ve daha sağlıklı bir hücresel yapı gözlemlenmiştir. Bu bulgular, soğuk plazma uygulamasının DON toksinini etkili bir şekilde parçaladığını ve toksisitesini azalttığını ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, soğuk plazma teknolojisi, gıda güvenliğini sağlamak amacıyla toksinlerin azaltılmasında umut verici bir yöntem olarak değerlendirilmektedir.

3.5.5. Fumonisin (B1+B2) Sitotoksikite Testi Sonuçları

Hücreler, uygun besiyerinde kültüre edilmiş ve Fumonisine (B1+B2) maruz bırakılmıştır. Fumonisin hücreler üzerindeki inhibitör etkisi, MTT sitotoksikite testi kullanılarak 24 saatlik bir inkübasyon süresi sonunda belirlenmiştir. Ayrıca Fumonisine soğuk plazma uygulaması yapılmış olup, uygulama sonrası Fumonisin hücrelere uygulanmıştır (Şekil 3.25).



Şekil 3.25. Toplam FUMO (B1+B2) standardının ve soğuk plazma uygulanmış Toplam FUMO (B1+B2) standart çözeltisinin L-929 hücrelerinde 24 saat inkübasyon sonucu sitotoksik etkisi.

Şekil 3.25, Fumonisin (B1+B2) standardının ve soğuk plazma uygulaması ile işlenmiş Fumonisin parçalanma ürünlerinin L-929 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkilerini göstermektedir. FUMO (B1+B2) standardının IC50 değeri 5,867 ppb olarak ölçülmüş ve

yüksek toksisite seviyeleri tespit edilmiştir. Soğuk plazma ile işlenmiş FUMO (B1+B2) parçalanma ürünlerinde ise IC50 değeri 8,214 ppb olarak belirlenmiş, bu da toksisite seviyesinin azaldığını ortaya koymaktadır. Hücre morfolojisi görüntüleri, FUMO standardına maruz kalan hücrelerde belirgin bozulmalar ve hücresel yoğunlukta azalma olduğunu göstermektedir. Buna karşın, FUMO parçalanma ürünlerine maruz kalan hücrelerde morfolojik bütünlük büyük ölçüde korunmuştur. Bu bulgular, soğuk plazma uygulamasının Fumonisin toksinini etkili bir şekilde parçaladığını ve toksisitesini azalttığını göstermektedir. Bu sonuçlar, soğuk plazma teknolojisinin toksinlerin detoksifikasyonu ve gıda güvenliği açısından etkili bir yöntem olduğunu desteklemektedir.

3.5.6. Sitotoksik Test Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bu çalışma, ABSP teknolojisinin, TopAF, OTA, ZON, DON ve Toplam FUMO gibi mikotoksinlerin toksisite düzeylerini azaltmada etkili bir yöntem olduğunu ortaya koymaktadır. L-929 hücre hattı kullanılarak yapılan sitotoksik testlerinde, ABSP'nin toksinlerin kimyasal yapısını bozarak toksisitesini önemli ölçüde düşürdüğü görülmüştür. Tüm toksinlerde, ABSP uygulaması sonrasında elde edilen parçalanma ürünlerinin standart toksin çözeltilerine göre daha düşük sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. IC50 değerleri incelendiğinde, ABSP'nin özellikle TopAF ve ZON toksisitesini belirgin şekilde azalttığı, diğer toksinlerde ise toksisite azalmasının daha sınırlı olduğu gözlemlenmiştir. Hücre morfolojisi analizleri de ABSP uygulanan toksinlere maruz kalan hücrelerdeki hasarı önemli ölçüde azalttığını doğrulamaktadır. Bu bulgular, ABSP'nin mikotoksinlerin detoksifikasyonu ve gıda güvenliği uygulamalarında kullanılabilecek umut verici bir teknoloji olduğunu göstermektedir. Ancak, uygulama süresi, toksin türü ve çözücü bileşimi gibi parametrelerin optimizasyonu, bu teknolojinin etkinliğini daha da artırabilir. Bu nedenle, ABSP'nin geniş ölçekli uygulamalar için detaylı araştırmalarla desteklenmesi önerilmektedir.

ABSP, mikotoksinlerin detoksifikasyonu için etkili bir mekanizma sunar ve bu süreç, reaktif oksijen ve azot türlerinin mikotoksinlerin kimyasal yapısını bozmasına dayanır. Plazma enerjisiyle iyonize edilen gaz molekülleri, atomik oksijen, ozon, hidroksil radikali ve nitrik oksit gibi yüksek enerjili reaktif türler oluşturur. Bu reaktif türler, mikotoksinlerin toksik etkilerinden sorumlu aromatik halkalar, karbonil grupları ve çift bağlar gibi kimyasal yapıları hedef alarak oksidatif reaksiyonlarla parçalar. Bu süreçte, mikotoksinler toksik olmayan veya daha az toksik bileşiklere dönüşür. Ayrıca, plazma sırasında oluşan UV ışığı, mikotoksin moleküllerinde fotokimyasal bozulmayı tetikleyerek toksisiteyi azaltır. Soğuk plazmanın hızlı

ve düşük sıcaklıkta çalışması, hem mikotoksinlerin etkili bir şekilde parçalanmasını sağlar hem de gıdaların fiziksel ve kimyasal özelliklerini korur. Ancak, oluşan bozunma ürünlerinin uzun vadeli güvenliği ve etkinliğin farklı gıda matrislerinde optimize edilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır [248].

Yapılan çalışmalar, soğuk plazma teknolojisinin mikotoksinlerin detoksifikasyonundaki etkisini farklı açılardan ortaya koymaktadır. Sen [232] çalışmasında, aflatoksinler üzerinde yapılan deneylerde soğuk plazma uygulaması sonrası hücre canlılığında %60'tan fazla artış sağlandığı ve toksinlerin daha az sitotoksik ürünlere dönüştüğü gözlemlenmiştir. Bu, soğuk plazmanın biyolojik güvenliği artıran ve hücresel düzeyde toksisiteyi azaltan etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, Wielogorska ve arkadaşları [70], TopAF ve ZON üzerinde yaptıkları çalışmalarda, soğuk plazma sonrası oluşan parçalanma ürünlerinin toksisitesinde artış olmadığını ve toksinlerin etkili bir şekilde detoksifiye edildiğini rapor etmişlerdir. Bong ve arkadaşları [249], farklı mikotoksinlerin 5 saniyelik soğuk plazma uygulamasıyla tamamen uzaklaştırılabildiğini ve toksisitenin önemli ölçüde azaldığını bildirmiştir. Xu ve arkadaşları [250], ABSP kullanılarak ZON'un %96,18 oranında parçalandığını ve oluşan bozunma ürünlerinin hem insan hem de hayvan hücrelerinde toksisiteyi azalttığını belirlemiştir. Ayrıca, bu çalışmada ZON'un farelerde karaciğer ve böbrek dokularına zarar verme oranında azalma gözlenmiştir. Yangqin ve arkadaşları [245] ise DON üzerinde yaptıkları çalışmada, ABSP'nin hem sıvı hem de katı fazlarda bozunma ürünlerinin toksisitesini önemli ölçüde azalttığını rapor etmiştir. Mengjie ve arkadaşları [242], ZON'un kimyasal yapısının oksidatif reaksiyonlarla parçalandığını ve toksisiteye neden olan yapıların yok edildiğini tespit etmişlerdir. Min ve arkadaşları [246] tarafından, DON'un indirgenmesi sırasında üç ana bozulma yolu belirlenmiş ve toksisite değerlendirmesi yapılmıştır. Bulgular, toksisiteye neden olan kimyasal grupların plazma etkisiyle tahrip olduğunu ve bu sayede toksik etkilerin önemli ölçüde azaldığını göstermektedir. Feizollahi ve arkadaşları [52] benzer şekilde, plazma uygulamalarının mikotoksinlerin yapısal değişikliklere uğramasına ve toksisitenin azalmasına yol açtığını rapor etmişlerdir. Lan ve arkadaşları [248] tarafından yapılan çalışmada, soğuk plazma, OTA mikotoksininin detoksifikasyonu için etkili ve çevre dostu bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. OTA, tahıllar, kahve, şarap ve kuru meyveler gibi gıdalarda yaygın olarak bulunan ve insan sağlığı üzerinde toksik ve karsinojenik etkiler gösteren bir bileşiktir. Soğuk plazma, gaz moleküllerini iyonize ederek reaktif oksijen ve azot türleri oluşturur. Bu reaktif türler, OTA'nın kimyasal yapısını bozarak toksik etkilerini azaltır ve toksik olmayan veya daha az toksik bileşenlere dönüştürür. Bu sonuçlar, soğuk plazmanın farklı mikotoksinler

üzerinde etkili bir detoksifikasyon yöntemi olduğunu ve toksik yapıları güvenli hale getirdiğini göstermektedir.

FUMO B1'in moleküler yapısı, karbon zincirleri ve polar bölgelerden oluşur. Soğuk plazma işlemi sırasında üretilen ROS türleri, özellikle ozon ve hidroksil radikalleri, FUMO B1'in yapısındaki furan halkalarını ve karbonil gruplarını hedef alır. Bu işlem, FUMO B1'in toksik yapısının parçalanmasına ve toksik olmayan yan ürünlere dönüşmesine neden olur. AFB₁'in kimyasal yapısı, toksik etkilerinden sorumlu olan bir difuran halkası ve çift bağlar içerir. Soğuk plazma, bu bağları oksidatif reaksiyonlarla kırar ve AFB₁'i daha az toksik ara ürünlere dönüştürür. Plazma, toksinlerin moleküler stabilitesini bozarak toksik yapılarının bozulmasını sağlar. Ozon, süperoksit anyonları ve atomik oksijen, AFB₁ molekülünün kimyasal bağlarını parçalamada kilit rol oynar. Bu reaktif türler, AFB₁'in difuran halkasını okside ederek toksik etkilerinden sorumlu yapıların tahrip olmasını sağlar [251].

Leila ve arkadaşları [252] tarafından yapılan çalışmada, ABSP uygulamasının AFB₁ üzerindeki toksisiteyi nasıl azalttığı detaylı bir şekilde incelenmiştir. AFB₁, güçlü kanserojen özelliklere sahip bir mikotoksindir ve insan sağlığı için ciddi bir risk oluşturur. Çalışmada, AFB₁ ile kontamine olmuş ekmek örnekleri, farklı gaz kombinasyonlarıyla (hava, azot, argon ve azot+argon) ABSP'ye maruz bırakılmış ve bu işlemin toksisite üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. İnsan karaciğer hücreleri (Hep-G2) kullanılarak yapılan sitotoksikite testleri, plazma uygulamasının AFB₁'in toksik etkilerini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Hava plazması, diğer gaz kombinasyonlarına kıyasla toksisiteyi azaltmada en etkili yöntem olarak öne çıkmıştır. Bu durum, hava plazmasının işlem sırasında daha yüksek konsantrasyonlarda reaktif oksijen türleri ve diğer aktif türler oluşturmasıyla ilişkilendirilmiştir. Plazma işleminden sonra, AFB₁'in biyolojik sistemlerdeki zararlı etkilerinin büyük ölçüde azaldığı görülmüştür. Soğuk plazmanın AFB₁'i bozarak toksik olmayan ürünlere dönüştürdüğü ve bu ürünlerin toksisite düzeyinin önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır. Bozulan AFB₁ ürünlerinin toksisite değerlendirmesi, bu ürünlerin insan hücrelerinde daha az toksik olduğunu ortaya koymuştur [253].

Mevcut çalışma sonuçlarına göre, ABSP uygulamasının mikotoksinlerin toksisitesini etkili bir şekilde azalttığı ve bu teknolojinin gıda güvenliği açısından önemli bir potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Çalışmada, TopAF, DON, Toplam FUMO, OTA ve ZON üzerinde yapılan sitotoksikite testlerinde, soğuk plazma uygulaması sonrası toksisitede belirgin

azalmalar kaydedilmiştir. Özellikle IC50 değerlerinde görülen artışlar, toksinlerin daha az sitotoksik parçalanma ürünlerine dönüştüğünü göstermektedir.

Soğuk plazma, gıda güvenliği alanında mikotoksinlerin detoksifikasyonunda etkili bir teknoloji olarak öne çıkmaktadır. Bu süreçte, plazma tarafından üretilen reaktif oksijen ve azot türleri, mikotoksinlerin kimyasal yapısını bozarak toksik olmayan ara ürünlere dönüştürür. Yapılan araştırmalar, soğuk plazma ile işlem görmüş gıdalarda oluşan bozunma ürünlerinin toksisite seviyelerinin önemli ölçüde azaldığını göstermektedir. Sitotoksikite testleri, bu ürünlerin insan hücrelerinde toksik etkiler göstermediğini, aksine zararsız hale geldiklerini ortaya koymuştur. Ayrıca, hayvan deneyleri de soğuk plazma işleminden sonra oluşan ürünlerin karaciğer, böbrek ve bağırsak dokularına zarar vermediğini doğrulamaktadır. Ancak, bozunma ürünlerinin kimyasal yapısının tam olarak tanımlanması ve uzun vadeli etkilerinin araştırılması, bu teknolojinin daha geniş ölçekli uygulamaları için gereklidir [254].

Mikotoksinlerin parçalanma ürünleri ve bunların toksikolojik profilleri üzerine yapılan araştırmalar sınırlıdır. Mevcut çalışmalar, mikotoksinlerin çeşitli işlemler sonucunda farklı bileşiklere dönüştüğünü göstermektedir. Ancak, bu dönüşüm ürünlerinin toksisite düzeyleri ve biyolojik etkileri hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır. Özellikle, mikotoksinlerin parçalanması sonucu oluşan türevlerin toksik etkileri üzerine yapılan araştırmalar, bu bileşiklerin bazı durumlarda ana bileşikten daha düşük toksisiteye sahip olabileceğini, ancak bazı biyolojik sistemlerde farklı etkilere neden olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, mikotoksin parçalanma ürünlerinin toksikolojik değerlendirmeleri, gıda güvenliği açısından büyük önem taşımaktadır. Sonuç olarak, mikotoksinlerin parçalanma ürünleri ve bunların sağlık üzerindeki etkileri konusunda daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Çalışma kapsamında elde edilen bulgular, literatür ile tutarlılık göstermekte ve ABSP'nin toksinlerin detoksifikasyonunda etkili bir yöntem olduğunu doğrulamaktadır. Bununla birlikte, toksinlerin türü, uygulama süresi ve plazma parametreleri gibi faktörlerin toksisite azaltımı üzerindeki etkisinin optimize edilmesi gerektiği de vurgulanmaktadır. Genel olarak, soğuk plazma teknolojisinin, toksinlerin güvenli bir şekilde azaltılmasında ve gıda güvenliği standartlarının artırılmasında önemli bir potansiyel taşıdığı sonucuna varılabilir.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma kapsamında, laboratuvar ölçekli Atmosferik Basınç Soğuk Plazma (ABSP) uygulaması ile çeşitli gıda matrislerinde birden fazla mikotoksin üzerinde detoksifikasyon etkinliği araştırılmıştır. Çalışmada karışık kuruyemiş, buğday ve mısır örneklerinin tercih edilme nedeni, mikotoksinlerin yaygın kaynakları olmaları ve ülkemiz açısından ihracat/ithalat süreçlerinde kritik bir role sahip bulunmalarındır. Mikotoksin kaynaklı kayıplar ekonomik, sağlık, tarımsal ve ticari açıdan büyük riskler taşımaktadır. Özellikle, bu ürünlerdeki mikotoksin kontaminasyonu halk sağlığı üzerinde ciddi olumsuz etkiler yaratırken, aynı zamanda ihracatta önemli engellere yol açmaktadır. Çalışmanın temel hedefi, düşük maliyetli ve hızlı bir yöntem olan ABSP teknolojisi ile mikotoksinlerin detoksifikasyonunu sağlamaktır. Bunun yanı sıra, detoksifikasyon sonrası oluşan ürünlerin toksisite seviyelerinin belirlenmesi amacıyla sitotoksisite testleri gerçekleştirilmiş ve soğuk plazmanın model gıdaların fizikokimyasal özellikleri üzerindeki etkileri detaylı olarak incelenmiştir.

Literatürde doğal olarak mikotoksin içeren ürünlerin detoksifikasyonuna yönelik çalışmalar sınırlı sayıdadır. Literatür çalışmalarının neredeyse tamamına yakınında gıda matrisine mikotoksin standardı ilave edilerek deneylerin yapıldığı ya da sadece standart çözeltilere plazma uygulandığı görülmüştür. Doğal kontamine numunelerde çalışma yapılması tezden elde edilecek sonuçların önemini artırmaktadır. Bu kapsamda yapılan bu çalışmada, ABSP uygulaması sonrasında doğal toksin içeren veya yapay olarak kontamine edilen karışık kuruyemiş, buğday ve mısır örneklerinde çeşitli analizler yapılmış ve özgün sonuçlar ortaya konmuştur. Çalışma bulguları, ABSP'nin aflatoksin, okratoksin, zearalenon, deoksinivalenol ve fumonisin gibi mikotoksinlerin seviyelerini azaltmada etkili bir teknoloji olduğunu göstermiştir. Diğer yandan standart toksin içeren çözeltilerde elde edilen yüksek degradasyon etkinliği, toksinlerin saf formda bulunmasının plazma reaktif türleriyle daha iyi bir etkileşim göstermesinden kaynaklandığını ortaya koymuştur. Buna karşılık, doğal ve yapay toksin içeren örneklerde gıda matrisinin reaktif türlerle sınırlı bir temas göstermesi, toksin indirgeme oranlarını olumsuz etkilemiştir. Bu durum, ABSP'nin farklı gıda matrislerinde optimize edilmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

Çalışmada elde edilen verilere göre, ABSP uygulamasına karşı en duyarlı toksinler Aflatoksinler ve Okratoksin A olmuştur. Aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin seviyeleri, özellikle spike yapılan örneklerde ve standart çözeltilerde yüksek oranda azalmıştır. Okratoksin A'da hem doğal hem de spike örneklerde belirgin bir düşüş göstermiş, standart çözeltilerde ise en

yüksek azalma oranına ulaşılmıştır. Zearalenon ve Fumonisinler de plazma uygulamasına duyarlı olmakla birlikte, Aflatoksinlere kıyasla daha dirençli bir yapı göstermiştir. Zearalenon seviyeleri, uygulama süresi arttıkça belirgin şekilde azalmış, ancak Aflatoksinler kadar hızlı bir parçalanma göstermemiştir. Fumonisinler ise Zearalenon'a kıyasla daha dirençli kalmış, özellikle doğal ve spike örneklerde daha yavaş bir indirgeme süreci gözlenmiştir. Genel olarak, Aflatoksinler ve Okratoksin A en hızlı parçalanan toksinler olurken, Zearalenon ve Fumonisinler orta derecede bir azalma göstermiştir. Deoksinivalenol ise en dirençli toksin olarak öne çıkmıştır. Bu durum, ABSP'nin toksin türüne bağlı olarak farklı etkinlik seviyelerine sahip olduğunu ve her toksinin yapısal özelliklerinin parçalanma sürecini doğrudan etkilediğini göstermektedir. Besin bileşenleri açısından yapılan analizler, ABSP'nin yağ, protein, selüloz ve kül gibi içerikler üzerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığını göstermiştir. Ancak, buğday ve mısır örneklerinde uygulama yöntemine bağlı olarak rutubet içeriğinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Diğer yandan, lipid oksidasyonunu işaret eden serbest yağ asitliği ve peroksit değerlerinde bir artış olduğu belirlenmiş, ancak genel olarak ABSP'nin gıda kalitesini koruyarak mikotoksin detoksifikasyonu sağlamada güvenilir bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır. Mineral analizlerinde ise Cr, Hg, Pb, As, Mg, Fe, Cu, Zn, Cd ve Sn miktarlarında anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Bu bulgu, ABSP'nin mineral içerikleri koruyarak toksin miktarında düşüş sağladığı ve gıda kalitesini muhafaza ettiğini göstermektedir. ABSP'nin karışık kuruyemiş, buğday ve mısır örneklerindeki etkileri değerlendirildiğinde, toksin indirgeme oranlarının uygulama süresi ve toksinlerin bulunduğu matrise bağlı olarak değiştiği gözlemlenmiştir. Analizleri yapılan besinsel içeriklerde kayda değer bir değişiklik olmamakla birlikte, ürünlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin büyük ölçüde korunduğu tespit edilmiştir. Sitotoksisite testleri, ABSP'nin mikotoksinlerin kimyasal yapısını bozarak toksisiteyi azalttığını ve toksinlerin daha az zararlı parçalanma ürünlerine dönüştüğünü göstermiştir. Özellikle IC50 değerlerinde gözlenen artış, toksinlerin biyolojik zararlarının azaltıldığını ortaya koymaktadır. Bu bulgular, ABSP teknolojisinin insan sağlığı açısından güvenilir ve etkili bir detoksifikasyon yöntemi olduğunu doğrulamaktadır.

Sonuç olarak, ABSP teknolojisi, mikotoksinlerin güvenli seviyelere indirilmesi, gıda kalitesinin korunması ve ihracatta karşılaşılan mikotoksin kaynaklı sorunların çözülmesi açısından umut vadetmektedir. Ancak, gıda matrisinin plazma etkisini sınırlayan faktörlerin daha iyi anlaşılması, uygulama parametrelerinin optimize edilmesi ve farklı gıda türleri üzerindeki etkilerin kapsamlı şekilde araştırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Los, A., Ziuzina, D. and Bourke, P. Current and Future Technologies for Microbiological Decontamination of Cereal Grains, *Journal of Food Science* Vol. 83, Iss. 6, 2018
- [2] Mir, S.A., Dar, B.N., Shah, M.A., Sofi, S.A., Hamdani, A.M., Oliveira, C.A.F., Moosavi, M.H., Khaneghah, A.M., Sant'Ana, A.S. Application of new technologies in decontamination of mycotoxins in cereal grains: Challenges, and perspectives, *Food and Chemical Toxicology* 148 (2021) 111976
- [3] Gavahian, M., Mathad, G.N., Oliveira, C.A.F., Khaneghah, A.M. Combinations of emerging technologies with fermentation: Interaction effects for detoxification of mycotoxins? *Food Research International* 141 (2021) 110104
- [4] Tunail, N., Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, 2000.
- [5] Çakır, İ., Dogan, H.B., Biyolojik Stabilité. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ank. Üniv. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Genişletilmiş 2. Baskı. Sim Matbaası, 2000.
- [6] Gavahian, M. and Cullen, P.J. Cold Plasma as an Emerging Technique for Mycotoxin-Free Food: Efficacy, Mechanisms, and Trends, *Food Reviews International* 2020, Vol. 36, No. 2, 193–214
- [7] Wang, Y., Shang, J., Cai, M., Liu, Y., Yang, K. Detoxification of mycotoxins in agricultural products by non-thermal physical technologies: a review of the past five years, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2022
- [8] Özkaya, Ş., Temiz, A., Aflatoksinler; Kimyasal Yapıları, toksisiteleri ve detoksifikasyonları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 1(1): 1–21. 2003.
- [9] Placinta, C.M., D'Mello, J.P.F., Macdonald, A.M.C.. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology* 78: 21-37. 1999
- [10] Zinedine, A., Brera, C., Elakhdari, S., Catano, C., Debegnach, F., Angelini, S., De Santis, B., Faid, M., Benlemlih, M., Minardi, V., Miraglia, M. Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. *Food Control* 17: 868-874. 2006.
- [11] Vidyasagar, T., Sujatha, N., Sashidhar, R.B. Determination of aflatoxin B1-DNA adduct in rat liver by enzyme immunoassay. *Analyst* 122: 609- 13, 1997.
- [12] Busby, W.F.Jr., Wogan, G.N. Aflatoxins. In: Edwards F, ed. *Chemical Carcinogens*. Maple Press Co, York, 1984.
- [13] International Agency for Research on Cancer IARC. Evaluation of carcinogenic risks of chemical to humans. Some naturally occurring substances: food items and constituents. Heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. *IARC Monographs* 56: 359-362, 1993.

- [14] Wood, G.E. Mycotoxins in foods and feeds in the United States. *Journal of Animal Science* 70:3941-3949, 1992.
- [15] Engelhardt, G., Barthel, J., Sparrer, D. Fusarium mycotoxins and ochratoxin A in cereals and cereal products. *Mol. Nutr. Food Res.* 50: 401-405, 2006.
- [16] Girgin, G., Başaran, N., Şahin, G. Dünyada ve Türkiye’de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 58(3): 97–118, 2001.
- [17] Abes, S., Ouanes, Z., Ben Salah Abes, J., Houas, Z., Oueslati, R., Bacha, H., Othman, O., 2006. The protective effect of hydrated sodium calcium aluminosilicate against haematological, biochemical and pathological changes induced by Zearalenone in mice. *Toxicon* 47(5): 567, 2006.
- [18] Pitt, J.I. Toxigenic fungi and mycotoxins. *British Medical Bulletin* 56(1): 184-192, 2000.
- [19] Steyn, P.S., Stander, M.A. Mycotoxins with special reference to the carcinogenic mycotoxins: Aflatoxins, Ochratoxins and Fumonisin. In: Ballantyne B., Mars TC, Syversen TLM, eds. *General and Applied Toxicology*. 2nd Edition 2145- 76,1999.
- [20] Hsueh, C-C., Liu, Y., Freund, M.S. Indirect electrochemical detection of type-B trichothecene mycotoxins. *Anal. Chem.* 71: 4075-80, 1999.
- [21] Whitlow, L.W., Hagler, W.M., Diaz, D.E. Mycotoxins in feeds. *Feedstuffs* 74-84, 2010.
- [22] Sabuncuoğlu, A.S., Baydar, T., Giray, B., Şahin, G. Mikotoksinler: Toksik etkileri, degradasyonları, oluşumlarının önlenmesi ve zararlı etkilerinin azaltılması. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 28(1): 63–92, 2008.
- [23] Beuchat, L.R. *Food and Beverage Mycology*. Avi Publishing, Westport, Connecticut, 1981.
- [24] Gavahian, M., Cullen P.J. (2020) Cold Plasma as an Emerging Technique for Mycotoxin-Free Food: Efficacy, Mechanisms, and Trends, *Food Reviews International*, 36:2, 193-214, DOI: 10.1080/87559129.2019.1630638
- [25] Ünlütürk, A., *Gıda Mikrobiyolojisi*. Mengi Tan Basımevi, İzmir, 1999
- [26] Cooper, M., *Spacecraft Sterilization Using Non-equilibrium Atmospheric Pressure Plasma*, NATO: Advanced Study Institute, Plasma Assisted Decontamination of Biological&Chemical Agents, Cesme, 2007.
- [27] Zhang, Z.H., Wang, L.H., Zeng, X.A., Han, Z., Brennan, C.S., 2019. Non-thermal technologies and its current and future application in the food industry: a review. *Int.J.Food Sci.Technol.* 54, 1–13.
- [28] Lee, H.J., Jung, H., Choe, W., Ham, J.S., Lee, J.H., Jo, C., 2011. Inactivation of *Listeria monocytogenes* on agar and processed meat surfaces by atmospheric pressure plasma jets. *Food Microbiol.* 28, 1468–1471.

- [29] Wang, J., Zhuang, H., Hinton, A., Zhang, J., 2016. Influence of in-package cold plasma treatment on microbiological shelf life and appearance of fresh chicken breast fillets. *Food Microbiol.* 60, 142–146.
- [30] Kogelschatz, U., 2003. Dielectric-barrier discharges: their history, discharge physics, and industrial applications. *Plasma Chem. Plasma Process.* 23, 1–46.
- [31] Han, L., Ziuzina, D., Heslin, C., Boehm, D., Patange, A., Sango, D.M., Valdramidis, V.P., Cullen, P.J., Bourke, P., 2016. Controlling microbial safety challenges of meat using high voltage atmospheric cold plasma. *Front. Microbiol.* 7, 977.
- [32] Kim, J.-S., Lee, E.-J., Choi, E.H., Kim, Y.-J., 2014. Inactivation of *Staphylococcus aureus* on the beef jerky by radio-frequency atmospheric pressure plasma discharge treatment. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 22, 124–130.
- [33] Liao, X., Liu, D., Xiang, Q., Ahn, J., Chen, S., Ye, X., Ding, T., 2017. Inactivation mechanisms of non-thermal plasma on microbes: a review. *Food Control* 75, 83–91.
- [34] Lerouge, S., Wertheimer, M.R., Yahia, L.H., 2001. Plasma sterilization: a review of parameters, mechanisms, and limitations. *PlasmasPolym.* 6, 175–188.
- [35] Moisan, M., Barbeau, J., Moreau, S., Pelletier, J., Tabrizian, M., Yahia, L.H., 2001. Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms. *Int. J. Pharm.* 226, 1–21.
- [36] Strobel, M., Jones, V., Lyons, C.S., Ulsh, M., Kushner, M.J., Dorai, R., Branch, M.C., 2003. A comparison of corona-treated and flame-treated polypropylene films. *PlasmasPolym.* 8, 61–95.
- [37] Pankaja, S.K., Shib, H., Keenera, K.M. A review of novel physical and chemical decontamination technologies for aflatoxin in food, *Trends in Food Science & Technology* 71 (2018) 73–83
- [38] Hamad, G.M., Mehany, T., Simal-Gandara, J., Abou-Alella S., Esua, O.J., Abdel-Wahhab, M., Hafez, E.E. A review of recent innovative strategies for controlling mycotoxins in foods, *Food Control* 144 (2023) 109350
- [39] Adebo, O.A., Molelekoa, T., Makhuele, R., Adebisi, J.A., Oyedeji, A.B., Gbashi, S., Adefisoye, M.A., Ogundele, O.M., Njobeh, P.B. A review on novel non-thermal food processing techniques for mycotoxin reduction, *International Journal of Food Science and Technology* 2021, 56, 13–27
- [40] Yousefi, M., Mohammadi, M.A., Khajavi, M.Z., Ali Ehsani, A. and Scholtz, V. Application of Novel Non-Thermal Physical Technologies to Degrade Mycotoxins, *J. Fungi* 2021, 7, 395
- [41] Kutasi, K., Recek, N., Zaplotnik, R., Mozetič, M., Krajnc, M., Gselman, P., and Primc, G. Approaches to Inactivating Aflatoxins—A Review and Challenges, *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 13322.

- [42] Li, S., Wang, X., Li, L., Liu, J., Ding, Y., Zhao, T., Zhang, Y. Atomic-scale simulations of the deoxynivalenol degradation induced 2022, *Food Research International* 162 (2022) 111939
- [43] Wu, Y., Cheng, J., Sun, D. Blocking and degradation of aflatoxins by cold plasma treatments 2021, *Trends in Food Science & Technology* 109 (2021) 647–661
- [44] Hojnik, N., Modic, M., Žigon, D., Kovač, J., Jurov, A., Dickenson, A., Walsh, J.L., Cvelbar, U. Cold atmospheric pressure plasma-assisted removal of aflatoxin B1 from contaminated corn kernels, *Plasma Process Polym.* 2021;18:e2000163
- [45] Kaur, M., Hüberli, D., and Bayliss, K.L. (2020). Cold plasma: exploring a new option for management of postharvest fungal pathogens, mycotoxins and insect pests in Australian stored cereal grain, *Crop and Pasture Science*, 71(8) : 715-724
- [46] Misra, N.N., Yadav, B., Roopesh, M.S. and Jo, C. Cold Plasma for Effective Fungal and Mycotoxin Control in Foods: Mechanisms, Inactivation Effects, and Applications, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* Vol.18, 2019
- [47] Casas-Junco, P.P., Solís-Pacheco, J.R., Ragazzo-Sánchez, J.A., Aguilar-Uscanga, B.R., Bautista-Rosales, P.U. and Calderón-Santoyo, M. Cold Plasma Treatment as an Alternative for Ochratoxin A Detoxification and Inhibition of Mycotoxigenic Fungi in Roasted Coffee, *Toxins* 2019, 11, 337
- [48] Lokeswari, R., Sharanyakanth, P.S., Jaspin, S. and Mahendran, R. Cold Plasma Effects on Changes in Physical, Nutritional, Hydration, and Pasting Properties of Pearl Millet (*Pennisetum Glauca*), *IEEE Transactions On Plasma Science*, Vol. 49, No. 5, May 2021
- [49] Chen, X., Qiu, Y., Zhang, J., Guo, Y., Ding, Y., Lyu, F. Degradation efficiency and products of deoxynivalenol treated by cold plasma and its application in wheat, *Food Control* 136 (2022) 108874
- [50] Feizollahi, E., Arshad, M., Yadav, B., Ullah, A., Roopesh, M.S. Degradation of Deoxynivalenol by Atmospheric-Pressure Cold Plasma and Sequential Treatments with Heat and UV Light, *Food Engineering Reviews* (2021) 13:696–705
- [51] Zhang, M., Ye, Z., Xing, C., Chen, H., Zhang, J. and Yan, W. Degradation of deoxynivalenol in wheat by double dielectric barrier discharge cold plasma: identification and pathway of degradation products, *J Sci Food Agric* 2023
- [52] Feizollahi, E., Roopesh, M.S. Degradation of Zearalenone by Atmospheric Cold Plasma: Effect of Selected Process and Product Factors, *Food and Bioprocess Technology* (2021) 14:2107–2119
- [53] Hajnal, E.J., Vukic, M., Pezo, L., Orčić, D., Puac, N., Škoro, N., Milidrag, A. and Simovic, D.S. Effect of Atmospheric Cold Plasma Treatments on Reduction of *Alternaria* Toxins Content in Wheat Flour, *Toxins* 2019, 11, 704
- [54] Wang, Y., Li, B., Shang, H., Ma, R., Zhu, Y., Yang, X., Ju, S., Zhao, W., Sun, H., Zhuang, J., Jiao, Z. Effective inhibition of fungal growth, deoxynivalenol biosynthesis and pathogenicity in cereal pathogen *Fusarium* spp. by cold atmospheric plasma, *Chemical Engineering Journal* 437 (2022) 135307

- [55] Feizollahi, E., Iqdiam, B., Vasanthan, T., Thilakarathna, M.S. and Roopesh, M.S. Effects of Atmospheric-Pressure Cold Plasma Treatment on Deoxynivalenol Degradation, Quality Parameters, and Germination of Barley Grains, *Appl. Sci.* 2020, 10, 3530
- [56] Zheng, Z., Huang, Y., Liu, L., Chen, Y., Wang, Y. and Li, C. Zearalenone Degradation by Dielectric Barrier Discharge Cold Plasma: The Kinetics and Mechanism, *Foods* 2022, 11, 1494.
- [57] Nagatsu, M., Terashita, F., Koide, Y., Low Temperature Sterilisation with Surface-Wave-Excited Oxygen Plasma, *Japanese Journal of Applied Physics*, 42 (7B), 856-59, 2003.
- [58] Vickery, K., Deva, A.K., Zou, J., Kumaradeva, P., Bissett, L., Cossart, Y.E., Inactivation of Duck Hepatitis B Virus by A Hydrogen Peroxide Gas Plasma Sterilization System: Laboratory and ‘in use’ Testing”, *The Journal of Hospital Infection*, 41(4), 317-22, 1999.
- [59] Kyenam, L., Paek, K., Ju, W., Lee, Y., Sterilization of Bacteria, Yeast, and Bacterial Endospores by Atmospheric-Pressure Cold Plasma Using Helium and Oxygen, *The Journal of Microbiology*, 44(3), 269-75, 2006.
- [60] Moisan, M., Moreau, S., Tabrizian, M., Pelletier, J., Barbeau, J., Yahia, L’H., High-Performance System And Process For Low-Temperature Gas Plasma Sterilization, Canadian patent, 2395659, 2000.
- [61] Critzer, F.J., Kelly-Wintenberg, K.; South, S.; Roth, J.R.; Golden, D.A., Atmospheric plasma inactivation of foodborne pathogens on fresh produce surfaces. *J. Food Prot.*, 70, 2290, 2007.
- [62] Montenegro, J., Ruan, R., Ma, H., Chen, P., Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 Using a Pulsed Non-thermal Plasma System, *Journal of Food Science*, 67(2), 646-48, 2002.
- [63] Deng, S., Ruan, R., Mok, C.K., Huang, G., Lin, X., Chen, P., Inactivation of *Escherichia coli* on Almonds Using Nonthermal Plasma, *Journal of Food Protection*, 72(2), M62-M66, 2007.
- [64] Niemira, B.A., Cold plasma reduction of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on almonds using ambient pressure gases, *Journal of Food Science*, 77, 171-175, 2012.
- [65] Song, H.P., Kim, B., Choe, J.H., Jung, S., Moon, S.Y., Choe, W., Jo, C., Evaluation of Atmospheric Pressure Plasma to Improve The Safety of Sliced Cheese and Ham Inoculated by 3- train Cocktail *Listeria monocytogenes*, *Food Microbiology*, 26, 432-6, 2009.
- [66] Selçuk, M., Öksüz, L., Basaran, P., Decontamination of Grains and Legumes Infected with *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. by Cold Plasma, *Bioresource Technology*, 99(11), 5104-09, 2008.
- [67] Basaran, P.; Akgul, N.; Oksuz, L., Elimination of *Aspergillus parasiticus* from nut surface with low pressure cold plasma (LPCP) treatment, *Food Microbiology*, 25(4), 626, 2008.

- [68] Park, B. J. Takatori, K., Sugita-Konishi, Y., Kim, I.-H., Lee, M.H., Han, D.W., Chung, K.H., Hyun, S.O., Park, J.C., Degradation of mycotoxin using microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure, *Surface and Coatings Technology*, 201, 5733, 2007.
- [69] Kim, J.E., Lee, D.U., Min, S.C., Microbial decontamination of red pepper powder by cold plasma, *Food Microbiology*, 38, 128-136, 2014.
- [70] Wielogorska, E., Ahmed, Y., Meneely, J., Graham, W.G., Elliott, C. T., Gilmore, B.F. A holistic study to understand the detoxification of mycotoxins in maize and impact on its molecular integrity using cold atmospheric plasma treatment, *Food Chemistry* 301 (2019)
- [71] Wang, X., Han, Y., Niu, H., Zhang, L., Xiang, Q., Zong, W. Alternaria mycotoxin degradation and quality evaluation of jujube juice by cold plasma treatment, *Food Control* 137 (2022) 108926
- [72] Iqdam, B.M., Abuagela, M.O., Boz, B., Marshall, S.M., Goodrich-Schneider, R., Sims, C.A., Marshall, M.R., MacIntosh, A.J., Welt, B.A. Effects of atmospheric pressure plasma jet treatment on aflatoxin level, physiochemical quality, and sensory attributes of peanuts, *J Food Process Preserv.* 2020;44:e14305
- [73] Mravlje, J., Regvar, M., Starič, P., Mozetič, M. and Vogel-Mikuš, K. Cold Plasma Affects Germination and Fungal Community Structure of Buckwheat Seeds, *Plants* 2021, 10, 851.
- [74] Misnal, M.F.I., Redzuan, N., Zainal, M.N.F., Ahmad, N., Ibrahim, R.K.R., Aguni L. Cold Plasma: A Potential Alternative for Rice Grain Postharvest Treatment Management in Malaysia, *Rice Science*, Vol. 29, No. 1, 2022
- [75] Afsah-Hejri, L., Hajeb, P., Ehsani, R.J., 2020. Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: a review. *Compr. Rev. FOOD Sci. FOOD Saf.* 19 (4), 1777–1808.
- [76] Gacem, M.A., Gacem, H., Telli, A., Khelil, A.O.E.H., 2020. Mycotoxins: Decontamination and Nanocontrol Methods. In: Rai, M., Abd-Elsalam, K.A. (Eds.), *Nanomycotoxicology*. Academic Press, Cambridge, MA, pp. 189–216.
- [77] Peng, W.X., Marchal, J.L.M., van der Poel, A.F.B., 2018. Strategies to prevent and reduce mycotoxins for compound feed manufacturing. *Anim. FEED Sci. Technol.* 237, 129–153.
- [78] Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., Varzakas, T., 2020. Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: prevention and detoxification in foods. *FOODS* 9, 137.
- [79] Karlovsky, P., Suman, M., Berthiller, F., De Meester, J., Eisenbrand, G., Perrin, I., Oswald, I.P., Speijers, G., Chiodini, A., Recker, T., Dussort, P., 2016. Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. *Mycotoxin. Res.* 32, 179–205.
- [80] Puligundla, P., Mok, C., 2020. Microwave- and radio-frequency-powered cold plasma applications for food safety and preservation. In: Bermudez-Aguirre, D. (Ed.), *Advances in Cold Plasma Applications for Food Safety and Preservation*. Aca. Press Inc., pp. 309–329
- [81] Sharma, S., Singh, R.K., 2020. Cold plasma treatment of dairy proteins in relation to functionality enhancement. *TRENDS FOOD Sci. Technol.* 102, 30–36.

- [82] Ma, R., Jiao, Z., 2022. Inactivation of Fungi and Fungal Toxins by Cold Plasma. In: Ding, T., Cullen, P., Yan, W. (Eds.), *Applications of Cold Plasma in Food Safety*. Springer Inc, pp. 113–166.
- [83] Li, R., Ya, L., Mai, Y.-W., Application of Plasma Technologies in Fibrereinforced Polymer Composites: A Review of Recent Developments, *Composites Part A*, Applied Science and Manufacturing, 28(1), 73-86, 1997.
- [84] Bilal, M., Lili, W., Xiaoyu, L., Muhammad, K.S., Muhammad, Y.N., Mengyao, L., Yongping, X. Cold plasma: A success road to mycotoxins mitigation and food value edition. *Food Chemistry*. Volume 445, 1 July 2024, 138378
- [85] Tusek, L., Nitschke, M., Werner, C., Stana-Kleinschek, K., Ribitsch, V., Surface characterisation of NH₃ plasma treated polyamide 6 foils, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 195, 81-95, 2001.
- [86] Moisan, M., Barbeau, J., Moreau, S., Pelletier, J., Tabrizian, M., Yahia, L'H., Low-Temperature Sterilization Using Gas Plasmas: A Review of The Experiments and An Analysis of The Inactivation Mechanisms, *International Journal of Pharmaceutics*, 226(1-2), 1-21, 2001.
- [87] Moisan, M., Barbeau, J., Crevier, M.C., Pelletier, J., Philip, N., Saoudi, B., Plasma Sterilization: Methods and Mechanisms, *Pure and Applied Chemistry*, 74, 349-358, 2002.
- [88] Menashi, W.P., Effect of Dielectric and Liquid on Plasma Sterilization Using Dielectric Barrier Discharge Plasma, U S Patent No. 3383163. Washington, DC: U S Patent and Trademark Office, 1968.
- [89] Ashman, L.E., Menashi, W.P., Treatment of surface with low-pressure plasmas, U.S. Patent 3,701,628, 1972.
- [90] Gut Boucher, R.M., Seeded gas plasma sterilization method, U.S Patent 4,207,286, 1980.
- [91] Bithell RM., Package and sterilization process for samed. US Patent 4321232, 1982.
- [92] Gürol, C., Ekinici, F.Y., Aslan, N., Korachi, M., Low Temperature Plasma for decontamination of E. coli in milk, *International Journal of Food Microbiology*, 157(1), 1–5, 2012.
- [93] Saremnezhad, S., Soltani, M., Faraji, A., Hayaloglu, A.A. Chemical changes of food constituents during cold plasma processing, *Food Research International* 147 (2021) 110552
- [94] Misra, N.N., Keener, K.M., Bourke, P., Mosnier, J.P. and Cullen, P.J. 2014. In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of cherry tomatoes. *Journal of Bioscience And Bioengineering*, 118(2), 177-182.
- [95] von Woedtke T., Schmidt A., Bekeschus S., and Wende K. 2018. Introduction to plasma medicine: *Comprehensive Clinical Plasma Medicine*, Ed: Metelmann, H.M., von Woedtke, T., Weltmann, K.D., Springer, Berlin, Germany, pp: 3-21.
- [96] Singh, S., Chandra, R., Tripathi, S., Rahman, H., Tripathi, P., Jain, A. and Gupta, P. 2014. The bright future of dentistry with cold plasma—review. *J Dent Med Sci*, 13, 6-13.

- [97] Han, Y., Cheng, J. H. and Sun, D. W. 2019. Activities and conformation changes of food enzymes induced by cold plasma: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(5), 794-811.
- [98] Bogaerts, A. and Neyts, E. C. 2018. Plasma technology: an emerging technology for energy storage. *ACS Energy Letters*, 3(4), 1013-1027.
- [99] Laroussi, M. and Leipold, F. 2004. Evaluation of the roles of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure. *International Journal of Mass Spectrometry*, 233(1-3), 81-86.
- [100] Daeschlein, G. 2018. Antimicrobial activity of plasma. *Comprehensive Clinical Plasma Medicine*. Ed: Metelmann H.R., Woedtke T.V. and Weltmann K.D., Springer, Cham, pp: 113-125.
- [101] Whitehead, J.C. 2016. *The Chemistry of Cold Plasma: Cold Plasma in Food and Agriculture: Fundamentals and Applications*, Ed: Misra, N.N., Schlüter, O.K., Cullen, P.J., Academic Press, Elsevier, London, United Kingdom, pp: 53-78.
- [102] Uhm, H.S. 2015. Generation of various radicals in nitrogen plasma and their behavior in media. *Physics of Plasmas*, 22(12), 123506.
- [103] Bourke, P., Ziuzina, D., Han, L., Cullen, P. J. and Gilmore, B. F. 2017. Microbiological interactions with cold plasma. *Journal of Applied Microbiology*, 123(2), 308-324.
- [104] Lu, H., Patil, S., Keener, K. M., Cullen, P.J. and Bourke, P. 2014. Bacterial inactivation by high-voltage atmospheric cold plasma: influence of process parameters and effects on cell leakage and DNA. *Journal of applied microbiology*, 116(4), 784-794.
- [105] Natasa, H., Uros, C., Gabrijela, T., James, L. and Igor, K. (2017). Mycotoxin Decontamination of Food: Cold Atmospheric Pressure Plasma versus “Classic” Decontamination. *Toxins* 2017, 9, 151.
- [106] Ekezie, F. G. C., Cheng, J. H., & Sun, D. W. (2019). Effects of atmospheric pressure plasma jet on the conformation and physicochemical properties of myofibrillar proteins from king prawn (*Litopenaeus vannamei*). *Food Chemistry*, 276, 147–156.
- [107] Mandal, R., Singh, A., & Pratap Singh, A. (2018). Recent developments in cold plasma decontamination technology in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 93–103.
- [108] Surowsky, B., Schlüter, O., & Knorr, D. (2014). Interactions of nonthermal atmospheric pressure plasma with solid and liquid food systems: A review. *Food Engineering Reviews*, 7(2), 82–108.
- [109] Mir, S. A., Shah, M. A., & Mir, M. M. (2016). Understanding the role of plasma technology in food industry. *Food and Bioprocess Technology*, 9(5), 734–750.
- [110] Coutinho, N. M., Silveira, M. R., Rocha, R. S., Moraes, J., Ferreira, M. V. S., Pimentel, T. C., Freitas, M. Q., Silva, M. C., Raices, R. S. L., Ranadheera, C. S., Borges, F. O., Mathias, S. P., Fernandes, F. A. N., Rodrigues, S., & Cruz, A. G. (2018). Cold plasma processing of milk and dairy products. *Trends in Food Science & Technology*, 74, 56–68.

- [111] Pan, Y., Cheng, J. H., Lv, X., & Sun, D. W. (2019). Assessing the inactivation efficiency of Ar/O₂ plasma treatment against *listeria monocytogenes* cells: sublethal injury and inactivation kinetics. *Lwt*, 111, 318–327.
- [112] Schlüter, O., Ehlbeck, J., Hertel, C., Habermeyer, M., Roth, A., Engel, K.-H., Holzhauser, T., Knorr, D., & Eisenbrand, G. (2013). Opinion on the use of plasma processes for treatment of foods. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(5), 920–927.
- [113] Ademoyegun, O. T., Akin-idowu, P. E., Ibitoye, D. O., & Adewuyi, G. O. (2013). Phenolic contents and free radical scavenging activity in some leafy vegetables. *International Journal of Vegetable Science*, 19(2), 126–137.
- [114] Chen, Y.-Q., Cheng, J.-H., & Sun, D.-W. (2020). Chemical, physical and physiological quality attributes of fruit and vegetables induced by cold plasma treatment: Mechanisms and application advances. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(16), 2676–2690.
- [115] Muhammad, A. I., Xiang, Q., Liao, X., Liu, D., & Ding, T. (2018). Understanding the impact of nonthermal plasma on food constituents and microstructure—a review. *Food and Bioprocess Technology*, 11(3), 463–486.
- [116] Ekezie, F.-G. C., Cheng, J.-H., & Sun, D.-W. (2017). A review on recent advances in cold plasma technology for the food industry: Current applications and future trends. *Trends in Food Science & Technology*, 69, 46–58.
- [117] Guo, J., Huang, K., & Wang, J. (2015). Bactericidal effect of various nonthermal plasma agents and the influence of experimental conditions in microbial inactivation: A review. *Food Control*, 50, 482–490.
- [118] Van Durme, J., Nikiforov, A., Vandamme, J., Leys, C., De Winne, A., 2014. Accelerated lipid oxidation using non-thermal plasma technology: evaluation of volatile compounds. *Food Res. Int.* 62, 868–876.
- [119] Lee, J., Lee, C. W., Yong, H. I., Lee, H. J., Jo, C., & Jung, S. (2017). Use of atmospheric pressure cold plasma for the meat industry. In *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37 pp. 477–485). Korean Society for Food Science of Animal Resources. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.4.477>, 4. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].
- [120] Pan, Y., Cheng, J. H., & Sun, D. W. (2019). Cold plasma-mediated treatments for shelf life extension of fresh produce: A review of recent research developments. In *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 18 pp. 1312–1326). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12474>. Issue 5. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].
- [121] Tang, Y. Z., Lu, X. P., Laroussi, M., & Dobbs, F. C. (2008). Sublethal and killing effects of atmospheric pressure, Nonthermal plasma on eukaryotic microalgae in aqueous media. *Plasma Processes and Polymers*, 5(6), 552–558. <https://doi.org/10.1002/ppap.200800014>. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].
- [122] Tappi, S., Berardinelli, A., Ragni, L., Dalla Rosa, M., Guarnieri, A., & Rocculi, P. (2014). Atmospheric gas plasma treatment of fresh-cut apples. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 21, 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.09.012>. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].

- [123] Roy, S., Choudhury, B., Johnson, J., & Schindler-Tyka, A. (2021). The application of dielectric barrier discharge improves food shelf life and reduces spoilage. *Scientific Reports*, 11(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96887-3>. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].
- [124] Nasiru, M. M., Frimpong, E. B., Muhammad, U., Qian, J., Mustapha, A. T., Yan, W., Zhuang, H., & Zhang, J. (2021). Dielectric barrier discharge cold atmospheric plasma: Influence of processing parameters on microbial inactivation in meat and meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(3), 2626–2659. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12740>. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].
- [125] Hoffmann, C., Berganza, C., & Zhang, J. (2013). Cold atmospheric plasma: Methods of production and application in dentistry and oncology. *Medical Gas Research*, 3(21), 1–15. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-3-21>. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].
- [126] Ebnesajjad, S. (2012). Surface treatment of polyvinyl fluoride films and coatings. In *Polyvinyl fluoride: Technology and applications of PVF* (pp. 193–212). <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-7885-0.00008-9>. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].
- [127] Barros, J. H. T., Sampaio, U. M., Montenegro, F. M., Steel, C. J., Amorim Filho, J. de, & Clerici, M. T. P. S. (2022). Efeito do plasma nˆ ao t´ ermico nos nutrientes de alimentos e mat´ erias-primas ` a base de cereais. *Research, Society and Development*, 11(3), Article e15611326261. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i3.26261>. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].
- [128] Lebedev, Y. A. (2015). Microwave discharges at low pressures and peculiarities of the processes in strongly non-uniform plasma. *Plasma Sources Science and Technology*, 24 (5), Article 53001. <https://doi.org/10.1088/0963-0252/24/5/053001>. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].
- [129] Gong, X., Lin, Y., Li, X., Wu, A., Zhang, H., Yan, J., & Du, C. (2020). Decomposition of volatile organic compounds using gliding arc discharge plasma. *Journal of the Air and Waste Management Association*, 70(2), 138–157. <https://doi.org/10.1080/10962247.2019.1698476>. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].
- [130] Wang, T., Wang, J., Wang, S., Chen, S., Wang, X., Yang, W., Li, M., & Shi, L. (2022). Atmospheric micro-sized cold plasma jet created by a long and ultra-flexible generator with sputtered gold thin film electrode. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 32(9). <https://doi.org/10.1088/1361-6439/ac848a>. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].
- [131] Laroque, D. A., Se´ o, S. T., Valencia, G. A., Laurindo, J. B., & Carciofi, B. A. M. (2022). Cold plasma in food processing: Design, mechanisms, and application. In *Journal of Food Engineering*, 312Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110748>. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].
- [132] Yahaya, A. G., Okuyama, T., Kristof, J., Blajan, M. G., & Shimizu, K. (2021). Direct and indirect bactericidal effects of cold atmospheric-pressure microplasma and plasma jet. *Molecules*, 26(9), 13–18. <https://doi.org/10.3390/molecules26092523>. [Erişim tarihi: 28 Kasım 2024].
- [133] B. Surowsky, S. Buşler, O.K. Schluter, 2016. *Cold Plasma in Food and Agriculture*. Chapter 7; 97-199.

- [134] Xiong, Z., Du, T., Lu, X., Cao, Y., Pan, Y., 2011. How deep can plasma penetrate into a biofilm? *Appl. Phys. Lett.* 98 (22), 221503.
- [135] Pei, X., Lu, X., Liu, J., Liu, D., Yang, Y., Ostrikov, K., Pan, Y., 2012. Inactivation of a 25.5 μm *Enterococcus faecalis* biofilm by a room-temperature, battery-operated, handheld air plasma jet. *J. Phys. D. Appl. Phys.* 45 (16), 165205.
- [136] Møller, I.M., Jensen, P.E., Hansson, A., 2007. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 459–481.
- [137] Locke, B.R., Shih, K.-Y., 2011. Review of the methods to form hydrogen peroxide in electrical discharge plasma with liquid water. *Plasma Sources Sci. Technol.* 20 (3), 034006.
- [138] Williams, P.F., 1997. *Plasma Processing of Semiconductors*, vol. 336. Springer, N. York.
- [139] Lee KH, Kim H-J, Woo KS, Jo C, Kim J-K, Kim SH, ... Kim WH (2016) Evaluation of cold plasma treatments for improved microbial and physicochemical qualities of brown rice. *LWT* 73:442–447. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.055>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [140] Wiktor A, Hrycak B, Jasinski M, Rybak K, Kieliszek M, Krasniewska K, Witrowa-Rajchert D (2020) Impact of atmospheric pressure microwave plasma treatment on quality of selected spices. *Appl Sci-Basel* 10(19):6815. <https://doi.org/10.3390/app10196815>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [141] Cherry, J.R., Lamsa, M.H., Schneider, P., Vind, J., Svendsen, A., Jones, A., Pedersen, A.H., 1999. Directed evolution of a fungal peroxidase. *Nat. Biotechnol.* 17 (4), 379–384. <http://dx.doi.org/10.1038/7939>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [142] Levine, R.L., Mosoni, L., Berlett, B.S., Stadtman, E.R., 1996. Methionine residues as endogenous anti oxidants in proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96 (26), 15036–15040.
- [143] Basak S, Annapure US (2022) Recent trends in the application of cold plasma for the modification of plant proteins - A review. *Future Foods* 5:100119. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100119>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [144] Kopuk B, Gunes R, Palabiyik I (2022) Cold plasma modification of food macromolecules and effects on related products. *Food Chem* 382:132356. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132356>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [145] Rosell CM, Wang J, Aja S, Bean S, Lookhart G (2003) Wheat flour proteins as affected by transglutaminase and glucose oxidase. *Cereal Chem* 80(1):52–55. <https://doi.org/10.1094/cchem.2003.80.1.52>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [146] Misra NN, Kaur S, Tiwari BK, Kaur A, Singh N, Cullen PJ (2015) Atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment of wheat flour. *Food Hydrocolloids* 44:115–121. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.08.019>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [147] Zare L, Mollakhalili-Meybodi N, Fallahzadeh H, Arab M (2022) Effect of atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment on the technological characteristics of quinoa flour. *LWT-Food Sci Technol* 155:112898. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112898>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].

- [148] Bahrami N, Bayliss D, Chope G, Penson S, Pehinec T, Fisk ID (2016) Cold plasma: A new technology to modify wheat flour functionality. *Food Chem* 202:247–253. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.113>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [149] Zhang S, Huang W, Feizollahi E, Roopesh MS, Chen L (2021) Improvement of pea protein gelation at reduced temperature by atmospheric cold plasma and the gelling mechanism study. *Innov Food Sci Emerg Technol* 67:102567. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102567>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [150] Wollrab, A., 2009. *Organische Chemie*, vol. 3. Springer, Heidelberg, Germany. ISBN 978-3-642-00780-4.
- [151] Vatansever, F., De Melo, W.C., Avci, P., Vecchio, D., Sadasivam, M., Gupta, A., Tegos, G.P., 2013. Antimicrobial strategies centered around reactive oxygen species-bactericidal antibiotics, photodynamic therapy, and beyond. *FEMS Microbiol. Rev.* 37 (6), 955–989.
- [152] Van Durme, J., Nikiforov, A., Vandamme, J., Leys, C., De Winne, A., 2014. Accelerated lipid oxidation using non-thermal plasma technology: evaluation of volatile compounds. *Food Res. Int.* 62, 868–876.
- [153] Vandamme, J., Nikiforov, A., Dujardin, K., Leys, C., De Cooman, L., Van Durme, J., 2015. Critical evaluation of non-thermal plasma as an innovative accelerated lipid oxidation technique in fish oil. *Food Res. Int.* 72, 115–125.
- [154] Choi S, Puligundla P, Mok C (2017) Effect of corona discharge plasma on microbial decontamination of dried squid shreds including physico-chemical and sensory evaluation. *LWT* 75:323–328. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.063>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [155] Lee KH, Woo KS, Yong HI, Jo C, Lee SK, Lee BW, Kim H-J (2018) Assessment of microbial safety and quality changes of brown and white cooked rice treated with atmospheric pressure plasma. *Food Sci Biotechnol* 27(3):661–667. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0297-6>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [156] Foligni R, Mannozi C, Ismaiel L, Capelli F, Laurita R, Tappi S, ... Mozzon M (2022) Impact of cold atmospheric plasma (CAP) treatments on the oxidation of pistachio kernel lipids. *Foods* 11(3):419. <https://doi.org/10.3390/foods11030419>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [157] Gavahian, M., Chu, Y.-H., Khaneghah, A. M., Barba, F. J., & Misra, N. N. (2018). A critical analysis of the cold plasma- induced lipid oxidation in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 77, 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.04.009>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [158] Smirnoff, N., Cumbes, Q.J., 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phyto chemistry* 28 (4), 1057–1060.
- [159] Shen, B.O., Jensen, R.G., Bohnert, H.J., 1997. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants by targeting mannitol biosynthesis to chloroplasts. *Plant Physiol.* 113 (4), 1177–1183.

- [160] Okyere AY, Rajendran S, Annor GA (2022) Cold plasma technologies: Their effect on starch properties and industrial scale-up for starch modification. *Curr Res Food Sci* 5:451–463. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.02.007>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [161] Ge X, Shen H, Su C, Zhang B, Zhang Q, Jiang H, Li W (2021) The improving effects of cold plasma on multi-scale structure, physicochemical and digestive properties of dry heated red adzuki bean starch. *Food Chem* 349:129159. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129159>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [162] Sun X, Sun Z, Guo Y, Zhao J, Zhao J, Ge X, Yan W (2021) Effect of twin-screw extrusion combined with cold plasma on multi-scale structure, physicochemical properties, and digestibility of potato starches. *Innov Food Sci Emerg Technol* 74:102855. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102855>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [163] Wu T-Y, Chang C-R, Chang T-J, Chang Y-J, Liew Y, Chau C-F (2019) Changes in physicochemical properties of corn starch upon modifications by atmospheric pressure plasma jet. *Food Chem* 283:46–51. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.043>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [164] Chaple S, Sarangapani C, Jones J, Carey E, Causeret L, Genson A, ... Bourke P (2020) Effect of atmospheric cold plasma on the functional properties of whole wheat (*Triticum aestivum* L.) grain and wheat flour. *Innov Food Sci Emerg Technol* 66: Article 102529. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102529>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [165] Bie P, Pu H, Zhang B, Su J, Chen L, Li X (2016) Structural characteristics and rheological properties of plasma-treated starch. *Innov Food Sci Emerg Technol* 34:196–204. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.11.019>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [166] Alves Filho EG, Silva LMA, Oiram Filho F, Rodrigues S, Fernandes FAN, Gallao MI, ... de Brito ES (2019) Cold plasma processing effect on cashew nuts composition and allergenicity. *Food Res Int* 125:108621. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108621>. [Erişim tarihi: 31 Mayıs 2024].
- [167] Wang, S.Y., Jiao, H., 2000. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J. Agric. Food Chem.* 48 (11), 5677–5684.
- [168] Halliwell, B., 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 141 (2), 312–322.
- [169] Niki, E., 2014. Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxyl radical scavenger: in vitro and in vivo evidence. *Free Radic. Biol. Med.* 66, 3–12.
- [170] Faraji, H., Lindsay, R.C., 2004. Characterization of the antioxidant activity of sugars and polyhydric alcohols in fish oil emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 52 (23), 7164–7171.
- [171] Attri, P., Choi, E.H., 2013. Influence of reactive oxygen species on the enzyme stability and activity in the presence of ionic liquids. *PLoS ONE.* 8, e75096.
- [172] Pankaj, S.K., Bueno-Ferrer, C., Misra, N.N., Milosavljevic, V., O'Donnell, C.P., Bourke, P., 2014. Applications of cold plasma technology in food packaging. *Trends Food Sci. Technol.* 35 (1), 5–17.

- [173] Desmet, T., Morent, R., Geyter, N.D., Leys, C., Schacht, E., Dubruel, P., 2009. Nonthermal plasma technology as a versatile strategy for polymeric biomaterials surface modification: a review. *Biomacro molecules* 10 (9), 2351–2378.
- [174] Misra, N.N., Kaur, S., Tiwari, B.K., Kaur, A., Singh, N., Cullen, P.J., 2015. Atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment of wheat flour. *Food Hydrocoll.* 44, 115–121. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.08.019>. [Erişim tarihi: 07 Temmuz 2024].
- [175] Morent, R., De Geyter, N., Desmet, T., Dubruel, P., Leys, C., 2011. Plasma surface modification of biodegradable polymers: a review. *Plasma Process. Polym.* 8 (3), 171–190.
- [176] De Geyter, N., Morent, R., Leys, C., Gengembre, L., Payen, E., 2007. Treatment of polymer films with a dielectric barrier discharge in air, helium and argon at medium pressure. *Surf. Coat. Technol.* 201 (16), 7066–7075.
- [177] Fricke, K., Steffen, H., Von Woedtke, T., Schröder, K., Weltmann, K.D., 2011. High rate of etching of polymers by means of an atmospheric pressure plasma jet. *Plasma Process. Polym.* 8, 51–58.
- [178] Grzegorzewski, F., Rohn, S., Kroh, L.W., Geyer, M., Schlüter, O., 2010. Surface morphology and chemical composition of lamb's lettuce (*Valerianella locusta*) after exposure to a low-pressure oxygen plasma. *Food Chem.* 122, 1145–1152.
- [179] Bormashenko, E., Grynyov, R., Bormashenko, Y., Drori, E., 2012. Cold radio frequency plasma treatment modifies the wettability and germination speed of plant seeds. *Sci. Rep.* 2, 741. <http://dx.doi.org/10.1038/srep00741>. [Erişim tarihi: 07 Temmuz 2024].
- [180] Haenen, G.R., Paquay, J.B., Korthouwer, R.E., Bast, A., 1997. Peroxynitrite scavenging by flavonoids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 236, 591.
- [181] Hu, J.P., Calomme, M., Lasure, A., De Bruyne, T., Pieters, A., Vlietinck, A., Vanden Berghe, D.A., 1995. Structure-activity relationship of flavonoids with superoxide scavenging activity. *Biol. Trace Elem. Res.* 47, 327.
- [182] Chen, H.H., 2013. Investigation of properties of long-grain brown rice treated by low-pressure plasma. *Food Bioprocess Technol.* 7 (9), 2484–2491. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-013-1217-2>. [Erişim tarihi: 07 Temmuz 2024].
- [183] Thirumdas, R., Deshmukh, R.R., Annapure, U.S., 2015. Effect of low temperature plasma processing on physicochemical properties and cooking quality of basmati rice. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 31, 83–90. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2015.08.003>. [Erişim tarihi: 07 Temmuz 2024].
- [184] Chittrakorn, S., 2008. Use of Ozone as an Alternative to Chlorine for Treatment of Softwheat Flours. *Kansas State University, Manhattan*.
- [185] Misra, N.N., Sullivan, C., Pankaj, S.K., Alvarez-Jubete, L., Cama, R., Jacoby, F., Cullen, P.J., 2014. Enhancement of oil spreadability of biscuit surface by nonthermal barrier discharge plasma. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 26, 456–461. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2014.10.001>. [Erişim tarihi: 07 Temmuz 2024].

- [186] D'Angelo, D., 2010. Plasma-surface Interaction. In: Rauscher, H., Perucca, M., Buyle, G. (Eds.), *Plasma technology for Hyperfunctional Surfaces: Food, Biomedical and Textile Applications*. Wiley, Weinheim.
- [187] Grunert, K.G., 2005. Food quality and safety: consumer perception and demand. *Eur. Rev. Agric. Econ.* 32, 369–391.
- [188] Pankaj, S.K., Wan, Z.F., Keener, K.M., 2018. Effects of cold plasma on food quality: a review. *FOODS* 7 (1), 4.
- [189] Iqdam, B.M., Feizollahi, E., Arif, M.F., Jeganathan, B., Vasanthan, T., Thilakarathna, M. S., Roopesh, M.S., 2021. Reduction of T-2 and HT-2 mycotoxins by atmospheric cold plasma and its impact on quality changes and germination of wheat grains. *J. FOOD Sci.* 86, 1354–1371.
- [190] Hu, X.X., Sun, H., Yang, X.D., Cui, D.J., Jiao, Z., 2021. Potential use of atmospheric cold plasma for postharvest preservation of blueberries. *Postharvest. Biol. Technol.* 179, 111564.
- [191] Hojnik, N., Modic, M., Walsh, J.L., Zigon, D., Javornik, U., Plavec, J., Zegura, B., Filipic, M., Cvelbar, U., 2021. Unravelling the pathways of air plasma induced aflatoxin B₁ degradation and detoxification. *J. Hazard. Mater.* 403, 123593.
- [192] Zhao, L., Wang, J., Sheng, X., Li, S., Yan, W., Qian, J., et al. (2023). Non-thermal plasma inhibited the growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus*, degraded aflatoxin B₁, and its potential mechanisms. *Chem. Eng. J.* 475:146017. doi: 10.1016/j.cej.2023.146017
- [193] Wang, Y., Zheng, Y., Wang, J., Mu, L., Zhang, W., Huang, M., et al. (2024). Effect of plasma on ochratoxin degradation and raisin properties. *J. Food Eng.* 375:112051. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2024.112051
- [194] Chen, X., Qiu, Y., Zhang, J., Guo, Y., Ding, Y., and Lyu, F. (2022). Degradation efficiency and products of deoxynivalenol treated by cold plasma and its application in wheat. *Food Control* 136:108874. doi: 10.1016/j.foodcont.2022.108874
- [195] Wang, S.Q., Huang, G.Q., Li, Y.P., Xiao, J.X., Zhang, Y., Jiang, W.L., 2015. Degradation of aflatoxin B₁ by low-temperature radio frequency plasma and degradation product elucidation. *Eur. FOOD Res. Technol.* 241, 103–113.
- [196] Siciliano, I., Spadaro, D., Prella, A., Vallauri, D., Cavallero, M.C., Garibaldi, A., Gullino, M.L., 2016. Use of cold atmospheric plasma to detoxify hazelnuts from aflatoxins. *TOXINS* 8, 125.
- [197] Puligundla, P., Lee, T., Mok, C., 2020. Effect of corona discharge plasma jet treatment on the degradation of aflatoxin B₁ on glass slides and in spiked food commodities. *LWT-FOOD Sci. Technol.* 124, 108333.
- [198] Sakudo, A., Toyokawa, Y., Misawa, T., Imanishi, Y., 2017. Degradation and detoxification of aflatoxin B₁ using nitrogen gas plasma generated by a static induction thyristor as a pulsed power supply. *Food Control* 73, 619–626.

- [199] Dickenson, A., Britun, N., Nikiforov, A., Leys, C., Hasan, M.I., Walsh, J.L., 2018. The generation and transport of reactive nitrogen species from a low temperature atmospheric pressure air plasma source. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 20, 28499–28510.
- [200] Shi, H., Ilegeji, K., Strohshine, R.L., Keener, K., Jensen, J.L., 2017. Reduction of aflatoxin in corn by high voltage atmospheric cold plasma. *FOOD BIOPROCESS Technol.* 10, 1042–1052.
- [201] Joh, H.M., Choi, J.Y., Kim, S.J., Chung, T.H., Kang, T.H., 2014. Effect of additive oxygen gas on cellular response of lung cancer cells induced by atmospheric pressure helium plasma jet. *Sci. Rep.* 4, 6638.
- [202] Feizollahi, E., Iqdiham, B., Vasanthan, T., Thilakarathna, M.S., Roopesh, M.S., 2020. Effects of atmospheric-pressure cold plasma treatment on deoxynivalenol degradation, quality parameters, and germination of barley grains. *Appl. Sci.-BASEL* 10, 3530.
- [203] Butscher, D., Van Loon, H., Waskow, A., von Rohr, P.R., Schuppler, M., 2016. Plasma inactivation of microorganisms on sprout seeds in a dielectric barrier discharge. *Int. J. FOOD Microbiol.* 238, 222–232.
- [204] Du, M., Hu, H., Zhu, Y., Ma, R., Jiao, Z., 2020. A comparative study of the major antimicrobial agents against the yeast cells on the tissue model by helium and air surface micro-discharge plasma. *AIP Adv.* 10, 025036.
- [205] Ten Bosch, L., Pfohl, K., Avramidis, G., Wieneke, S., Viöl, W., Karlovsky, P., 2017. Plasma-based degradation of mycotoxins produced by fusarium, aspergillus and alternaria species. *Toxins* 9, 97.
- [206] Shang, K.F., Wang, X.J., Li, J., Wang, H., Lu, N., Jiang, N., Wu, Y., 2017. Synergetic degradation of acid orange 7 (AO7) dye by DBD plasma and persulfate. *Chem. Eng. J.* 311, 378–384.
- [207] Liu, D.X., Liu, Z.C., Chen, C., Yang, A.J., Li, D., Rong, M.Z., Chen, H.L., Kong, M.G., 2016. Aqueous reactive species induced by a surface air discharge: heterogeneous mass transfer and liquid chemistry pathways. *Sci. Rep.* 6, 23737.
- [208] Zhou, R.W., Zhou, R.S., Prasad, K., Fang, Z., Speight, R., Bazaka, K., Ostrikov, K., 2018. Cold atmospheric plasma activated water as a prospective disinfectant: the crucial role of peroxyxynitrite. *Green Chem.* 20, 5276–5284.
- [209] Feizollahi, E., Misra, N.N., Roopesh, M.S., 2021. Factors influencing the antimicrobial efficacy of dielectric barrier discharge (DBD) atmospheric cold plasma (ACP) in food processing applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 61, 666–689.
- [210] Neuenfeldt, N.H., Silva, L.P., Pessoa, R.S., Rocha, L.O., 2023. Cold plasma technology for controlling toxigenic fungi and mycotoxins in food. *Curr. Opin. Food Sci.* 52, 101045.
- [211] Mengjie Liua, Junxia Fengd, Xudong Yanga, Bo Yua, Jie Zhuange, Hangbo Xua, Qisen Xiangc, Ruonan Maa, Zhen Jiaoa, (2024). Recent advances in the degradation efficacy and mechanisms of mycotoxins in food by atmospheric cold plasma. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 270, 115944.

- [212] Manon, S., Thomas, M., Juslan, L., Philippe, G., Cristina, M. Bread wheat (*Triticum aestivum* L.) fungal and mycotoxin contamination control enhanced by a dual-frequency cold plasma * Food Control, Volume 163, September 2024, 110477
- [213] Jian, G., Zhiping, H., Chao, M., Wanting, L., Jiaoyu, W., Fucheng, L., Xingquan, L., Ling, L. Evaluation of cold plasma for decontamination of molds and mycotoxins in rice grain. Food Chemistry, Volume 402, 15 February 2023, 134159
- [214] Leila, T.M., Anousheh, S., Kobra, H., Hossein, B. In Vitro Bioaccessibility, Cytotoxicity Against Liver Cells and Degradation Modeling Aflatoxin B1 in Bread by Cold Atmospheric Pressure Plasma. 2024. Food and Bioprocess Technology. <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03532-8>. [Erişim tarihi: 07 Temmuz 2024].
- [215] Ai, Z., Shanshan, S., Qi, L., Fei, S., Xueming, H., Yong, F., Qiuhui, H., Xuesong, J. Aflatoxins degradation and quality evaluation in naturally contaminated rice by dielectric barrier discharge cold plasma. Innovative Food Science & Emerging Technologies. Volume 88, August 2023, 103426
- [216] Luling, Z., Jin, W., Xiaowei, S., Shanrui, L., Wenjing, Y., Jing, Q., Jianhao, Z., Vijaya, R. Non-thermal plasma inhibited the growth and aflatoxins production of *Aspergillus flavus*, degraded aflatoxin B1 and its potential mechanisms. Chemical Engineering Journal, Volume 475, 1 November 2023, 146017
- [217] Palabiyik, İ., Kopuk, B., Konar, N., Toker, O.S. (2023). Investigation of cold plasma technique as an alternative to conventional alkalization of cocoa powders. Innovative Food Science & Emerging Technologies, Volume 88, 103440
- [218] TS EN ISO 712, Tahıl ve tahıl ürünleri-Rutubet muhtevası tayini- Referans yöntem, 2012.
- [219] TS EN ISO 11085, Tahıllar, tahıl bazlı ürünler ve hayvan yemleri - Randall özütlemesi yöntemiyle ham yağ ve toplam yağ tayini, 2016
- [220] TS EN ISO 660, Hayvansal ve bitkisel katı ve sıvı yağlar - Asit sayısı ve asitlik tayini, 2020
- [221] TS 894, Yemeklik bitkisel yağlar-Muayene metodları, 1970
- [222] Yemlerin Resmi kontrolü İçin Numune Alma ve Analiz Metotlarına Dair Yönetmelik 21.01.2017 tarih ve 29955 sayılı resmi gazete, 2017
- [223] TS 6932. Gıda maddelerinde ham selüloz tayini-Genel metot (2022).
- [224] TS EN ISO 2171. Tahıllar, baklagiller ve yan ürünleri - Yakılarak kül muhtevasının tayini (2023).
- [225] AOAC 991.31, Aflatoxins in corn,Raw peanuts,and Peanut butter. Immunoaffinity column (aflatest) method, 2002
- [226] AOAC 2000.03, Ochratoxin A in barley. Immunoaffinity column HPLC, 2000
- [227] İşletme İçi Metot “ATMT009” (R-Biopharm Rhone Ltd Ref No:A1-RP91.V5 Date:October 2009), 2009.

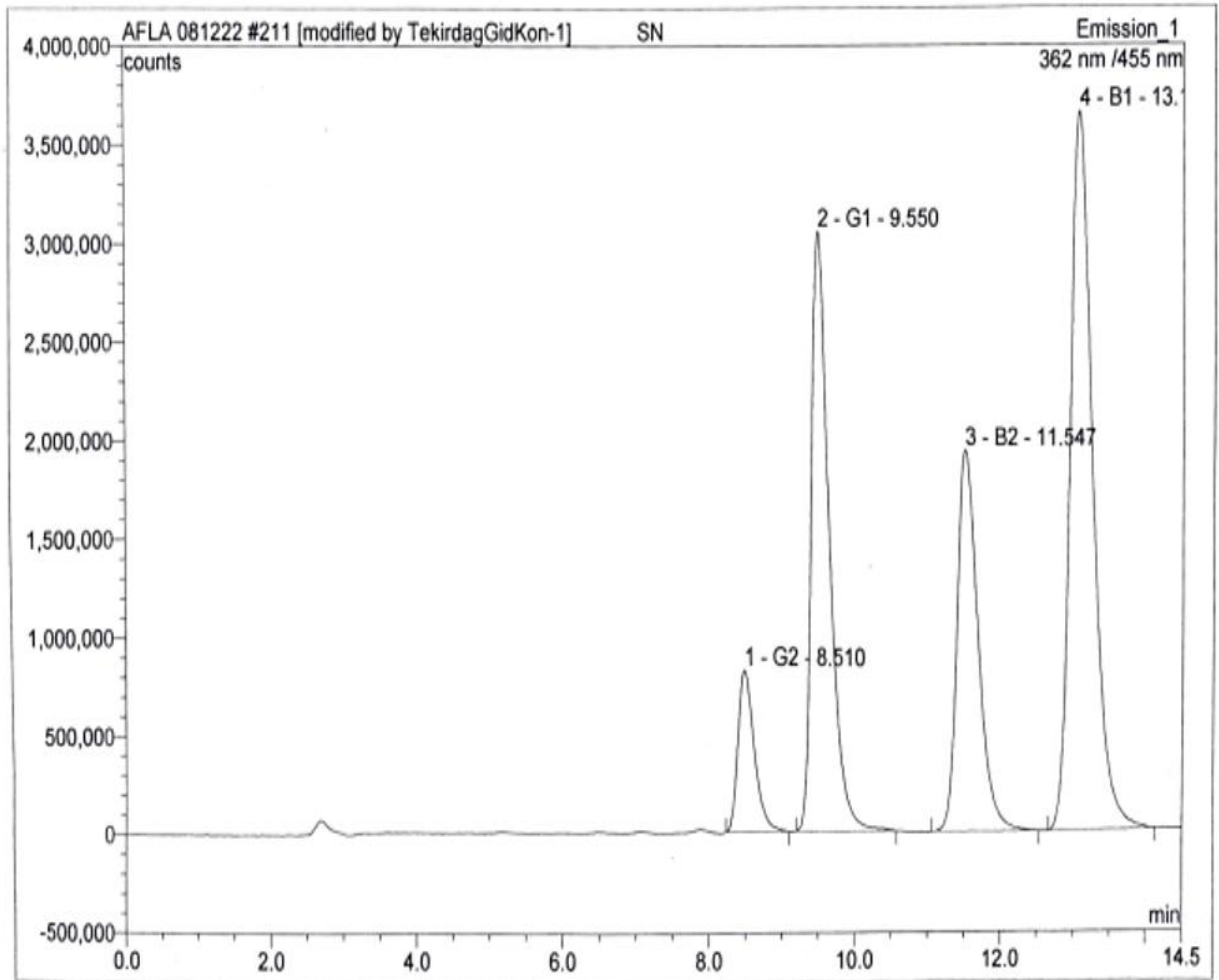
- [228] İşletme İçi Metot “ATMT010” (R-Biopharm Cereal Deoksinivalenol extraction method Ref No:A1-P50.V1, Nisan 2003), 2003.
- [229] AOAC 2001.04, Fumonisin B1 and B2 in corn and corn flakes. Liquid chromatography with immunoaffinity column cleanup, 2001.
- [230] NMKL No:186 – Trace Elements – As, Cd, Hg, Pb and Other Elements. Determination by ICP-MS After Pressure Digestion, 2007.
- [231] ISO 10993-5, Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity, 2010.
- [232] Sen, Y., “Atmosferik Basınç Plazma Uygulamasının Gıdaların Dekontaminasyonu Ve Detoksifikasyonu Amacıyla Kullanımı”, Doktora tezi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 2015.
- [233] Shi, H., Cooper, B., Stroshine, R. L., Iileleji, K. E., & Keener, K. M. (2017). Structures of degradation products and degradation pathways of aflatoxin B1 by high-voltage atmospheric cold plasma (HVACP) treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(30), 6222–6230.
- [234] 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. <https://doi.org/10.3390/toxins13060399>. [Erişim tarihi: 07 Temmuz 2024].
- [235] Makari, M., Hojjati, M., Shahbazi, S., & Askari, H. (2021). Elimination of *Aspergillus flavus* from Pistachio Nuts with Dielectric Barrier Discharge (DBD) Cold Plasma and Its Impacts on Biochemical Indices. *Journal of Food Quality*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/9968711>. [Erişim tarihi: 07 Temmuz 2024].
- [236] Mohammad, B., Marianne, N., Brijesh, K., Tiwari, M. Chemical and physical changes induced by cold plasma treatment of foods: A critical review (2024). DOI: 10.1111/1541-4337.13376
- [237] Jian, G., Zhiping, H., Chao, M., Wanting, L., Jiaoyu, W., Fucheng, L., Xingquan, L., Ling, L. Evaluation of cold plasma for decontamination of molds and mycotoxins in rice grain. *Food Chemistry*, Volume 402, 15 February 2023, 134159
- [238] Ouf, S. A., Basher, A. H., & Mohamed, A. A. (2015). Inhibitory effect of double atmospheric pressure argon cold plasma on spores and mycotoxin production of *Aspergillus niger* contaminating date palm fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(15), 3204–3210.
- [239] Lan, W., Xia, H., Jie, S., Ninghao, J., Ting, J., Bing, L., Lijun, L., Yun, C. Ochratoxin A: Occurrence and recent advances in detoxification. *Toxicon* Vol.210, 2022, Pages 11-18
- [240] Sonal, C., Chaitanya, S., Annaik, G., Brendan, D., John, J., Paula, B., Lucie, C. (2020). Effect of atmospheric cold plasma on the functional properties of whole wheat (*Triticum aestivum* L.) grain and wheat flour. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 66.
- [241] Amanda, C.D.O., Sher, A., Carlos, H.C., Sana, U., Karina, N.P., James, L.W., Natasa, H., Carlos, A.F.O. Application of cold atmospheric plasma for decontamination of toxigenic

- fungi and mycotoxins: a systematic review. *Front. Microbiol.*, 03 January 2025. Volume 15-2024, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1502915>. [Erişim tarihi: 07 Temmuz 2024].
- [242] Mengjie, L., Junxia, F., Yongqin, F., Xudong, Y., Ruike, C., Cui, X., Hangbo, X., Dongjie, C., Ruixue, W., Zhen, J., Ruonan, M. Application of atmospheric cold plasma for zearalenone detoxification in cereals: Kinetics, mechanisms, and cytotoxicity analysis. *Journal of Advanced Research*. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2024.04.024>. [Erişim tarihi: 07 Temmuz 2024].
- [243] Ruonan, M., Yongqin, F., Xudong, Y., Chunli, L., Junhu, W., Cui, X., Ruixue, W., Junxia, F., Zhen, J. Detoxification of DON-induced hepatotoxicity in mice by cold atmospheric plasma. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Volume 280, 15 July 2024, 116547.
- [244] Ott, L.C., Appleton, H.J., Shi, H., Keener, K., Mellata, M., 2021. High voltage atmospheric cold plasma treatment inactivates *Aspergillus flavus* spores and deoxynivalenol toxin. *FOOD MICROBIOL* 95, 103669.
- [245] Yongqin, F., Junxia, F., Xudong, Y., Ruike, C., Dongjie, C., Chunli, L., Hangbo, X., Qisen, X., Zhen, J., Ruonan, Ma. Cold atmospheric plasma degradation of deoxynivalenol in solid and liquid phases and its effect on whole wheat flour quality. *LWT*, Volume 211, 1 November 2024, 116920
- [246] Min, Z., Zhumiao, Y., Changrui, X., HongJuan, C., Jianhao, Z., Wenjing, Y. Degradation of deoxynivalenol in wheat by double dielectric barrier discharge cold plasma: identification and pathway of degradation products. 21 January 2023. DOI 10.1002/jsfa.12393.
- [247] Samandeep, K., Yogesh, K., Vikrant, S., Jasmeen, K., Parmjit, S. Cold plasma technology: Reshaping food preservation and safety. *Food Control*, Volume 163, September 2024, 110537.
- [248] Lan, W., Xia, H., Jie, S., Ninghao, J., Ting, J., Bing, L., Lijun, L., Yun, C. Ochratoxin A: Occurrence and recent advances in detoxification. *Toxicon* Vol. 210, 2022, Pages 11-18
- [249] Bong, P., Kosuke, T., Yoshiko, S., Hwi, K., Mi-Hee, L., Dong-Wook, H., Kie-Hyung, C., Soon, H., Jong-Chul, P. (2007). Degradation of mycotoxins using microwave-induced argon plasma at atmospheric pressure. *Surface & Coatings Technology* 201, 5733–5737
- [250] Xu, C., Liu, M., Fan, Y., Cui, D., Xu, H., Ma, R. Application of atmospheric cold plasma for zearalenone detoxification in cereals: Kinetics, mechanisms, and cytotoxicity analysis. Published in: *IEEE International Conference on Plasma Science (ICOPS)*. 16-20 June 2024.
- [251] Stefania, S., Mario, M., Miriam, H., Biancamaria, C., Eloisa, S., Pietro, F., Fabio, P., Marianna, R., Antonio, M. Decontamination of maize kernels and degradation of mycotoxins by means of cold plasmas.. *LWT*, Volume 215, 1 January 2025, 117205
- [252] Leila, T.M., Anousheh, S., Kobra, H., Hossein, B. In Vitro Bioaccessibility, Cytotoxicity Against Liver Cells and Degradation Modeling Aflatoxin B1 in Bread by Cold Atmospheric Pressure Plasma. 2024. *Food and Bioprocess Technology*. <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03532-8>. [Erişim tarihi: 07 Temmuz 2024].
- [253] Luling, Z., Jin, W., Xiaowei, S., Shanrui, L., Wenjing, Y., Jing, Q., Jianhao, Z., Vijaya, R. Non-thermal plasma inhibited the growth and aflatoxins production of *Aspergillus flavus*,

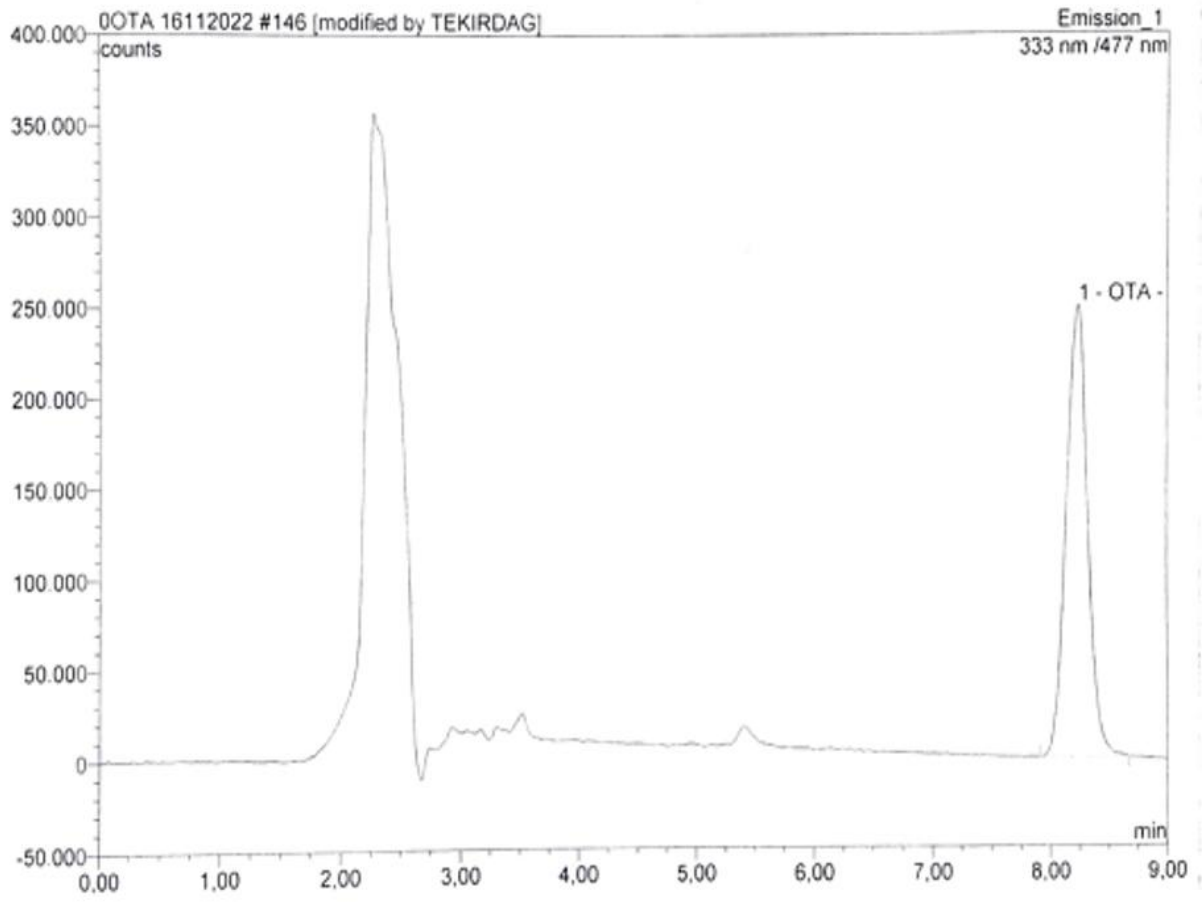
degraded aflatoxin B1 and its potential mechanisms. *Chemical Engineering Journal*, Volume 475, 1 November 2023, 146017

- [254] Yan, W., Jie, S., Ming, C., Yang, L., Kai, Y. Detoxification of mycotoxins in agricultural products by non-thermal physical technologies: a review of the past five years. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Published online: 06 Jul 2022. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2095554>. [Erişim tarihi: 07 Temmuz 2024].
- [255] Lars, T. B., P. Katharina, A. Georg, W. Stephan, V. Wolfgang, and K. Petr. 2017. Plasma-based degradation of mycotoxins produced by *Fusarium*, *Aspergillus* and *Alternaria* species. *Toxins* 9:97–108. doi: 10.3390/toxins9030097.
- [256] Wang, X., S. Wang, Y. Yan, W. Wang, L. Zhang, and W. Zong. 2020. The degradation of *Alternaria* mycotoxins by dielectric barrier discharge cold plasma. *Food Control* 117:107333. doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107333.
- [257] Nishimwe, K., I. Agbemafle, M. B. Reddy, K. M. Keener, and D. E. Maier. 2021. Cytotoxicity assessment of aflatoxin B1 after high voltage atmospheric cold plasma treatment. *Toxicon* 194:17–22. doi: 10.1016/j.toxicon.2021.02.008.
- [258] Puligundla, P., J. W. Kim, and C. Mok. 2017. Effect of corona discharge plasma jet treatment on decontamination and sprouting of rapeseed (*Brassica napus* L.) seeds. *Food Control* 71:376–82. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.07.021.
- [259] De Vi, Y., R. Thirumdas, C. Sarangapani, R. R. De Shmukh, and U. S. Annapure. 2017. Influence of cold plasma on fungal growth and aflatoxins production on groundnuts. *Food Control* 77:187–91. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.02.019.
- [260] Sen, Y., B. Onal-Ulusoy, and M. Mutlu. 2019. Detoxification of hazel nuts by different cold plasmas and gamma irradiation treatments. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 54:252–9. doi: 10.1016/j.ifset.2019.05.002.
- [261] Hojnik, N., Modic, M., Tavcar-Kalcher, G., Babic, J., Walsh, J.L., Cvelbar, U., 2019. Mycotoxin decontamination efficacy of atmospheric pressure air plasma. *Toxins* 11, 219.
- [262] Durek, J., O. Schlüter, A. Roscher, P. Durek, and A. Fröhling. 2018. Inhibition or stimulation of ochratoxin A synthesis on inoculated barley triggered by diffuse coplanar surface barrier discharge plasma. *Frontiers in Microbiology* 9:2782. doi: 10.3389/fmicb.2018.02782.
- [263] Kříž, P., Bartoš, P., Havelka, Z., Kadlec, J., Olšan, O., Špatenka, P., Dienstbier, M. Influence of Plasma Treatment in Open Air on Mycotoxin Content and Grain Nutrients. *Plasma Med.* 2015, 5(2–4), 145–158. DOI: 10.1615/PlasmaMed.2016015752
- [264] Spadaro, D., Garibaldi, A., Prella, A., Vallauri, D., Siciliano, I., Cavallero, M. C., Gullino, M. L. Efficacy of Cold Plasma in the Reduction of Aflatoxins on Hazelnuts. *J. PLANT Pathol.* 2015, 97, 23. DOI: 10.4454/JPP.V97I4SUP.005.
- [265] Ren, C. R., Xiao, J. X., Wang, S. Q., Jiang, W. L., Zhang, Y., Liu, Z. Effect of Peanut Components on the Degradation of Aflatoxin B1 Treated by Atmospheric Pressure Plasma. *Sci. Technol. Cereal. Oils Foods.* 2017, 2, 7.

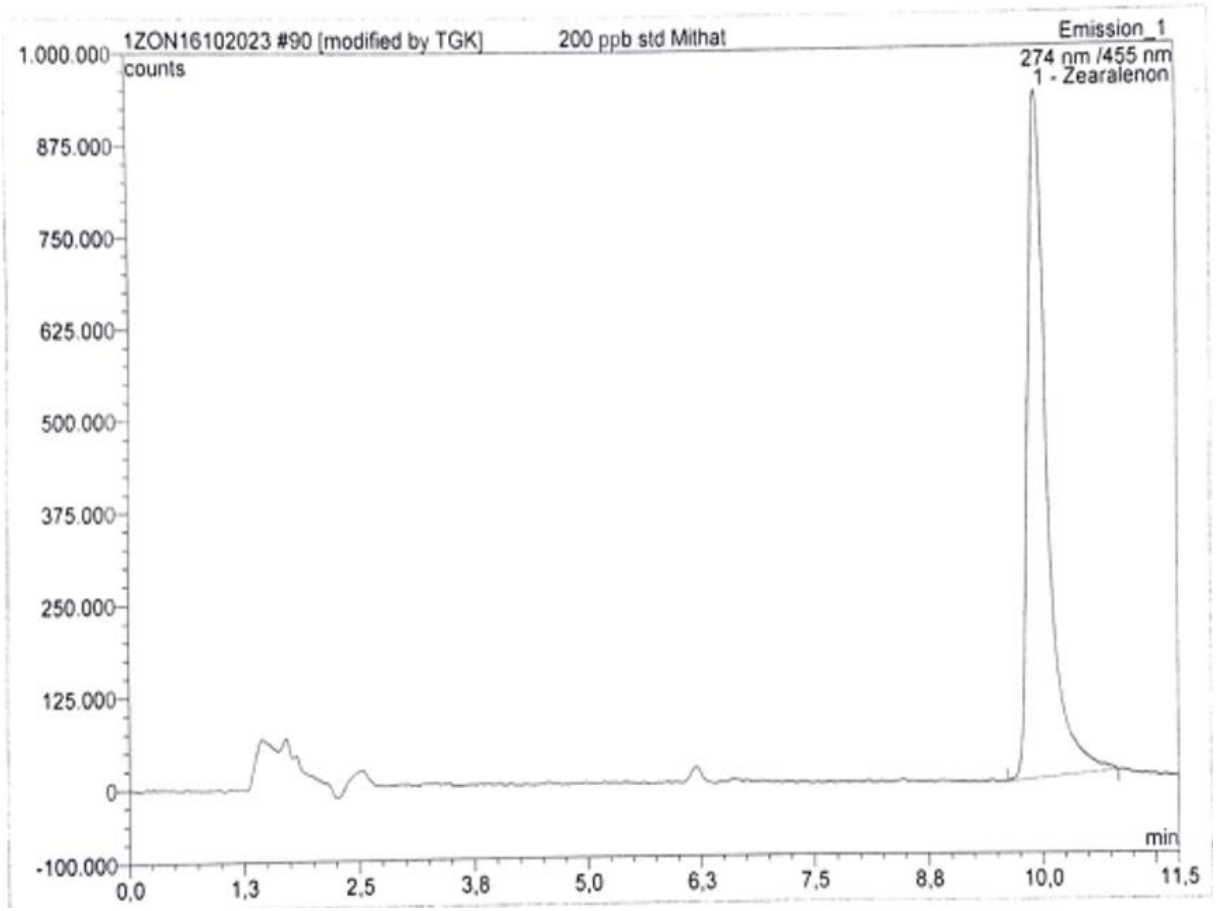
EK-1. AFLATOKSİN HPLC KROMATOGRAM ÇIKTISI



EK-2. OKRATOKSİN A HPLC KROMATOGRAM ÇIKTISI

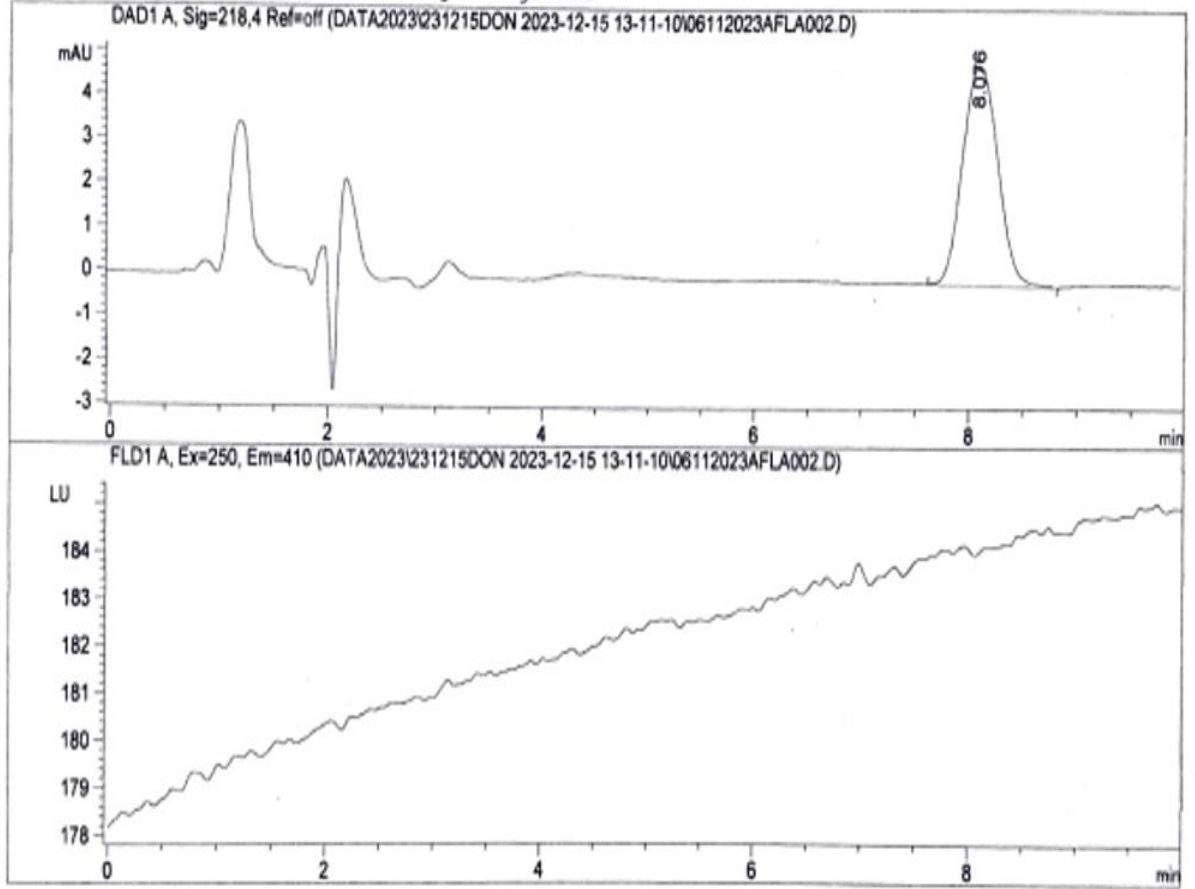


EK-3. ZEARALENON HPLC KROMATOGRAM ÇIKTISI

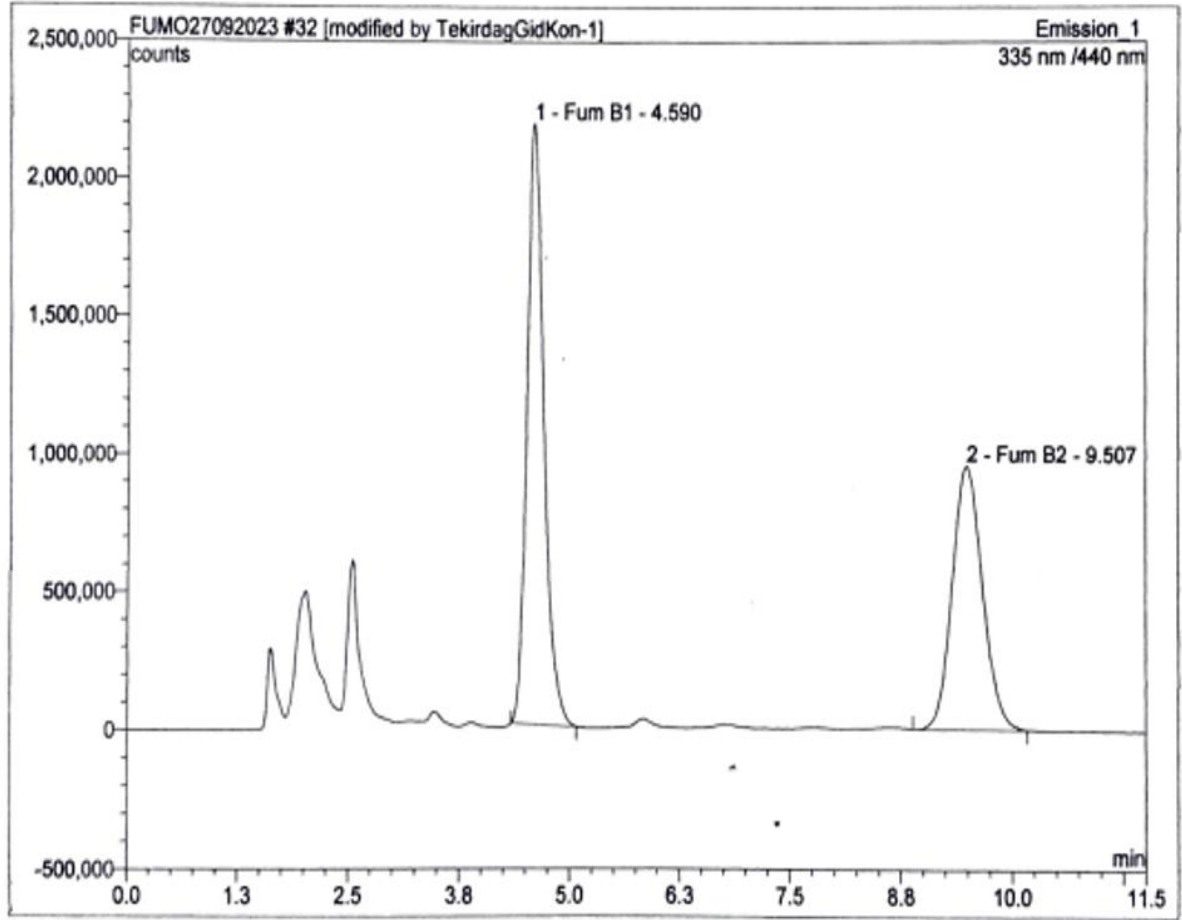


EK-4. DEOKSİNİVALENOL HPLC KROMATOGRAM ÇIKTISI

Additional Info : Peak(s) manually integrated



EK-5. FUMONİSİN B1 VE B2 HPLC KROMATOGRAM ÇIKTISI



EK-6. MİKOTOKSİNLER ÜZERİNE ABSP UYGULANMASI SONUCU % DEĞİŞİM ORANLARI

	Doğal Toksin İçeren Örnek			Toksin Spike Yapılan Örnek			Toksin Standart Çözeltisi			
Toksin	4 dak	8 dak	16 dak	4 dak	8 dak	16 dak	1 dak	2 dak	4 dak	8 dak
Aflatoksin B ₁	3,60%	13,20%	24,60%	21,20%	23,40%	88,40%	56,70%	80,90%	**	**
Aflatoksin B ₂	3,40%	4,3%	14,6%	19,4%	33,5%	85,9%	49,4%	42,1%	**	**
Aflatoksin G ₁	*	*	*	10,1%	30,3%	54,6%	55,5%	88,7%	**	**
Aflatoksin G ₂	*	*	*	27,4%	38,9%	47,9%	48,6%	52,1%	**	**
Aflatoksin Toplam	3,60%	11,50%	22,70%	18,60%	27,20%	72,70%	55,10%	76,30%	**	**
Okratoksin A	42,70%	48,80%	52,00%	24,10%	37,90%	40,30%	**	51,10%	70,30%	**
Zearalenon	20,10%	38,80%	43,10%	26,60%	56,70%	57,90%	**	**	27,60%	74,30%
Deoksinivalenol	21,30%	23,40%	27,80%	27,20%	28,00%	29,20%	**	**	27,40%	47,00%
Fumonisin B1	29,10%	38,60%	42,70%	36,40%	36,40%	43,40%	**	**	36,90%	51,40%
Fumonisin B2	24,90%	28,00%	35,30%	22,30%	27,30%	38,70%	**	**	36,60%	51,20%
Fumonisin Toplam	27,00%	33,30%	39,00%	33,40%	34,50%	42,40%	**	**	36,80%	51,30%

*Tespit edilemedi, **Uygulama yapılmadı.

EK-7. MİKOTOKSİN DEGRADASYONU İLGİLİ YÜRÜTÜLEN ARAŞTIRMALARIN ÖZETLERİ

Plazma	Mikotoksin	Gıda Kaynağı / Ortam	Parametre	Detoksifikasyon etkisi	Referans
ABSP	DON, ZON, Enniatins, FB1, T-2	-	19 kV, 17 kHz, 60s	Tüm saf mikotoksinler 60 s içinde neredeyse tamamen parçalandı.	[255]
DBD plazma	Alternariol (AOH) ve Alternariol monometil eter (AME)	-	AOH: 30 kV, 180 s AME: 30 kV, 300 s	% 100 parçalandı.	[226]
ABSP	AFB ₁ FB1	Mısır	6 kV, 20 kHz, 10 dak	AFB ₁ : %65 parçalandı. FB1 : %64 parçalandı.	[70]
DBD plazma	DON	-	3500 Hz, 0-30 kV, 0-1 A akım	Çözeltide 5 dak %100 parçalandı. Kuru koşullarda 60 dak %75,9 parçalandı.	[50]
HVACP	AFB ₁	-	85 kV, 2 dak	%90 parçalandı.	[257]
Korona deşarj plazma jeti	AFB ₁	-	Atmosferik basınç, 15 mm, 1,5 A, 30 dak	%95 parçalandı.	[258]
YVASP	DON	-	85 kV, 20 dak, 25°C, %26 RH	DON sitotoksik olmayan hale getirildi.	[137]
ABSP	AFB ₁	Yer fıstığı	40 W, 15 dak 60 W, 12 dak	%70 parçalandı. %90 parçalandı.	[259]
ABSP	AFB ₁ AFB ₂	Fındık	3000 L/h gaz akış hızı, 25 kHz, 655 W, 7 cm döngü sayısı 4 (1,7 dak)	AFB ₁ : %72-73 parçalandı. AFB ₁ +AFB ₂ : %69-70 parçalandı.	[260]

ABSP	Aflatoksinler, FB ve ZON	-	10 kV, 40 kHz, 8 dak	Aflatoksinler : %93 parçalandı. FB : %93 parçalandı. ZON: %100 parçalandı.	[261]
YVASP	Aflatoksinler	Mısır	%40 RH, Uygulama süresi 1-10 dak	1 dak %62 parçalandı. 10 dak %82 parçalandı.	[200]
DBD plazma	OTA	Arpa	350 W, %80 CO ₂ + %20 O ₂ , 3 dak, gaz akışı 10 sL/dak	%51,4 parçalandı.	[262]
DBD plazma	AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂	Kabuğu çıkarılmış fındık	400-1150 W, 100-150 kHz, 120 L/dak, 1-12 dak	AFB ₁ %70,9 parçalandı. Toplam Aflatoksin %69,6 parçalandı.	[196]
DBD plazma	DON	Arpa	34 kV, 1 A, 300W 3,5 kHz, 210 dak	DON : %48,9, 6 dak parçalandı. DON : %54,4, 10 dak parçalandı.	[187]
ABSP	Toplam Aflatoksin	Fıstık	4,4 kV, 70-90 kHz, hava 107 L/dak	2 dak %23 parçalandı. 5 dak %38 parçalandı.	[72]
Korona deşarj plazma jeti	AFB ₁	Pirinç Buğday	20 Kv, 1,5A, 300W, 58 kHz, 5-30 dak	AFB ₁ : %56,6 parçalandı. AFB ₁ : %45,7 parçalandı.	[197]
DBD	AFB ₁	Mısır	0,18-0,31 W, hava, 5 mm mesafe, 0,5-8 dak	8 dak %100 parçalandı.	[44]
Mikrodalga plazma	DON, AFB ₁ , NIV	Lam	Ar, 1kW, 1-10s	5 sn %100 parçalandı.	[68]

Plazma jet	FB2, OTA	Hurma	Ar, 1 kW, 25 kV, 25 kHz, 30-540 s	FB2 6 dak %100 parçalandı. OTA 7,5 dak %100 parçalandı.	[156]
Düşük basınç mikrodalga	DON	Arpa	Air, 30-270 s	DON 4 dak %50 parçalandı.	[263]
ABSP	AFB ₁	Fındık / standart çözelti	N ₂ , O ₂ ve hava, 50 Hz, 60-720s	12 dak (çözelti) %100 parçalandı. 12 dak (fındık) %70 parçalandı	[264]
DBD	AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂	Fındık	N ₂ ve O ₂ , 100-150 kHz, 60-720 s, 0,4-0,7-1,1 kW	AFB ₁ ve AFG ₁ , plazmaya AFB ₂ ve AFG ₂ 'den daha duyarlıydı. Farklı mikotoksin türleri, soğuk plazmaya karşı farklı derecelerde hassasiyete sahiptir.	[265]
DBD	DON, ZON, FB1	Lam	Air, 17 kHz, 19 kV, 0-60 s, 0,5 kW	Soğuk plazma, incelenen tüm mikotoksinleri bir dakikadan daha kısa bir sürede tamamen parçaladı. Bozunma oranları mikotoksin türüne bağlıydı.	[206]
ABSP	AFB ₁	Fıstık	100 s	AFB ₁ 'in %72,5'e kadarı soğuk plazma tarafından bozundu. Yer fıstığının rutubet içeriği gibi bileşimi soğuk plazmanın etkinliğini etkilemiştir.	[265]

Atmosferik Basınç Soğuk Plazma, DBD : Dielektrik Bariyer Deşarj, YVASP : Yüksek Voltaj Atmosferik Soğuk Plazma

TEZDEN ÜRETİLMİŞ ESERLER

A. Ulusal Konferans Bildirileri

Atmosferik Basınç Soğuk Plazma Uygulanan Bazı Gıda Maddelerinde Mikotoksin Detoksifikasyonunun Araştırılması, Trakya Üniversiteler Birliği 8. Lisansüstü Öğrenci Kongresi, 05-06 Aralık 2024 / Tekirdağ

