

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FINDIKLARDA ELEKTROMANYETİK MUAMELE İLE KÜF
TOKSİNLERİN ÜRETİMİNİN ENGELLENMESİ**

Ahmet BEKTEŞ

**Danışman
Doç. Dr. Pervin BAŞARAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2012**

© 2012 [Ahmet BEKTEŞ]

TEZ ONAYI

Ahmet BEKTEŞ tarafından hazırlanan " **Fındıklarda Elektromanyetik Muamele ile Küf Toksinlerinin Üretiminin Engellenmesi** " adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Doç. Dr. Pervin BAŞARAN
Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Sami ÖZÇELİK
Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Kahraman KEPENEK
Süleyman Demirel Üniversitesi

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Cengiz KAYACAN

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Ahmet BEKTEŞ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER DİZİNİ VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1. Fındıkla İlgili Genel Bilgiler	3
2.2. Dünyada ve Türkiye’de Fındık Üretimi	4
2.3. Fındığın Türk Ekonomisindeki Önemi	5
2.4. Fındığın Besinsel Bileşimi	5
2.5. Fındığın Sağlık Açısından Faydaları	7
2.6. <i>Aspergillus Susu</i> ve Aflatoksin	7
2.7. Elektriksel Alan Uygulamaları İle İlgili Kaynak Özetleri	10
3. MATERYAL VE METOT	15
3.1. Materyal	15
3.2. Besiyerlerinin Hazırlanması	15
3.3. Çözeltilerin Hazırlanması	15
3.3.1. Dilüsyon çözeltilerinin hazırlanması	15
3.3.2. Fizyolojik tuzlu su (FTS) çözeltilisinin hazırlanması	16
3.3.3. Steril saf suyun hazırlanması	16
3.4. Farklı Küf Suşlarına Ait Sporların Canlandırılması	16
3.5. Küf sporlarının çoğaltılması ve gelişimlerinin izlenmesi	17
3.6. Analiz Metodunun Oluşturulması	17
3.7. Farklı Tuz Konsantrasyonlarındaki Örneklerin Elektriksel Alan Muamelesi	20
3.8. Farklı Sıcaklıklardaki Örneklerin Elektriksel Alan Muamelesi	21
3.9. Seçilen Fındık Örneklerinin Küflendirilmesi ve Aflatoksin Üretimi	21
3.10. Küflü Fındık Örneklerinin Elektriksel Alanda Muamele Edilmesi ve Aflatoksin Analizi	22
3.10.1. Elektriksel alan uygulama cihazının (elektroporator) özellikleri	22
3.10.2. Küflü fındık örneklerinin elektriksel alanda muamele edilmesi	24
3.10.3. Aflatoksin analizi yapılan örneklerde mikrobiyolojik sayım	24
3.10.4. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile aflatoksin analizi	24
3.10.4.1 HPLC (high-performance liquid chromatography)	24
3.10.4.2. HPLC ile aflatoksin analizi	26
3.11. Elektriksel Muameleye Maruz Kalan Fındık Örneklerinde Renk Tayini	27
3.12. Elektriksel Muameleye Maruz Kalan Fındık Örneklerinden Ekstrakte Edilen Fındık Yağında Yapılan Analizler	27
3.12.1. Fındık yağının ekstraksiyonu	27
3.12.2. Elektriksel alan uygulaması sonrası elde edilen fındık yağının yağ asitleri metil esterleri % kompozisyonu tayini	29
3.12.2.1. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi(gc-ms) cihazının özellikleri	29
3.12.2.2. Elektriksel alan uygulaması sonrası ekstrakte edilen fındık yağının yağ asitleri metil esterleri % kompozisyonu analizi	31

3.12.3. Fındık yağının HPLC ile tokoferol tayini	31
3.12.4. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile fındık yağı yapı analizi	32
3.13. Küf Sporlarının Elektromanyetik Muamele Sonucunda Taramalı Elektron Mikroskobunda (SEM, Scanning Elektron Microscopy) Görüntü Analizi....	32
3.14. İstatistiksel Analiz	33
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	34
4.1. Farklı Küf Suşlarına Ait Küf Sporlarının Gelişimi	34
4.2. Elektriksel Alan Uygulamalarının Küf Kolonileri Üzerine Etkisi	34
4.3. Farklı Tuz Konsantrasyonlarındaki Küf Kolonilerine Uygulanan Elektriksel Alan Uygulamasının Etkisi	36
4.4. Farklı Sıcaklıklardaki Küf Kolonilerine Uygulanan Elektriksel Alan Uygulamasının Etkisi	37
4.5. Elektriksel Alan Muamelesi Sonrası Aflatoksin Analizi	38
4.6. Elektriksel Alan Uygulamasının Fındık Yağının Yağ Asitleri Metil Esterleri % Kompozisyonuna Etkisi	40
4.7. Elektriksel Alan Uygulamanın Fındık Yağındaki Tokoferol Üzerine Etkisi .	42
4.8. Elektriksel Alan Uygulamasının Fındık Yağının Yapı Analizi Üzerine Etkisi	44
4.9. Elektriksel Alan Uygulanmış Küf Sporlarının SEM Görüntüleri	46
4.10. Elektriksel Alan Uygulanması Sonrası Fındıklarda Renk Değişimi	48
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	50
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	58

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FINDIKLARDA ELEKTROMANYETİK MUAMELE İLE KÜF TOKSİNLERİN ÜRETİMİNİN ENGELLENMESİ

Ahmet BEKTEŞ

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Pervin BAŞARAN

Bu tez çalışmasında, ülkemizin en önemli ihracat ürünlerinden birisi olan fındıktaki küf gelişimi ve aflatoksin üretimini engellemek için uygulanan darbeli elektriksel alan uygulamasının etkisi araştırıldı. Peptonlu su, fizyolojik tuzlu su (FTS) ve saf suya aşıl原因an *Aspergillus parasiticus-1041-1* suşunun 1800 ve 2500 Voltta 5, 10, 15 ve 30 dakika süresince darbeli elektriksel alan uygulandı. Muamele sonunda küf spor sayılarında en fazla azalmanın FTS çözeltisinde, 1800 Voltta 10 dakikalık süre de olduğu tespit edildi.

1800 Voltluk darbeli elektriksel alan uygulamaları %0.215, %0.425, %0.850, %1.700 ve %3.400 yoğunlukta tuz içeren FTS çözeltiğinde 10 dakika boyunca uygulandı ve tuz konsantrasyonunun artışına paralel *Aspergillus parasiticus-1041-1* suşuna ait koloni sayılarında düşüş meydana geldiği tespit edildi.

1800 Voltluk darbeli elektriksel alan uygulamaları 20 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C ve 60 °C deki sıcaklıklarda 10 dakika boyunca uygulandı ve kol/ml’ de en yüksek düşüşün 1,314 logaritmik azalışla 60 °C’ de olduğu tespit edildi.

1800 Voltta 10 ve 15 dakika boyunca FTS çözeltisinde darbeli elektriksel alan uygulamasına maruz kalan *Aspergillus parasiticus-1041-1* suşuna ait küf kolonilerinin görüntüsü elektron mikroskobu (SEM) ile çekildi ve elektriksel alan uygulamasının küf hücrelerinin yapısını etkilediği tespit edildi.

Küflü fındık örneklerinde *Aspergillus parasiticus-1041-1* suşları tarafından üretilen aflatoksin miktarının azaltılması amacıyla darbeli elektriksel alan (1800 Volt, 10 ve 15 dakika süresince) uygulandı ve aflatoksin miktarında herhangi bir düşüş gözlenmedi. Ayrıca, fındık örneklerine darbeli elektriksel alan uygulanmış ve sonrasında yağı ekstrakte edilerek elektrik uygulamasının fındığın yapısını, yağ asitlerini ve fındık yağının içersindeki tokoferol içeriğini nasıl etkilediği araştırıldı.

Anahtar Kelimeler: Aflatoksin, *Aspergillus parasiticus*, Darbeli Elektriksel alan

2012, 58 sayfa.

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

ELECTROMAGNETIC TREATMENT AND PREVENTION OF MOLD TOXINS PRODUCTION WITH HAZELNUTS TOXINS

Ahmet BEKTEŞ

**Süleyman Demirel University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Food Engineering Department**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Pervin BAŞARAN

In this study, the effect of application of pulsed electrical field in order to prevent mold growth and aflatoxin production at hazelnut which is one of the country's most important exports products, was investigated. Pulsed electric field was applied to *Aspergillus parasiticus*-1041-1 strains which is inoculated to the peptone water, distilled water, physiological saline (PBS). Pulsed field was applied at 1800 and 2500 volts for 5, 10, 15 and 30 minutes. At the end of treatment, the maximum reduction in mold spore counts in a solution of PBS, were found to be 1800 volts in a 10-minute period.

1800-volt pulsed electric field applications were applied to 0.215%, 0.425%, 0.850%, 1.700% and 3.400% concentrations of salt solutions of PBS containing for 10 minutes. And, in parallel with the increase in salt concentration, it was determined a decrease of the number of colonies of *Aspergillus parasiticus*-1041-1 strain.

1800-volt pulsed electric field applications were applied at the temperatures 20°C, 30°C, 40 °C, 50 °C and 60 °C for 10 minutes. At cfu / ml, it was detected that the highest decrease is at the 60 °C , with logarithmic decrease of 1.314.

The images of mold colonies of *Aspergillus parasiticus*-1041-1 strain which exposed pulsed electric field application at PBS solutions for 10 minutes were taken with a scanning electron microscope (SEM).

For the purpose of decreasing the amount of aflatoxin which produced by the strains of *Aspergillus parasiticus*-1041-1 at hazelnut molds, a pulsed electric field was applied (1800 volt, for 10 and 15 minutes) and it was not detected a decrease of the amount of aflatoxin. Also, pulsed electric field was applied to the hazelnut samples and after this it was detected the effects of electric field on structure of hazelnut, fatty acids and tocopherol content in the hazelnut oil.

Keywords: Aflatoxin, *Aspergillus parasiticus*, Pulsed Electric field

2012, 58 pages.

TEŞEKKÜR

Bana bu araştırmayı gerçekleştirme imkânı veren ve yardımını esirgemeyen Sayın Danışman Hocam Doç.Dr. Pervin BAŞARAN'a,

Ayrıca bu araştırmanın laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Gülcan ÖZKAN hocama ve S.D.Ü. Deneysel ve Gözlemsel Araştırma ve Uygulama Merkezi çalışanlarına,

Bugüne kadar maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bugünlere gelmemi sağlayan anneme, babama ve abime,

Bendeki emeklerinden dolayı tüm bölüm hocalarıma,

Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Seydi YIKILMIŞ, Onur ERCAN, Gül TEKELİ, Meryem Selcen COŞKUN, Şerife ÇEVİK, Saliha Onur SERMET, Sedef AYDIN'a ve diğer arkadaşlarıma,

Bu tez projesini Y.L 2880-YL-11 No'lu proje ile destekleyen SDÜ-BAP'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Ahmet BEKTEŞ
ISPARTA-2012

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Dünya fındık alanlarının ülkelere göre dağılımı	4
Şekil 2.2. Dünya fındık üretimi	5
Şekil 2.3. Aflatoksin B1, B2, G1, G2 kimyasal yapıları.....	10
Şekil 3.1. Elektriksel alan uygulama cihazı (Elektroporotör).....	18
Şekil 3.2. Küf sporlarının santrifüj tüplerde çöktürülmesi ve depolanması.....	19
Şekil 3.3. Elektriksel muamele grubu ve kontrol grubu örneklerinin ekimi.....	20
Şekil 3.4. Elektroporotör cihazı küveti	23
Şekil 3.5. Çalışmada kullanılan Elektroporotr cihazı ve adaptör.....	23
Şekil 3.6. HPLC cihazının çalışma ekipmanları ve prensibi.....	25
Şekil 3.7. Elektriksel alan uygulanan (1800 Volt) fındıklardan elde edilen fındık yağı	29
Şekil 3.8. GC cihazının temel bileşenleri.....	30
Şekil 4.1. Farklı süre ve farklı güçteki vurgulu elektriksel alan uygulaması sonrası koloni sayılarındaki logaritmik değişim	35
Şekil 4.2. Farklı tuz konsantrasyonlarında elektriksel alan uygulaması sonucu küf sporlarındaki değişim	37
Şekil 4.3. Farklı sıcaklıklarda 1800 voltta 10 dakika boyunca elektriksel alan uygulaması sonucu küf sayılarının logaritmik (kob/ml) olarak değişimi..	38
Şekil 4.4. Darbeli elektriksel alana maruz bırakılan küflü fındıkların aflatoksin b1 miktarı.....	40
Şekil 4.5. Darbeli elektriksel alana maruz bırakılan küflü fındıkların aflatoksin b2 miktarı.....	40
Şekil 4.6. Elektrik uygulaması sonrası fındık yağında yapı analizi (1)	44
Şekil 4.7. Elektrik uygulaması sonrası fındık yağında yapı analizi (2)	45
Şekil 4.8. Kontrol grubu (1800 V) uygulamasının SEM görüntüleri.....	46
Şekil 4.9. M10 (1800 V) uygulamasınınSEM görüntüsü.....	47
Şekil 4.10. M15 (1800 V) uygulamasınınSEM görüntüsü.....	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Fındık bileşenleri	6
Çizelge 2.2. Fındık çeşitlerine ait yağ asiti bileşenleri (%).....	7
Çizelge 4.1. Farklı süre ve farklı güçteki vurgulu elektriksel alan uygulamaları sonucu aspergillus parasiticus-1041-1 suşuna ait koloni sayılarındaki logaritmik değişim (Kob/ml)	35
Çizelge 4.2. Farklı sürelerdeki ve farklı güçteki elektriksel alan uygulamaları sonucunda koloni sayısındaki logaritmik azalma (Kob/ml)	36
Çizelge 4.3. Farklı tuz konsantrasyonlarında elektriksel alan uygulaması sonucundaki küf sporlarındaki logaritmik değişim (Kob/ml).....	37
Çizelge 4.4. Farklı Sıcaklıklarda 1800 Voltta 10 Dakika Boyunca Elektriksel Alan Uygulanması Sonucu Küf Sayılarının Logaritmik Olarak Değişimi....	38
Çizelge 4.5. Aflatoksin Analizi İçin Darbeli Elektriksel Alana Maruz Bırakılan Küflü Fındıkların Aspergillus Parasiticus-1041-1 Suşunun logaritmik (kob/ml) Olarak Koloni Sayım Sonuçları	39
Çizelge 4.6. Darbeli elektriksel alana maruz bırakılan küflü fındıkların aflatoksin değişimi (nanogram/gram).....	39
Çizelge 4.7. Elektrik alan uygulamasının yağ asitleri üzerinde meydana getirdiği değişim.....	41
Çizelge 4.8. Elektriksel alan muamelesi sonrası tokoferol miktarları	42
Çizelge 4.9. Elektriksel alan uygulanmış fındık örneklerinden ekstrakte edilen yağ örneklerinde tokoferol bileşenlerine ilişkin varyans analizi sonuçları.....	43
Çizelge 4.10. Elektriksel alan uygulanmış fındık örneklerinden ekstrakte edilen yağ örneklerinde tokoferol bileşenleri ortalamaları ve duncan tek yönlü karşılaştırma testi sonuçları.....	43
Çizelge 4.11. Elektriksel alan uygulaması sonrası fındıklarda renk değişimi	48
Çizelge 4.12. Darbeli elektriksel alan uygulanmış fındıklarda renk bileşenleri ortalamaları ve Duncan Tek Yönlü Karşılaştırma Testi sonuçları.....	48
Çizelge 4.13. Darbeli elektriksel alan uygulanmış fındık örneklerinde renk bileşenlerine ait varyans analizi sonuçları	49

SİMGELER DİZİNİ VE KISALTMALAR DİZİNİ

aw	Su aktivitesi
cm	Santimetre
cm ²	Santimetre kare
dk	Dakika
ELISA	Enzyme-linked immunosorbant assay
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
gr	Gram
Hz	Hertz (1 saniyede yinleme sayısı)
Kob	Koloni oluşturan Birim
Kv	Kilo Volt
Log	Logaritma
mg	Miligram
ml	Mililitre
MS	Mass Spectrometry (Kütle Spektrometrisi)
M5	5 dakikalık Muamele
M10	10 dakikalık Muamele
M15	15 Dakikalık Muamele
M30	30 dakikalık muamele
NaCl	Sodyum Klorür
PDA	PotatoDextrose Agar
PDB	Potato Dextrose Broth
SEM	Scanning Elektron Microscopy (Taramalı Elektron Mikroskobu)
sn	Saniye
V	Volt
α	Alfa
β	Beta
δ	Delta
γ	Gama
μ L	Mikro litre
μ s	Mikron saniye

1. GİRİŞ

Fındık temel gıda maddesi olmasa da bileşimi ve sağlık açısından değerli bir gıda ürünüdür. Ayrıca ülkemizin en önemli ihracat ürünü olmasının yanı sıra çok iyi bir geçim kaynağıdır. Özellikle Karadeniz bölgesinde üretilen fındığın en önemli sorunlarından biri mikotoksin olan aflatoksindir.

Mikotoksinler funguslar tarafından üretilen toksik özellikte olan ikincil metabolit ürünlerdir. Mikotoksinler, esas olarak protein yapısında ve antijen özellikte olan bakteriyel toksinlerin aksine, kimyasal yapı ve biyolojik aktivite yönünden çeşitlilik gösteren maddelerdir. Aflatoksinler, 1960 yılında keşfedilmişler ve 1962 yılında da güçlü toksik ve kanserojenik etkiye sahip maddeler olduğu anlaşılmıştır. *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus nomius* ve *Aspergillus pseudotamarii* olarak adlandırılan küf türleri tarafından üretilirler (Özkaya ve Temiz, 2003)

Mikotoksinler canlılarda karsinojenik, mutajenik, dermatotoksik, hepatotoksik, nefrotoksik, ve teratojenik etkiler gösterirler. İnsanlarda ve hayvanlarda akut, sub-akut, kronik toksisite gösterirler (İşman, 2004).

Fındıklarda en yaygın bulunan mikotoksin çeşidi aflatoksinlerdir. Aflatoksin üreten küfler ile kontaminasyon fındıkların pazarlanmasında, depolanmasında ve üretimi süresince karşılaşılan büyük problemlerden birisidir. Aflatoksinler kanserojenik olarak bilinen maddeler arasında yer alır. Bu nedenle kontaminasyon düzeyleri ulusal ve uluslararası standartlar ile sınırlandırılır ve yasalar ile kontrol edilir. Aflatoksin üreten küflerin kontrolü için çeşitli fiziksel (mekanik sınıflandırma, sıcaklık uygulaması ve ışınlama gibi) ve kimyasal (Süpfaktanlar, ve SF₆ plazma) uygulamalar denenmiştir. Fakat duysal ve fiziksel özelliklerinde kayıplar olduğu için yeni yöntem arayışına gidilmiştir. Son yıllarda aflatoksin üretiminin önüne geçebilmek için radyo frekansı, mikrodalga uygulama, elektriksel alan uygulamaları, UV ışınma gibi metotlar üzerine çalışılmaktadır (Basaran ve Akhan, 2010).

Aflatoksinler, küfler tarafından üretilen ikincil metabolitler olma özelliğinin yanı sıra başta karaciğer kanseri olmak üzere birçok hastalığa neden olmaktadır. İhraç edilen ürünlerimizin birçoğu gittikleri ülkelerdeki yasal limitleri aştıkları gerekçesi ile

defalarca geri gönderilmiştir. Bu nedenle fındıkta aflatoksin üretimini engellemek amacıyla çok sayıda çalışma yapılmaktadır.

29 Aralık 2011 tarihinde Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından Resmi Gazete de yayınlanan 28157 sayılı Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde fındık için aflatoksin üst limiti 1 kg fındıkta (yenen kısmı) aflatoksin B₁ 5 µg ve Aflatoksin B₁+B₂+G₁+G₂ 10 µg olarak belirlenmiştir (Resmi Gazete, 2011).

Avrupa Birliğinde (AB) doğrudan tüketime sunulacak fındıklar için aflatoksin üst limitleri aflatoksin B₁ 5 µg ve aflatoksin B₁+B₂+ G₁+ G₂ için 10 µg olarak, ileri düzeyde işleme tutulacak fındık için aflatoksin B₁ 8 µg ve aflatoksin B₁+B₂+ G₁+ G₂ için 15 µg olarak belirlenmiştir (Gürsoy, 2010).

Elektriksel pastörizasyon uygulamaları 1900'lü yıllarda başlamış olup halen birçok gıdaya uygulanmaktadır. Elektriksel alan uygulamaları geleneksel ısı yöntemlerine göre çok daha düşük sıcaklıklarda gerçekleştirildiğinden dolayı ürün üzerine olumsuz etkisi ya yoktur ya da çok az düzeydedir.

Çalışmamızda farklı süre ve farklı güçte darbeli elektriksel alan uygulamaları yapılarak *Aspergillus parasiticus*-1041-1 suşunu öldürmek ve aflatoksin miktarını nasıl etkilediğini belirlemeye çalıştık. Elektriksel alan uygulamasının fındık yağında bulunan tokoferoller, yağ asitlerini ve fındık yağının yapısını nasıl etkilediğini araştırdık.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Fındıkla İlgili Genel Bilgiler

Fındık (*Corylus avellena* L.), (*Betulaceae*) familyası, *Corylus* cinsi içerisinde yer alan bir ağaç türünün sert kabuklu meyvesidir. Fındık ağacı 36°-41° kuzey enlemleri arasında yetişir ve kıyılardan en çok 30 km içerde ve yüksekliği 750–1000 metreyi geçmeyen yerlerde ürün verir (Eraslan, 2006).

Fındığın anavatanı Anadolu olup ülkemizde yaklaşık 2300 yıldan bu yana tarımı yapılmaktadır. Bundan dolayı ülkemiz zengin fındık kültür çeşitleri açısından dünya da ayrı bir öneme sahiptir (Fındık Tanıtım Grubu, 2010).

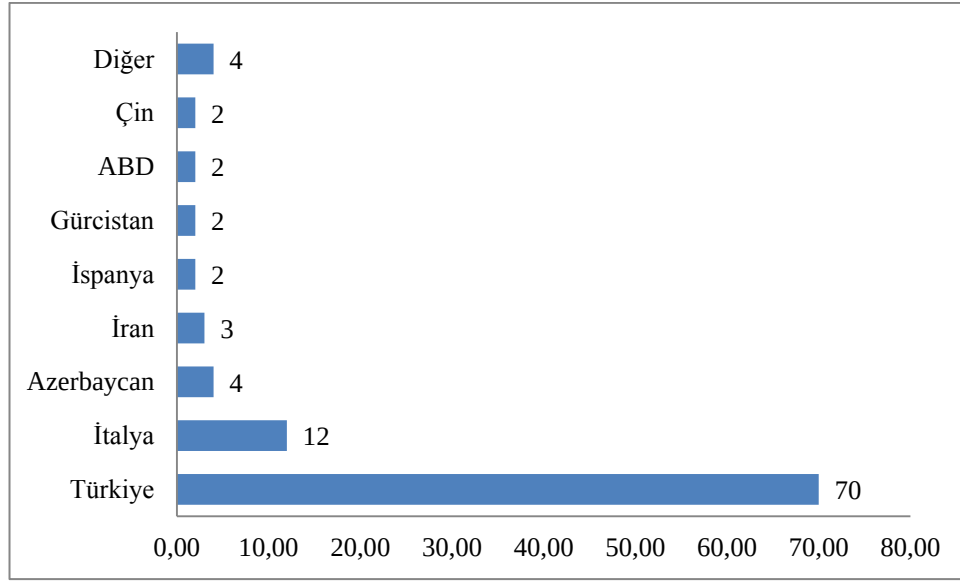
Fındığın yetişme koşulları göz önüne alındığında ülkemizde en fazla yetiştiği bölge Karadeniz Bölgesi olmasının yanı sıra Giresun, Trabzon, Sakarya, Samsun ve Bolu illeri olmak üzere 12 ilde ekonomik anlamda tarımı yapılmaktadır. Özellikle Doğu Karadeniz Bölgesinin arazi ve iklim şartlarından dolayı hemen hemen tek tarımsal ürün olma durumundadır. Bu nedenle bölge halkının en önemli geçim kaynağıdır. Fındığın yetişme ortamı ve yetişme koşulları dikkate alındığında çok eğimli ve toprak derinliği az olan alanların erozyona karşı korunmasında önemlidir (Eraslan, 2006).

Ülkemizde çok sayıda fındık çeşidi yetiştirilmekte olup bunlardan en fazla üretimi yapılan Giresun ve Ordu civarında yetiştirilen en yüksek tada ve kaliteye sahip yuvarlak fındıklardan biri olan Tombul fındıktır. Diğer fındık çeşitleri ise Palaz, Kalınkara, Çakıldak, Foşa, Mincane, Kargalak, Boyhane, Uzunmusa, Sivri Badem, İncekara, Kuş Fındığı, Acı Fındık, Değirmendere, Kanfındığı, Yuvarlak Badem ve Yassı Badem şeklinde sıralanmaktadır (Çetintaş, 2005).

Türkiye kalitesi ve %75’lik üretim miktarı ile dünya fındık üretiminde birinci sırada yer almaktadır. Ülkemizde fındık tarımı yaklaşık olarak 550,000-600,000 hektar alanda yapılmakta olup, fındığın üretimi, hasadı ve işlenmesi ile yaklaşık 4 milyon insan istihdam edilmektedir (Fındık Tanıtım Grubu, 2010).

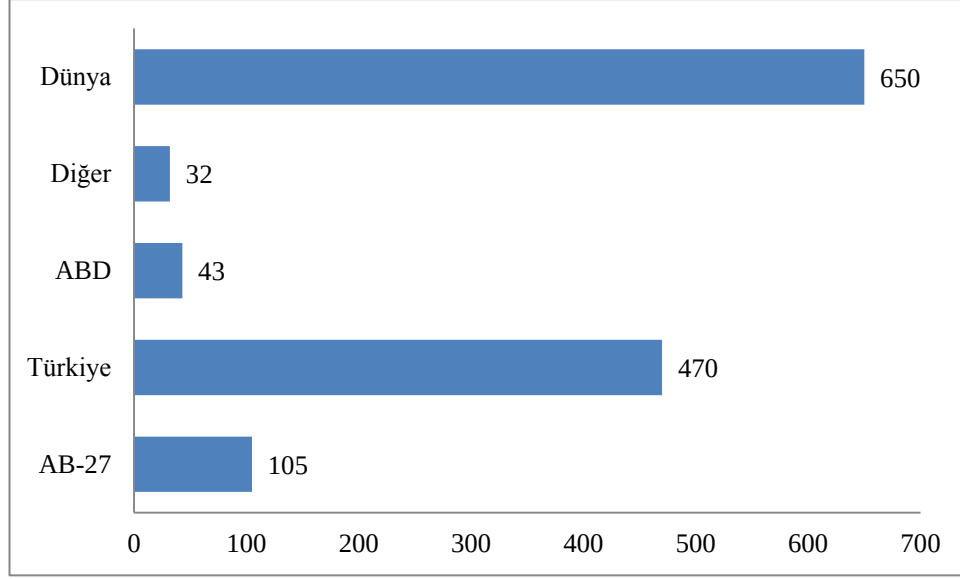
2.2. Dünyada ve Türkiye’de Fındık Üretimi

Dünyada bademden sonra en yaygın yetiştiriciliği yapılan sert kabuklu meyve fındıktır. 2009 yılı FAO rakamlarına göre dünya genelinde 602 bin Ha alanda fındık yetiştirilmekte olup Türkiye tek başına dünya fındık yetiştirilen alanların yaklaşık %70’ine sahiptir. Türkiye’yi İtalya (%12) ve Azerbaycan (%4) izlemektedir (Şekil 2.1) (Yavuz ve Polat, 2011)



Şekil 2.1. Dünya fındık alanlarının ülkelere göre dağılımı (% , 2009)(Yavuz ve Polat, 2011)

Dünya fındık üretimi incelendiğinde Türkiye’nin dünya fındık üretiminden aldığı ortalama %72 pay ile ilk sırada yer aldığı görülmektedir. İtalya ise dünyanın ikinci büyük fındık üreticisidir. 2009/2010 dünya üretimi ülkeler bazında incelendiğinde toplam 650 bin ton fındık üretiminin 470 bin tonunu tek başına Türkiye karşılamıştır. (Şekil 2.2) (Yavuz ve Polat, 2011).



Şekil 2.2. Dünya fındık üretimi (000 Ton, 2009/2010) (Yavuz ve Polat, 2011)

2.3. Fındığın Türk Ekonomisindeki Önemi

Türkiye yaklaşık 25- 30 yıl önce 32 ülkeye fındık ihracatı yapmakta iken şu anda 90 ülkeye fındık ihracatı yapmaktadır ve Türkiye fındık ticaretinin %80-85'i AB'ne yöneliktir. % 27'lik pay ile Türkiye'den en fazla fındık ithal eden ülke Almanya olmak üzere bu sırayı sırasıyla İtalya, Fransa, Belçika, Hollanda, İsviçre ve Rusya izlemektedir. Ülke ekonomisinin 2008 yılından fındıktan elde ettiği gelir yaklaşık olarak 1.407 milyar USD'dir (Fındık Tanıtım Grubu, 2010).

2.4. Fındığın Besinsel Bileşimi

Türkiye'de yetiştirilen fındıkların besin bileşenleri üzerine çok sayıda çalışmalar mevcuttur. Fakat bunların içerisinde en kapsamlı çalışma Köksal vd (2006) yapmış olduğu çalışmadır. Bu çalışmada Karadeniz bölgesinde yetiştirilen 17 farklı fındık çeşitlerinin kimyasal bileşimleri incelenmiştir. Fındık türlerindeki temel yağ asitleri oleik asit (%79,4), linoleik asit (%13,0) ve palmitik asit (%5,5)'tir. Fındık çeşitlerinde çoklu doymamış/doymuş ve doymamış/doymuş yağ asitlerinin oranları sırasıyla 1,23-2,87 ve 11,1-16,4 arasında bulmuşlardır. Fındık tanelerinin ortalama Niasin, Vitamin B₁, Vitamin B₂, Vitamin B₅, askorbik asit, folik asit, retinol ve toplam tokoferol içerikleri sırasıyla 1,45 mg/100g, 0,28 mg/100 g, 0,05 mg/100 g, 0,5

mg/100 g, 2,45 mg/100 g, 0,043 mg/100 g, 3,25 mg/100 g ve 26,9 mg/100 g olarak bulmuşlardır. Temel amino asit miktarına gelince daha çok arginin (2003 mg/100 g) ve lösin (1150 mg/100 g); temel olmayan amino asitlerden de daha çok glutamik asit (2714 mg/ 100 g) ve aspartik asit (1493 mg/100 g) fındık çeşitlerinde tespit etmişlerdir. Fındık çeşitlerinin mineral içerikleri ise K,Mn, Mg, Ca, Fe, Zn, Ca ve Cu sırasıyla 893 mg/100g, 186 mg/100g, 173 mg/100g, 5,6 mg/100g, 4,2 mg/100g, 2,9 mg/100g, 2,6 mg/100g, ve 2,3 mg/100g olarak bulmuşlardır(Köksal vd., 2006).

Ayfer, (1986), Türk fındıkları ile ilgi yaptığı bir çalışmada kuru madde bazında %13,6-%17,6 aralıklarında protein ile %55,1-%66,4 aralıklarında yağ tespit etmiştir (Eraslan, 2006).

Fındık temel besin kaynağı olmamasının yanı sıra insanlar için vitamin(vitamin B₁,B₂,B₆,Niasin ve Vitamin E), mineral (%2-3.5) ve çok iyi bir enerji (620-650 kcal/100 gr) kaynağıdır (Şimşek ve Aykut, 2007). Fındık taneleri bileşimlerinde %10-22 karbonhidrat (Köksal, vd., 2006), %56-61 aralığında yağ elde edilmiştir (Oliveria vd., 2008).

Köksal vd. (2006), Türk Fındık çeşitlerinin bileşimleri üzerine yaptığı çalışmada elde edilen kimyasal bileşim değerleri Çizelge 2.1 'de verildiği gibidir (Eraslan, 2006).

Çizelge 2.1. Fındık bileşenleri (Eraslan, 2006)

ÇEŞİT	NEM (%)	PROTEİN (%)	YAĞ(%)	KÜL(%)
Cavcava	5.25	20.8	56.07	2.72
Çakıldak	4.86	19.4	60.67	2.60
Foşa	4.46	15.8	59.50	2.25
İncekara	4.27	16.3	60.75	2.41
Kalınkara	4.14	11.7	68.52	1.87
Kan	3.41	17.0	63.05	2.13
Karafındık	2.49	15.6	67.75	1.90
Kargalak	4.39	15.2	59.57	2.37
Kuş	4.41	16.8	61.25	2.30
Mincane	4.71	20.0	57.95	2.43
Palaz	4.76	18.0	57.65	2.61
Sivri	4.78	18.7	63.89	2.30
Tombul	4.63	17.5	64.60	2.43
Uzun musa	4.17	17.0	61.75	2.34
Yassı badem	3.56	17.9	63.48	2.42
Yuvarlak badem	4.61	20.8	58.30	2.46

Köksal vd. (2006) arkadaşlarının yaptığı çalışmada fındık çeşitlerine ait yağ asiti bileşenleri Çizelge 2.2 ‘de verildiği gibidir (Eraslan, 2006).

Çizelge 2.2. Fındık çeşitlerine ait yağ asiti bileşenleri (%) (Eraslan, 2006)

Yağ Asitleri	Minimum	Maksimum	Ortalama
Palmitik asit (C16:0)	4.72	5.87	5.36
Palmitoleik asit (C16:1)	0.22	0.48	0.36
Stearik asit (C18:0)	0.86	2.49	1.80
Oleik asit (C18:1)	74.2	82.8	79.4
Linoleik asit (C18:2)	9.82	18.7	13.0
Linolenik asit (C18:3)	0.029	0.076	0.062

2.5. Fındığın Sağlık Açısından Faydaları

Fındık temel gıda maddesi olmasa da besleyici özelliği yüksek bir üründür. Bu nedenle ülkemizde yetiştirilen fındık çeşitlerinin beslenme değerleri üzerine çok sayıda bilimsel çalışma yapılmıştır.

Fındık insan sağlığı için çok önemli gıda maddelerinden bir tanesidir. Fındık kandaki kolesterolü düşürme ve ayrıca kolesterol tabanlı damar sertliğine karşı güçlü koruma sağlama özelliğine sahiptir (Durak vd.,1999). Fındık, α - tokoferol gibi kanseri önlediği kanıtlanmış antioksidan maddeleri içermektedir. Diyabet, kalp hastalıkları gibi belirli hastalıkların düşmesine yardımcı olmaktadır ve yaşlanma ile ilgili olumsuz etkilerde oldukça etkili olabilir (Köksal vd., 2006).

2.6. *Aspergillus* Suşu ve Aflatoksin

Küfler çok hücreli ve miselli morfolojiye sahiptirler. 30-110 μ m çapındaki tübüler hücrelerden oluşurlar ve çeşitli renklere sahip mikroorganizmalardır. Küfler havada

asılı halde bulunan birçok ince spordan gelişirler. Bakteri ve mayalara göre daha geniş pH ve sıcaklık aralığında gelişirler. En çok sevdikleri pH 7 civarında olup en iyi geliştikleri sıcaklıkta oda sıcaklığıdır (20-25 °C). Küfler düşük su aktivitesinde (aw: 60) dahi gelişebilirler. Düşük nem içeriğine sahip olan unlu mamuller, peynirler ve kuru yemişler küf gelişimi ile çok fazla bozulurlar (Özer, 2009).

Küfler ikincil metabolit ürün olan zehirli toksik bileşik olan mikotoksinleri üretirler. Mikotoksinler insan ve hayvanlarda insan ve hayvanlarda çeşitli hastalıkların oluşmasına neden olurlar. Mikotoksinler insanlara doğrudan veya dolaylı olarak geçebilirler. Doğrudan geçiş yolu mikotoksin bulaşmış gıdaların tüketilmesi ile olurken dolaylı geçiş yolu ise mikotiksinli yemlerle beslenen hayvanların et, süt, yumurta gibi ürünlerin tüketilmesiyle olur. Ayrıca mikotoksinler küf sporlarının ve parçacıklarının, özellikle ürünün işlenmesi sırasında, toz halinde havaya yayılması sonucunda mikotoksinlerin doğrudan solunum ile ciğerlere ve deri ile teması ile de vücuda alınması söz konusudur (Özer, 2009).

Küfler, gıdaların protein, yağ ve karbonhidratlarını enzimatik faaliyetlerle parçalayarak gıdanın dokusunu değiştirmekte, yağ içeriğinin azalmasına, serbest yağ asidi miktarının artmasına, proteinlerin parçalanmasına, amino asit bileşiminde değişimine renk değişimine, kötü koku oluşmasına, tat değişimlerine ve ağırlık kaybına yol açmaktadır. Küfler sağlam gıdanın içine girebildiklerinden dolayı bakterilerden daha fazla zarar vermekte ve toksikojenik tipleri mikotoksin üretebilmektedirler (Özer, 2009).

Fındıklarda en fazla görülen mikotoksin aflatoksindir. Aflatoksinler, *Aspergillus flavus*, *A.parasiticus* ve *A.nomius* küfleri tarafından üretilen zehirli ikincil metabolitlerdir. Başta karaciğer kanseri olmak üzere birçok kansere neden olan mikotoksinlerdir. *A. Parasiticus* B1,B2,G1 ve G2 aflatoksinlerini (Şekil 2.3) üretir. Baskın olarak G1 ve G2 türlerini üretir. Aflatoksinlerin B ve G diye adlandırılmaları floresans ışığı altında verdiği renge göre adlandırılmıştır. Mavi (Blue) floresans ışığı altında mavi renk veren aflatoksinlere B ve yeşil (Green) floresans ışık altında yeşil renk veren aflatoksinlere G ismi verilmiştir (Özcan, 2008) .

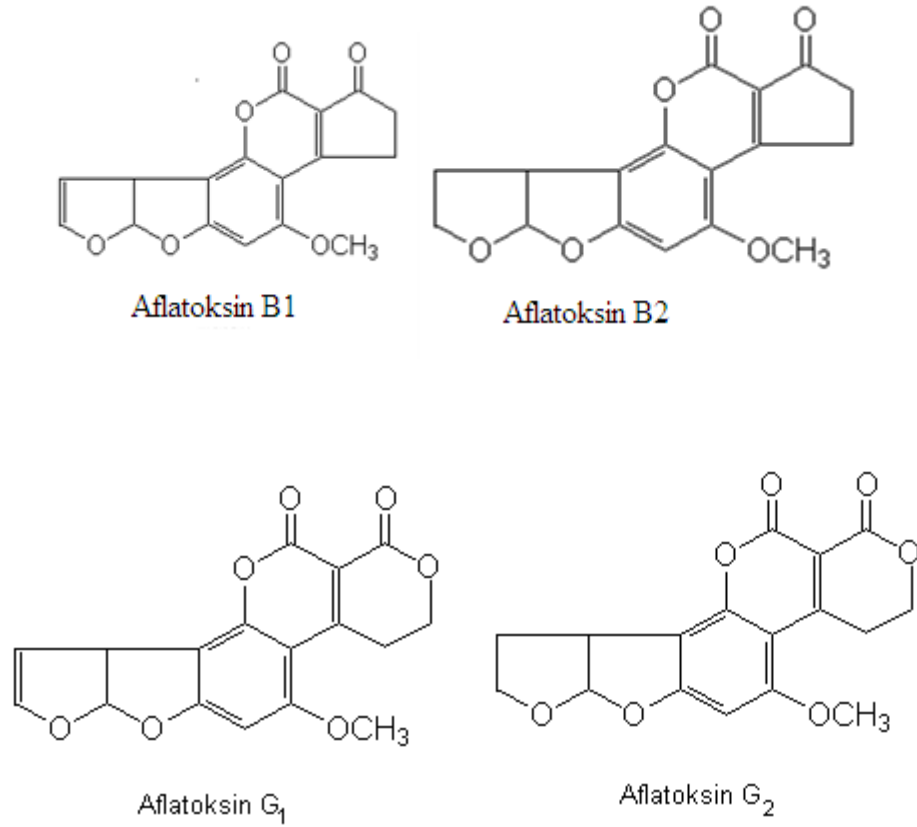
Aflatoksinler tüm dünyada yaşanan önemli problemdir. Depo küfü olmalarından dolayı tarım ürünleri için risk faktörüdür(Özcan, 2008). Duman vd., (2002), *Aspergillus* gelişimi ve aflatoksin oluşumlarını etkileyen faktörleri: nem, sıcaklık, ürünlerdeki mekanik zedelenmeler, kuruma hızı, kızıışma, depo atmosferi, CO₂ ve O₂ miktarı, ürünün doğal yapısı, mineraller, kimyasal uygulamalar şeklinde sıralamışlardır (Özcan, 2008)

Fındık, yer fıstığı ve antep fıstığı Türkiye'nin en çok ihraç edilen ve en çok tüketilen tarım ürünlerinden birisidir. Bundan dolayı üç ürün için 217 örnek halk pazarlarından, çarşı ve süper marketlerden temin edilerek aflatoksin (B1,B2, G1 ve G3) kontaminasyonu araştırılmıştır. 217 örneğin 31 tanesinde (yaklaşık % 15'inde) aflatoksin kontaminasyonu tespit edildi. En baskın aflatoksin çeşidinin B1 olduğu tespit edildi (Basaran ve Özcan, 2009).

Aflatoksinler, renksiz veya sarı, iğne şeklinde kristallerdir. Kuvvetli alkalide hemen bozulabilen ve ışığa oldukça duyarlı mikotoksinlerdir. Gıdaların pişme sıcaklığı ve pastörizasyon sıcaklığı aflatoksinlere zarar vermez. Aflatoksinler kanser sebebi olarak bilinirler. Benzen ve kloroform gibi çözeltilerde uzun yıllar muhafaza edilebilirler (Özcan, 2008).

Aflatoksin analizlerinin tespitinde kimyasal yöntemler kullanılmaktadır. En yaygın aflatoksin tespit yöntemi HPLC'dir. Ayrıca ELISA (Enzyme-linked immunosorbant assay) ve MS (Mass spectrometry) yöntemleride aflatoksin tespit yöntemlerinde kullanılmaktadır(Özcan, 2008).

Tez çalışmamızda *A.prasiticus-1041-1* suşu kullanılmıştır. Kullandığımız suş aflatoksinlerden sadece aflatoksin B1 ve Aflatoksin B2 toksinlerini üretmektedir.



Şekil 2.3. Aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂ kimyasal yapıları (Özkaya ve Temiz, 2003)

2.7. Elektriksel Alan Uygulamaları İle İlgili Kaynak Özetleri

Darbeli elektrik alan çok kısa süreli, yüksek voltaj elektrik alan uygulanması ile gıda maddelerinin korunması için kullanılan ısıl olmayan bir işlemdir. Çok düşük sıcaklıklarda uygulanarak gıdaların tat, lezzet, besin bileşenleri gibi özelliklerinde ya çok az ya da hiçbir değişikliğe sebep olmadan mikroorganizmaların inaktif hale gelmesini sağlayarak raf ömrünü uzatabilmektedir. Bu sistem gıda endüstrisinde süt, meyve suyu, çorbalar ve sıvı yumurta gibi gıdaların pastörizasyonunda kullanılmaktadır (Kaletunç, 2009).

Darbeli elektriksel alan uygulamaları ile ilgili bitkisel kaynaklı patojenler üzerine çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Genelde darbeli elektriksel alan uygulamaları sıvı gıdalara yönelik yapılmaktadır. Mısır tanelerine aşılınmış aflatoksin üreten *A.flavus* kültürlerinin farklı güçteki elektriksel alana maruz bırakılması sonucu B₁ ve

G1 toksin üretimini azalmıştır. Dört günden eski kültürler, 0,5 Hz ile 50 Hz aralığında 0,5 Hz' den başlayarak elektriksel alanın gücü artırılmış ve 1 saat örnekler elektriksel alana maruz bırakılmış ve toksinlerde %75,53 ile %82,75 arasında azalma gözlenmiştir. 50 Hz' de 30 dakikadan başlayan maruz kalma süresi 24 saate kadar çıkartıldığında toksin miktarında %89.63- %93.10'luk azalma meydana gelmiştir. Elektriksel alan gücü 100 Hz' den 800 Hz' ye kadar arttırıldığında aflatoksin azalması %37,25'ten %72,5'e çıkmıştır (Eisa vd.,2003).

Gıdalarda elektriksel işlemler 1900'lerde başlamıştır. Başlangıçta, bir elektriksel direnç yardımıyla gıdaların sıcaklığının artırılması ile elektriksel pastörizasyon uygulanmış ve mikroorganizmalar inaktive edilmiştir. Süt elektrikle pastörize olan ilk üründür (Bendciho vd., 2002).

Toepfl vd., (2007), gıdalarda darbeli elektriksel alan uygulamalarının sonucunda mikroorganizmaların inaktif hale gelebilmesi için gıdanın çeşidi, iletkenliği, sıcaklığı ve pH'sı, mikrobiyal faaliyetler (mikroorganizmanın türü, konsantrasyonu ve mikroorganizmanın gelişme aşamasında olup olmaması gibi), uygulanan elektriksel alanın yoğunluğu, darbe genişliği ve elektriksel alana maruz kalma süresinin etkili olduğunu belirtmişlerdir (Özcan ve Kurtuldu, 2011).

Darbeli elektriksel alan ile yapılan bir başka çalışmada, yağsız süte *E.coli* inoküle (inoküle edilen 10^9 Kob) etmişler ve 15 °C'de yüksek yoğunlukta sürekli akış odalarında ve sabit odalarda darbeli elektriksel alan uygulayarak *E.coli*'nin inaktif olabileceğini bulmuşlardır. Sabit ve sürekli akış odalarında *E.coli*'nin inaktif hale gelmesinin uygulanan darbe sayısının ve elektriksel alan yoğunluğunun artmasına bağlı olarak artış gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca, sürekli sistemlerde elektrik uygulamasının sabit sistemlere göre daha fazla muamele bütünlüğü göstermesinden dolayı mikroorganizmaların inaktif hale gelmesinde daha etkin olduğu sonucunu elde etmişlerdir (Martin vd., 1997).

Akdemir Evrendilek vd. (2008) yapmış olduğu çalışmada, kayısı, vişne suyu ve şeftali nektarı içersine aşılınmış *Penicillium expansum* üzerine darbeli elektriksel alanın inhibitör etkileri çimlenme tüpü uzaması, spor çimlenme oranını esas alarak belirlemişler ve ışık ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile etkilerini

gözlemişlerdir. 10^5 - 10^6 kob/ml düzeyinde *P. expansum* sporları ile meyve suyu/ nektar örneklerine aşılması sonrası örnekler farklı elektriksel alan güçleri (0, 13, 17, 20, 23, 27, 30 ve 34 Kv/cm) ve işlem süreleri (0, 62, 94, 123, 163, 198 ve 218 μ s) bir fonksiyon olarak tezgah ölçekli darbeli elektriksel alan darbe jeneratörü tarafından işlenmişlerdir. Sonuçlar, spor çimlenme oranı ve çimlenme tüpü uzaması oranı, elektriksel alan gücü ve süresinin artışı ile *P. expansum*'un tamamen inhibe edildiği göstermişlerdir. Elektriksel alan uygulamasının fungallerde önemli morfolojik değişikliklerin olduğunu ortaya koymuştur. Meyve suyu ve nektarının elektriksel alan ile işlenmesi sonucunda *P.expansum* 'un inaktif olduğunu ortaya koymuşlardır (Akdemir Evrendilek vd., 2008).

Şeftali nektarı ile yapılan bir diğer çalışmada, şeftali nektarının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin hesaplanması ve mikrobiyal inaktivasyon ile ilgili elektriksel alan gücü ve muamele süresinin bir fonksiyonu olarak şeftali nektarının işlenmesinde darbeli elektriksel alanın uygulanabilirliği değerlendirilmiştir. Darbeli elektriksel alan ile muamele edilen nektar örnekleri ile kontrol grubu arasında beta karoten konsantrasyonu ve askorbik asit içeriği, metal iyon konsantrasyonu, enzimatik olmayan esmerleşme indeksi, renk (L^* , a^* , b^*), iletkenlik, titrasyon asitliği, briks, pH değeri bakımından önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Öte yandan *Eschericia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Erwinia carotowara*, *Pseudomonas syringae*, *Botrytis cinerea* ve *Penicillium expansum* önemli düzeyde inaktif edilmiştir (Altuntaş vd., 2011).

Bir başka çalışmada darbeli elektriksel alan uygulaması ile havuç suyu bazlı içecek geliştirmeye çalışılmıştır. Bu amaçla darbeli elektriksel alan uygulama öncesi ve sonrası fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri tespit edilmiştir. Sonuçlar darbeli elektriksel alan uygulamasının titrasyon asitliği, pH, briks, iletkenlik, renkte (L^* , a^* , b^*), enzimatik olmayan esmerleşme indeksinde, metal iyonu ve C vitamini konsantrasyonunda önemli bir değişikliğe neden olmadığını göstermiştir. Bunun yanı sıra toplam aerobik mezofilik bakteriler, toplam maya ve küf üzerine önemli bir azalma gözlenmiştir (Akın ve Akdemir Evrendilek, 2009).

Goff ve Hill,(1993),yağsız süt gibi karmaşık yapıya sahip gıda ürünlerinde (yüksek protein içeriği %33-40 g/L gibi) elektriksel alan uygulaması ile mikroorganizmaların

sayısının indirgenmesinin tampon çözeltilerden ve model gıdalardan daha zor olduğunu belirtmişlerdir(Martin vd., 1997). Allen ve Soike (1966), Gilliland ve Speck (1967), bunun nedenini bazı maddelerin elektriksel uygulamada hücre dağılımında etkin olan iyonlar ve serbest radikallerin emilmesiyle mikroorganizmalar üzerine etkin olan öldürücü etkiyi azalttığına bağlamışlardır (Martin vd., 1997).

Yeterli şiddette ve sürede darbeli elektriksel alan uygulaması mikrobiyolojik hücrelerin sitoplazmik zarının geçirgenliğini sürekli hale getirir ki bu da mikrobiyolojik hücrelerin ölümüne yol açar. Elektriksel alan uygulamalarının maya ve küflerin vejetatif hücrelerinin inaktif hale geldiği birçok kez ispatlanmıştır. Fakat elektriksel alan uygulamaları bakteri sporları üzerine etkili değildir. Elektriksel alan ile mikrobiyal inaktivasyonun muamele ortamının koşullarına, mikrobiyal özelliklere ve işleme faktörlerine bağlıdır (Saldana vd., 2010).

Saldana vd. (2010), yaptığı bir çalışmada, *S.typhimurium* 'un (pH 3.5 iken) +4 °C'deki inaktivasyonun düşük olduğunu, fakat 15,27,38 ve 50 °C' de sıcaklık artışlarında inaktivasyonun arttığını gözlemlemişlerdir. +4 °C'de *S.typhimurium* 'un pH 7,0'deki darbeli elektriksel alana duyarlılığının pH 3,5'a göre daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Jayaram vd. (1993), mikrobiyal elektriksel alan uygulamaları üzerine sıcaklığın etkisini, hücre zarının istikrarını etkileyen jel, sıvı-kristal yapıdaki sitoplazmik membran fosfolipitlerinin faz geçişi üzerine sıcaklığın etkisinin ilgili olduğunu belirtmişlerdir (Saldana vd., 2010).

Pedro Elez-Martinez vd. (2005), yaptıkları bir çalışmada, portakal suyuna *L. Brevis* inoküle (10^8 Kob/ml) etmişler ve daha sonra yüksek yoğunlukta darbeli elektriksel alan parametrelerinin (elektrik alan gücü, muamele süresi, darbe polaritesi, frekans ve darbe genişliği) ve ısı pastörizasyonun (90 °C/1 dakika) etkilerini araştırmışlardır. Bu işlemleri sürekli akım ekipmanlarında yapmışlardır. Portakal suyunun yüksek yoğunlukta elektriksel alan işleminin ısı işleme kıyasla *L. brevis* 'in inaktif hale gelmesinde daha etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Yüksek yoğunluktaki *L. brevis*'in hücre zararlanmasını görmek içinde elektron mikroskobu kullanmışlar ve mekaniksel zararlanmalar olduğunu gözlemlemişlerdir. Mikrobiyal inaktivasyonun işlem parametrelerine bağlı olduğunu gözlemlemişlerdir. *L. brevis*, inoküle edilen portakal suyunda 32 °C'den daha düşük sıcaklıkta 200 Hz ve iki kutuplu moda 4 µs darbe

genişliği kullanarak 100 μ s için 35 Kv/cm²'de iřlendięinde 5.8 log' luk azalma ile maksimum düzeyde inaktive olmuştur (Elez-Martinez vd., 2005).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Araştırmada piyasadan alınan fındık örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan fındık örneklerini tombul fındık olarak adlandırılan fındık çeşidi oluşturmaktadır.

3.2. Besiyerlerinin Hazırlanması

Küflerin sayımında ve küflerin stoklanması için kullanılmak üzere Potato Dextrose Agar (PDA) besiyeri ve OXOID0731 AFPA BASE besiyeri seçildi. PDA elde etmek için Potato Dextrose Broth (PDB) ve Agar-Agar kullanılmıştır. Potato Dextrose Broth, maya ve küflerin gelişmesi amacıyla kullanılan sıvı besiyeridir. Formül olarak Potato Dextrose Agar'a benzemektedir. Fakat içeriğinde katılaştırıcı olarak kullanılan agar-agar maddesi mevcut değildir. 1 litre PDA elde edebilmek için 24 gr PDB ve 12-15 gr Agar-Agar hassas terazide tartılmış, aynı kavanozun içersinde karıştırılarak üzerine 1 litre saf su ilave edilmiştir. Sonra besiyeri kavanozu çalkalanarak PDB ve Agar-Agarın tamamen erimesi sağlanmıştır. Saf su da eritilmiş besiyeri 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

OXOID731 AFPA BASE besiyeri içersine antibiyotik konularak bakteri üremesini engelleyen bir besiyeri türüdür. 500 ml saf suya 22.75 gr/ml olacak şekilde katılıp eritildi. Daha sonra 121 °C'de 15 dakika boyunca otoklavlandı. 50 °C' ye kadar soğutuldu. Daha sonra içersine küf dışındaki diğer mikroorganizmaların üremesini engellemek için 500 ml'ye 50 mg Chloramphenicol eki ilave edildi karıştırıldı. Küflü fındıklarda küf koloni sayılarını tespit etmek için kullanıldı.

3.3. Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.1. Dilüsyon çözeltilerinin hazırlanması

1 litre saf suya 12-15 gr pepton katılarak eritilmiştir. Elde edilen homojen pepton su karışımı dispenser yardımıyla 9 ml olacak şekilde deney tüplerine boşaltılmıştır.

Deney tüplerinin ağızları temiz pamuklarla kapatılarak 121 °C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Elde edilen 9 ml’lik peptonlu sular +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.3.2. Fizyolojik tuzlu su (FTS) çözeltisinin hazırlanması

1000 ml saf su içersine 8,5 gr sodyum klorür (NaCl) katılarak eritilmiştir. Elde edilen tuzlu su çözeltisi deney tüplerine dispensır yardımıyla 9 ml olacak şekilde boşaltılmıştır ve deney tüplerinin ağızları pamukla kapatılmıştır. Daha sonra 121 °C ’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Elde edilen FTS çözeltisi +4 °C’de depolanmıştır.

3.3.3. Steril saf suyun hazırlanması

Saf su cihazından elde edilen saf su deney tüplerine dispensır yardımıyla 9 ml olacak şekilde boşaltılmıştır ve deney tüplerinin ağızları pamukla kapatılmıştır. Daha sonra 121 °C’de 15 dakika otoklavlanmıştır.

3.4. Faklı Küf Suşlarına Ait Sporların Canlandırılması

121 °C’de otoklavlanan PDA besiyeri 50 °C’ye kadar soğutularak steril petri kaplarına yaklaşık 12,5 ml olacak şekilde döküldü ve katılaşması beklendi. Daha sonra küf sporlarının bulunduğu cam tüplerin uçları kırıldı ve öze yardımıyla küf sporları alındı. Daha sonra zikzak çizilerek PDA üzerine ekildi. Ekim yapılan petri kapları 25 °C’de inkübatörde 48–72 saat bekletilerek gelişmeleri sağlandı. Canlandırma işlemine tabi tutulan küf suşları aşağıdaki gibidir:

Aspergillus flavus-56

Aspergillus flavus-123

Aspergillus Parasiticus-631

Aspergillus parasiticus-1041-1

Aspergillus parasiticus 2929

3.5. Kf sporlarının çoğaltılması ve gelişimlerinin izlenmesi

Canlandırma işlemine tabi tutulmuş kf suşları ekilmiş olduğu PDA üzerinden steril öze yardımıyla kazınarak alınmıştır. Kazınan küfler içerisinde 9 ml peptonlu su bulunan deney tüplerine aktarılmış ve homojen bir karışım oluşması için vortekslenmiştir. Kf aşılması yapılan deney tüpünden mikro pipet yardımıyla 1 ml sıvı alınarak petri kabına boşaltılmıştır. Üzerine 50 °C'ye kadar soğutulmuş PDA besiyeri dökülerek petri kutusu sekiz çizecek şekilde çalkalanmıştır. Ekim yapılan petri kapları 25 °C'de 48-72 saat inkübatöre bırakılarak kf sporlarının gelişimi sağlanmıştır. Bu canlandırma işlemi tüm kf suşlarında yapılmıştır.

3.6. Analiz Metodunun Oluşturulması

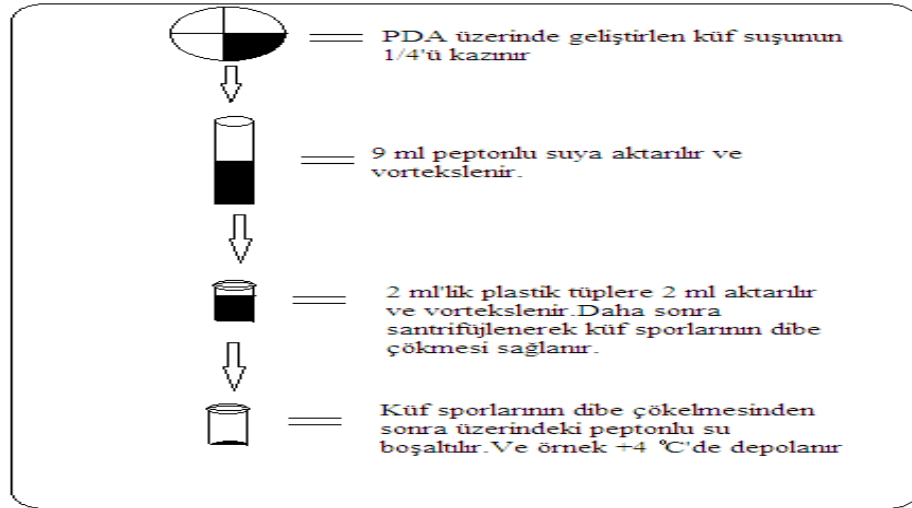
Tez alışmamızda kullanacağımız kf suşunun elektriksel alan uygulama (elektroporotör) cihazında (Şekil 3.1)ne kadar süre muamele edileceği, ne kadar elektrik akımına (2500 Volt ve 1800 Volt) maruz bırakılacağı ve hangi çözeltinin elektromanyetik muamelede etkin rol oynayacağı (fizyolojik tuzlu su, peptonlu su ve saf su) tespit edilmeye çalışıldı. Bu amaçla önce elektriksel alan uygulama cihazımızda örnekler saf su, peptonlu su ve fizyolojik tuzlu su kullanılarak 5 dakika(dk) ve 30 dakika (dk) olmak üzere 2500 Voltta (V) ve 1800 Voltta (V) 30 saniye aralıklarla kesikli olarak muamele edildi.



Şekil 3.1. Elektriksel alan uygulama cihazı (Elektroporotör)

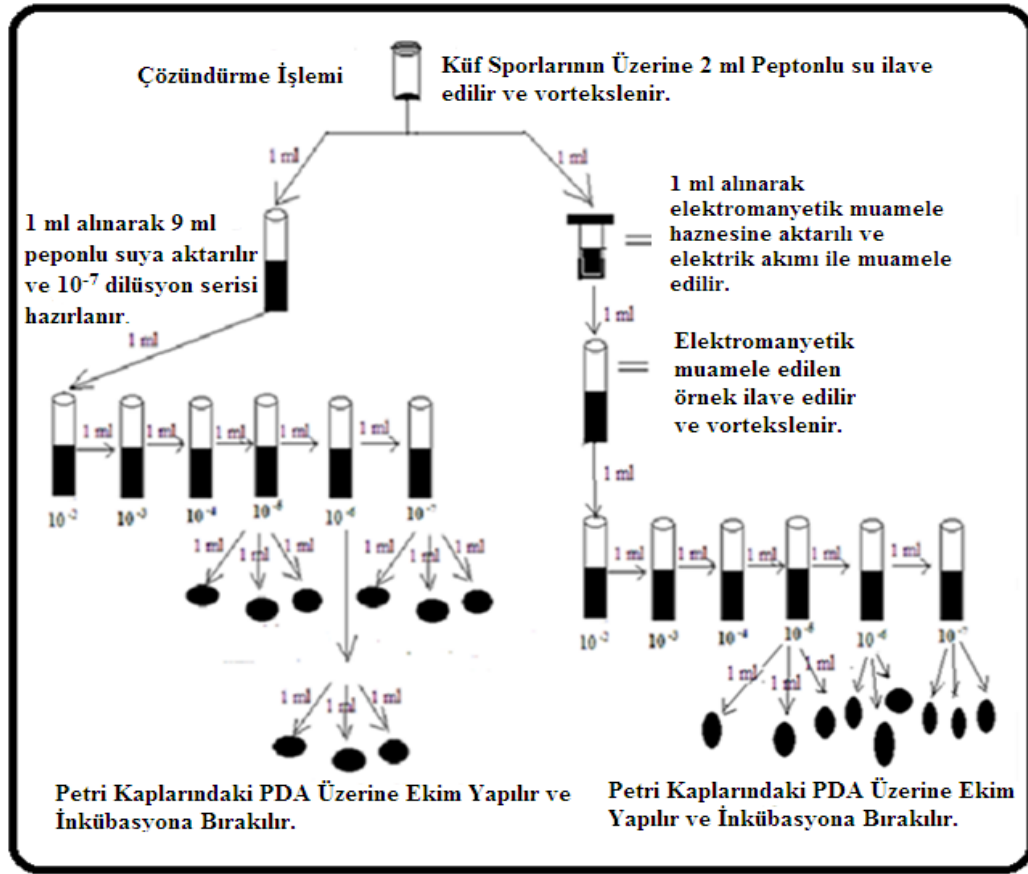
Muamele edilen örnekler dilüsyon çözeltileri yardımıyla PDA üzerine ekilerek hayatta kalan spor sayıları tespit edilmeye çalışıldı. Daha sonra elektrik uygulama süresi 5 dakika (M5), 10 dakika (M10) ve 15 (M15) dakikalık sürelerde 30 sn aralıklarla kesikli olarak gerçekleştirildi. Muameleler sonucunda küf suşlarının hayatta kalan spor sayıları (kob/ml) tespit edildi ve kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

Canlandırma ve çoğaltma işleminden sonra elde edilmiş olan *Aspergillus parasiticus-1041-1* suşunun $\frac{1}{4}$ 'ü PDA üzerinden steril öze yardımıyla kazındı. Kazınan küf sporları 9 ml'lik peptonlu suya aktarıldı. Daha sonra peptonlu su vortekslenerek homojen bir karışım oluşturuldu. Peptonlu su içerisinde mikropipet yardımıyla 2 ml örnekler alındı ve 2 ml'lik örnek steril santrifüj tüplerine aktarıldı. Daha sonra bu tüpler vortekslendi. Vortekslenen tüpler santrifüjlenerek içerisinde bulunan sporların dibe çökertilmesi sağlandı. Çökelme işleminden sonra mikropipet yardımıyla santrifüj tüp içerisindeki peptonlu su boşaltıldı. Plastik tüpler içerisinde elde edilen küf sporları +4 °C' de buzdolabında depolandı. Bu işlem defalarca tekrarlanarak çok sayıda örnek depo edildi (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Küf sporlarının santrifüj tüplerde çöktürülmesi ve depolanması

İçerisinde spor bulunan santrifüj tüplerden 3 adet alındı. Bir tanesinin içerisine 2 ml peptonlu su, diğerine 2 ml saf su ve en sonuncu tüpe de 2 ml fizyolojik tuzlu su ilave edilerek dipte bulunan küf sporlarının çözünmesi sağlandı. 2 ml peptonlu su ilave edilen santrifüj tüp vortekslenerek homojen bir karışım oluşturuldu. Daha sonra bu tüp içersinden 1 ml örnek alınarak elektriksel alan uygulama cihazının haznesine boşaltıldı. Ayrı ayrı 2500 V ve 1800 V 30 saniye aralıklarla 5 dk boyunca kesikli olarak elektrik akımı verildi. Daha sonra bu haznedeki örnek alınarak 10^{-7} lik dilüsyon serisi elde edildi. Daha sonra 10^{-5} 'lik, 10^{-6} 'lık ve 10^{-7} 'lik dilüsyon çözeltilerimizden 1'er ml alınarak her dilüsyondan üçer paralel olmak üzere dökme plak yöntemi ile ekim yapıldı. Ekim yapılan petri kapları (PDA) 24-48 saat inkübatöre bırakılarak küf sporlarının gelişmesi sağlandı. Daha sonra petri kaplarında gelişen küf sporları sayıldı. Santrifüj tüpü içersinde kalan diğer 1 ml'lik örnek mikropipet yardımıyla alınarak 10^{-7} 'lik dilüsyon serisi hazırlandı. Daha sonra 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} 'lik dilüsyon çözeltileri alınarak her dilüsyondan üç paralel olacak şekilde ekim yapıldı. Ekim yapılan örnekler 24-48 saat inkübasyona bırakılarak küf sporlarının gelişmesi sağlandı. Daha sonra gelişim gösteren küf kolonileri sayıldı. Elde edilen koloni sayılarından canlılık gösteren toplam küf sporları sayısı hesaplandı. Ve muamele grubu ile kontrol grubu sonuçları karşılaştırıldı. Yukarıda anlatılan işlemler ayrı ayrı 2500 V ve 1800 V saf su ve fizyolojik tuzlu su örnekleri ile de yapıldı ve sonuçlarda 20-300 aralığında koloni bulunan petri kutuları kullanıldı (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Elektriksel muamele grubu ve kontrol grubu örneklerinin ekimi

3.7. Farklı Tuz Konsantrasyonlarındaki Örneklerin Elektriksel Alan Muamelesi

+4 °C’de 2 ml’lik santrifüj tüplerde depo edilmiş olan *Aspergillus parasiticus*-1041-1 suşunun sporları üzerine sırasıyla % 0.215, % 0.425, % 0.85, % 1,7 ve % 3,4 konsantrasyonlarındaki tuzlu su çözeltisinden 2’şer ml ilave edildi. Elde edilen 2’şer ml’lik örneğin 1 ml’si 10 dakika 1800 Voltta darbeli elektriksel alan uygulamasına tabi tutuldu. Örnek, peptonlu su çözeltilerine eklendi ve 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} ’lik dilüsyon serisi hazırlandı. Elde edilen dilüsyonlardan 1’er ml alınarak PDA besiyerine üç paralel olacak şekilde dökme plak yöntemi ile ekimi yapıldı. Plastik tüpteki 2 ml’lik örneğin diğer 1 ml’si hiçbir işleme maruz bırakılmaksızın peptonlu su çözeltisine eklendi ve 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} ’lik dilüsyon serisi elde edildi. Elde edilen dilüsyonların her birinden 1’er ml alınarak PDA besiyerlerine üç paralel olacak şekilde ekimi yapıldı. Ekim yapılan besiyerleri 48 saat inkübatörde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda gelişim gösteren küf kolonileri (20-300 koloni) sayıldı.

3.8. Farklı Sıcaklıklardaki Örneklerin Elektriksel Alan Muamelesi

+4 °C’de 2 ml’lik santrifüj tüplerde depo edilmiş olan *Aspergillus parasiticus*-1041-1 suşunun sporları üzerine % 0, 85’lik konsantrasyonda tuzlu su çözeltisinden 2’şer ml ilave edildi. Bu tüplerin sıcaklıkları sırasıyla 20 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C ve 60 °C’deki sıcaklıklara ayarlandı. Belirtilen sıcaklıklardaki 2’şer ml’lik örneklerin 1 ml’si alınarak elektroporator haznesine eklendi ve 10 dk boyunca 1800 V elektriksel alan uygulamasına tabi tutuldu. Muamele edilen örnekten 10⁻⁷’lik dilüsyon serisi hazırlandı. Elde edilen dilisyonlardan 1’er ml alınarak PDA besiyerine üç paralel olacak şekilde ekimi yapıldı. Santrifüj tüpteki 2 ml’lik örneğin diğer 1 ml’ si hiçbir işleme maruz bırakılmaksızın peptonlu su çözeltilerine eklenerek 10⁻⁷’lik dilisyonlar elde edildi. Elde edilen dilisyonların her birinden 1’er ml alınarak PDA besiyerlerine üç paralel olacak şekilde dökme plak yöntemi ile ekimi yapıldı. Ekim yapılan besiyerleri 25 °C’ de 48 saat inkübatörde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda 20–300 koloni arasında koloni ihtiva eden küf kolonileri sayıldı.

3.9. Seçilen Fındık Örneklerinin Küflendirilmesi ve Aflatoksin Üretimi

Aspergillus parasiticus-1041-1 suşuna ait sporlar PDA besiyeri dökülmüş beş adet steril petri kaplarına ekildi. Petri kapları 72 saat inkübatörde inkübasyona bırakıldılar. Petri kaplarının ağızları parafilm ile kaplanarak +4 °C’de depolandılar.

Tez de kullanılan fındık örneklerinin kabukları kırılarak fındık içleri çıkartıldı. Fındık içleri % 98’lik etil alkol ile muamele edilerek sterilize edildiler. Steril fındık içlerinin bir kısmı +4 °C’de depolanan *Aspergillus parasiticus*-1041-1 suşun bulunduğu beş adet petri kaplarının içersine konuldu. Fındık içi bulunan petri kutuları 15 gün inkübatörde inkübasyona bırakılarak *Aspergillus parasiticus*-1041-1 suşunun fındık yüzeyinde gelişimi sağlanarak fındık içleri küflendirildi. Sterilize edilmiş olan diğer fındık içleri daha önceden otoklavlanmış cam kavanoz içersine kondu. Petri kaplarında inkübasyona bırakılan fındık içleri 15 gün sonra otoklavlanmış ve içerisinde steril fındık içi bulunan cam kavanoz içersine steril bir metal maşa ilave edildiler. Daha sonra cam kavanozun kapağı kapatılarak cam kavanoz sallanarak küflü fındıkların homojen karışımı sağlandı. Daha sonra cam kavanozun kapağı açılarak kavanozun ağız kısmına steril pamuk takıldı ve yaklaşık

20–25 gün inkübatörde inkübasyona bırakıldı. Bu şekilde cam kavanoz içerisindeki tüm fındık içleri küflendirildi ve küflerin aflatoksin üretmesi sağlandı.

3.10. Küflü Fındık Örneklerinin Elektriksel Alanda Muamele Edilmesi ve Aflatoksin Analizi

3.10.1. Elektriksel alan uygulama cihazının (elektroporotör) özellikleri

Bir trans-membran elektrik alan elektroporasyon esnasında harici bir elektrik alanı tarafından indüklenir. Genellikle kısa doğru akım vuruşu hücre süspansiyonuna uygulanarak yapılır. Trans-membran elektrik alan hücre zarının bölgesel istikrarsızlaştırılmasını teşvik eder, buna elektroforez denir. İstikrarsızlaştırma süresince zarın, iyonlar ve su gibi moleküllerin geçirgenliği yüksek olur. Aynı zamanda DNA gibi makro moleküller içinde geçirgenlik yükselir. Elektroporasyon ile indüklenmiş hücrenin geçirgenliği elektrik alan gücüne, darbe süresine ve hücrenin çapına bağlıdır. Etkili elektroporasyon da elektrik alanı gücü büyük böcek hücrelerinde $12,5 \text{ kV cm}^{-1}$ ile 450 V.cm^{-1} arasında değişir ve bakteriler için daha yüksektir.

Elektrik alan ve darbe süresi düşük çalışma sınırının üzerinde olmak zorundadır. Por sayısı ve por yarıçapı elektrik alan ve darbe süresi ile artar. Ancak üst çalışma sınır değerine ulaşıldığında, bu hücrenin geri dönüşümsüz zarar görmesine neden olmaktadır. Elektroporasyon işlemi süresince hücreler ile saf su ve diğer kimyasalların temas halinde olması elektroporasyon işleminin etkinliğini etkilemektedir. Ayrıca kullanılan küvetin kalitesi oldukça önemlidir. Küvetin tekrar tekrar kullanılması hem kontaminasyon riskini artırmaktadır hem de küvetin alüminyum plakalarının oksitlenmesine neden olmaktadır. Oksitlenme sonucunda elektrik akımı geçişi zorlaşmaktadır. Bundan dolayı buhar sterilizasyonundan kaçınılmalıdır. Küvetin sıcaklığının artması da örneğin elektriksel iletkenliğini artırır.

Elektroporotör cihazları canlılarda daha çok gen aktarımında kullanılan bir cihazdır. Ayrıca, elektroporotör cihazı mikroorganizmaların öldürülmesinde de kullanılabilir. Elektriksel alan gerilimi oluşturarak hücrelerin membranların da gözenekler oluşturma ve hücre duvarını parçalama özelliğine sahiptirler. Bizim

Çalışmamızda kullandığımız elektroporotör 2 mm'lik sarı renkli küvetlerde (Şekil 3.4), tek darbede 13 µs süresince 50 Hz dalga sıklığında, 1800 V ve 2500 V gerilim uygulama özelliğine sahiptir. Cihaz bir adaptöre bağlı olarak çalışmaktadır. Bizim analizlerimizde kullandığımız cihaz Şekil 3.5'de gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Elektroporotör cihazı küveti



Şekil 3.5. Çalışmada kullanılan Elektroporotör cihazı ve adaptör

3.10.2. Küflü fındık örneklerinin elektriksel alanda muamele edilmesi

Küflü fındıklar % 98'lik etil alkol ile dezenfekte edilmiş havanda öğütüldü. Öğütülen küflü fındıklardan 21 gr tartıldı ve steril bir plastik şişeye kondu. Üzerine 63 ml % 0.85'lik fizyolojik tuzlu su (FTS) ilave edildi. Daha sonra vorteksenerek homojen hale getirildi.

Öğütülmüş küflü fındık ve FTS karışımından 6 gr Kontrol grubu için, 6 gr 10 dakika 1800 V elektriksel alan uygulaması için ve 6 gr 15 dk 1800 volt elektriksel muamele için örnekler alındı. Elektroporator cihazının haznesi yaklaşık 1,5-2 gr örnek almaktadır. Bu nedenle 10 dakikalık ve 15 dakikalık elektromanyetik muameleler için 6 gr'lık örnekler dörder seferde gerçekleştirildi.

Kontrol grubu, 10 dakikalık ve 15 dakikalık muamele örnekleri için aflatoksin analizi Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarında HPLC cihazında yapıldı.

3.10.3. Aflatoksin analizi yapılan örneklerde mikrobiyolojik sayım

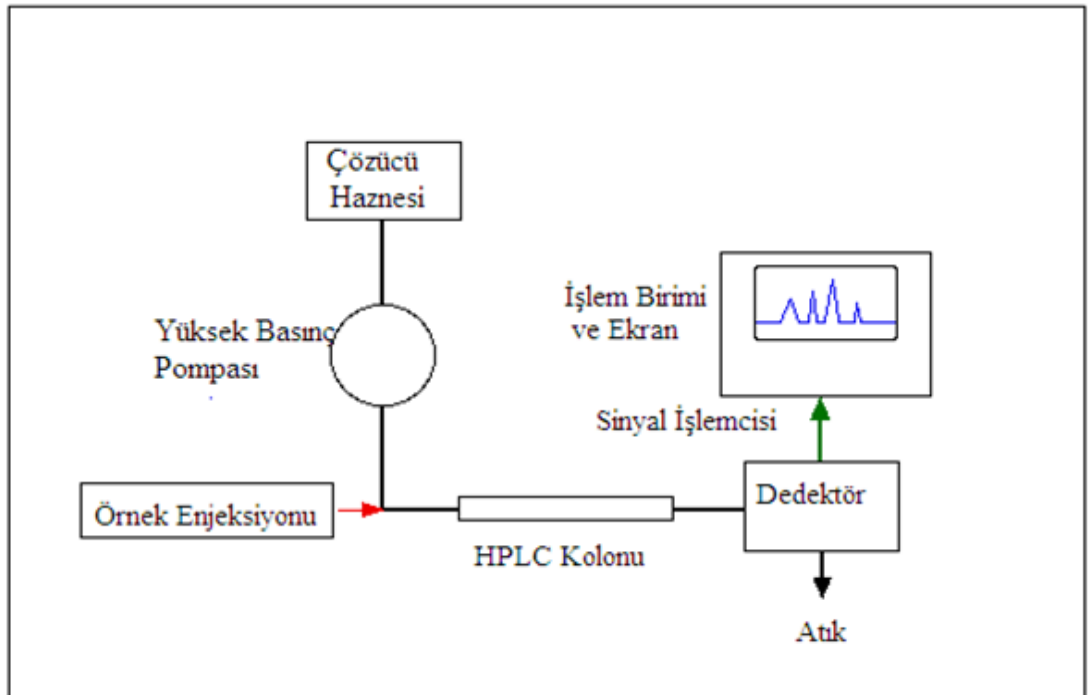
Aflatoksin analizi yapılacak olan Kontrol grubu, 10 dakikalık muamele ve 15 dakikalık muamele örneklerinden 1'er ml alınarak üçer paralelli olacak şekilde 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} 'lik dilüsyonlarda içerisine Chloramphenicol ilave edilmiş OXOID AFPA BASE bulunan petri kaplarına Dökme Plak Yöntemiyle ekim yapıldı ve 48 saat 25 °C 'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda 20-300 koloni sayısı aralığındaki küf kolonileri bulunan petri kapları sayıldı. Sayım sonuçları aflatoksin analizi sonuçları ile karşılaştırıldı.

3.10.4. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile aflatoksin analizi

3.10.4.1 HPLC (high-performance liquid chromatography)

Aflatoksin analizi Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarında HPLC cihazı kullanılarak yapıldı.

HPLC cihazı karışım halinde birbirinden farklı bileşenlerin analitik kimyada ve biyokimyada nitelenmesi, arındırılması ve tanımlanması amacıyla kullanılan kromatografik bir yöntemdir. Ayrıca HPLC analitik kimya da bir enstrümantal teknik olarak kabul edilir. HPLC tıp, adli, bilimsel araştırmalarda ve üretim aşamaları olmak üzere birçok alanda kullanılır. HPLC ayırma kolonu üzerine yüklenen bir çözücü ve örnek karışımının bir pompa yardımıyla ayrılması temeline dayanır. Bir HPLC ayırma kolonu silika, polimerler ve sorbentler ile doldurulur. Örnek karışım bu kolon içerisindeki etken bileşikler ile etkileşime girerek ayrışır. HPLC’de ayırma sıvı çözücünün koşullarından (sıcaklık, basınç), örnek ile sıvı çözücünün arasındaki kimyasal etkileşimden etkilenmektedir. HPLC içersine örnek karışımın enjekte edildiği bir örnekleyici, içersinde sıvının hareket etmesini sağlayan bir pompa, ayırma kolonu, kalitatif ve kantitatif analizlerde ayrıştırma için dijital analit dedektör, HPLC bileşenlerinin kontrol edilmesi için bir mikroişlemci içermektedir(Şekil 3.6).



Şekil 3.6. HPLC cihazının çalışma ekipmanları ve prensibi

Çalışmamızda kullanılan HPLC cihazının teknik özellikleri şöyledir:

- Marka: SCHMADZU
- RF-10AXL Floresans Dedektör (Ex 362 nm- 425 nm)
- Otomatik örnekleyici: SIL-20AC prominence
- Sistem kontrol: LC-20AT promicence
- Pompa: 20AT promicence
- Kolon Fırını: CTO-10ASvp (25 °C)
- Kolon: Tracer extrasil ODS2 (250x4,6 mm) 5µ
- Mobil faz: (asetonitril/su/metanol) (20/60/20)+ 120 mg KBR+ 100 µL
- Enjeksiyon Hacmi: 100 µL
- Akış Hızı: 1,0 ml/dakika

3.10.4.2. HPLC ile aflatoksin analizi

Aflatoksin analizleri Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel ve Gözlemsel Araştırma ve Uygulama Merkezi laboratuvarında Association of Official Analytical Chemists (AOAC) geliştirdiği metot kullanarak yapılmıştır (Basaran vd., 2008).

Küflü fındık ve %0.85'lik tuzlu su karışımından 3,5 gr numune alınıp 0.28 gr sodyum klorürle beraber blendır haznesine koyuldu. 7 ml su eklendi ve Waring blendırda 1 dakika yüksek hızda karıştırıldı. 10.5 ml metanol eklendi ve 2 dakika daha yüksek hızda karıştırıldı. Örnek Whatman No:4 filtre kâğıdı ile süzüldü ve filtrat erleninde toplandı. Immunoaffinite kolonu, 5 ml/dak hızla 10 ml PBS çözeltisi geçirilerek şartlandırılır. Filtratın 5 ml'si bir behere alındı ve üzerine 15 ml PBS çözeltisi eklendi. 20 ml seyreltilmiş filtrat 3 ml/dk hızla Immunoaffinite kolondan geçirildi. Kolon yaklaşık 10 saniye şırınga ile hava geçirerek kurutuldu. Aflatoksinler kolondan saniyede 1 damla geçecek şekilde 250 µL metanol ile elue edilir. 1 dakika beklendi ve 0.25 µL daha metanol kolona uygulanır ve eluat vialde toplandı. Immunoaffinite kolondan 500 µL distile su geçirildi ve toplam çözelti miktarı 1 ml olacak şekilde aynı vialde toplandı. 100 µL'si HPLC cihazına enjekte edildi.

3.11. Elektriksel Muameleye Maruz Kalan Fındık Örneklerinde Renk Tayini

Kabuğu kırılmış fındık içleri öğütme işlemine tabi tutulduktan sonra 6 gr fındık içi tartıldı. Plastik bir şişe içine aktarıldı. FTS çözeltisinden 18 ml kadar üzerine ilave edildi. Bu karışımdan kontrol grubu, 10 dakika ve 15 dakika olmak üzere her biri için yaklaşık 1,5-2,0 gr alındı. Elektriksel muamele için alınan örnekler 10 dakika ve 15 dakika boyunca 30 saniye aralıklarla 1800 Voltta darbeli elektriksel alana maruz bırakıldılar. Muamele sonrasında örnekler cam petri üzerine yayıldı. Daha sonra üç grup örneğin renk analizi (CIE) Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Laboratuvarında Minolta CR-400 renk cihazı(Minolta Corp, Ramsay, NJ, ABD) kullanılarak yapıldı.

3.12. Elektriksel Muameleye Maruz Kalan Fındık Örneklerinden Ekstrakte Edilen Fındık Yağında Yapılan Analizler

3.12.1. Fındık yağının ekstraksiyonu

Kabuğu kırılmış fındık örnekleri öğütüldü. Kontrol, 10 dakika elektriksel muamele ve 15 dakika elektriksel muamele örneklerinin her biri için 21 gr tartıldı. 10 ve 15 dakika elektriksel alan uygulaması yapılacak örnekler üzerine 63 ml FTS ilave edildi. Örnekler homojen bir şekilde karıştırıldı. Kontrol grubuna hiçbir işlem yapılmaksızın kurutmaya alındı, 10 dakikalık elektriksel muamele ve 15 dakikalık elektriksel muamele örnekleri 21 gr oluncaya kadar elektriksel alan uygulamasına tabi tutuldu ve etüvde 72 °C'de sabit ağırlığa gelinceye denk 24 saat kurutuldu. Kurutulan örnekler desikatöre alınarak soğutuldu.

Kurutulan örnekler petri kutuları ile birlikte tek tek tartıldı. Tartım sonuçları aşağıdaki gibidir:

- Kontrol: 20,4665gr
- 10 Dakika Elektrik Muamelesi(M10): 12.2 gr
- 15 Dakika Elektrik Muamelesi(M10): 14.4 gr

Örnekler Soxhelet cihazına konmadan petri kutularının üzerinden kazındı ve tekrar tartıldı. Tartım sonuçları aşağıdaki gibidir:

- Kontrol: 19,984 gr
- 10 Dakika Elektrik Muamelesi(M10): 11,8950 gr
- 15 Dakika Elektrik Muamelesi(M15): 14,1218 gr

Örnekler tartımdan sonra Whatman kâğıdından yapılan kartuşun içerisine kondu ve etrafı tel zimba ile zımbalandı. Daha sonra hazırlanan kartuşlar soxhelet cihazının ekstraksiyon tüpünün içerisine kondu. Balona ve gövdeye 1.5 sifon yapacak şekilde hekzan çözgeni kondu. Çözücü yavaş kaynayacak şekilde sıcaklık ayarlaması yapıldı. Hekzan çözgeni kaynamaya başladıktan itibaren 4 saat örneklerle ekstraksiyon işlemi uygulandı. Ekstraksiyon işleminin sonunda balon içerisindeki fındık yağı ve posadaki çözücüyü ayırmak için etüvde 105 °C' de 1 saat bekletildi. Örnekler sabit tartıma gelince örnekler etüvden çıkartıldı. Ekstraksiyon sonucunda kontrol grubu için elde edilen yağ miktarı yaklaşık 10 ml, 10 dakika ve 15 dakika elektriksel alan uygulanmış örneklerden elde edilen yağ miktarı yaklaşık 7,5 ml'dir. Elde edilen fındık yağı yağ asidi profili, tokoferol bileşenleri ve fındık yağının yapı analizi yapmak üzere -18 °C'de depolandı.

Etüvden sonra örneğin (posa) kuru ağırlığı aşağıda verildiği gibidir:

- Kontrol: 8,4358 gr
- 10 dakikalık Elektrik Muamelesi: 6,0614 gr
- 15 dakikalık Elektrik Muamelesi 6,9811 gr



Şekil 3.7. Elektriksel alan uygulanan (1800 Volt)findıklardan elde edilen fındık yağı

3.12.2. Elektriksel alan uygulaması sonrası elde edilen fındık yağının yağ asitleri metil esterleri % kompozisyonu tayini

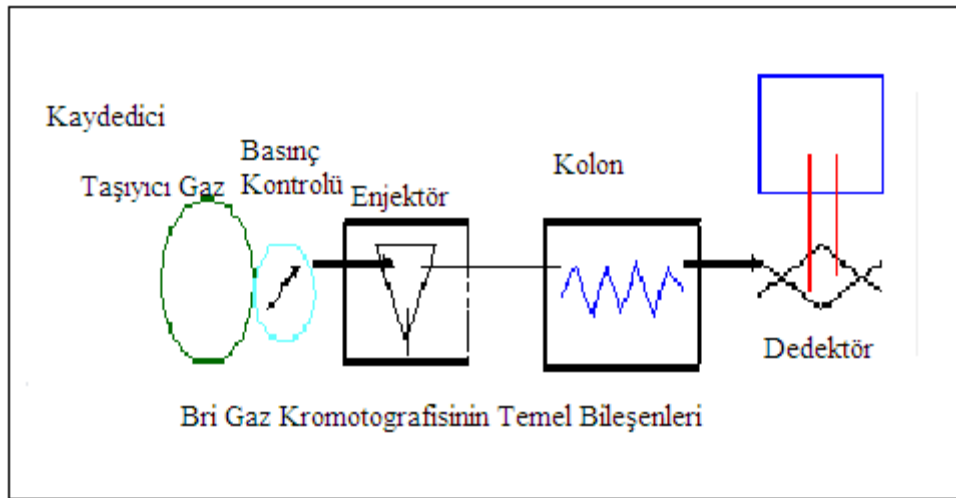
3.12.2.1. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi(gc-ms) cihazının özellikleri

Bir karışımda gaz halinde bulunan veya kolayca buharlaştırılabilen bileşenlerin birbirinden ayrılması amacıyla gaz kromatografisi yöntemi kullanılır. Bu yöntemde ayrılma, bileşenlerin farklı katı yüzeylerdeki farklı adsorpsiyon ilgilerine göre gerçekleşir. Numunede bulunan bileşenler bir cihazla spektrum haline getirilir ve bu spektrumda bulunan her pik ayrı bir bileşeni gösterir. GC, verilen bir numunenin içersindeki uçucu maddelerin sayısının ve miktarının tayin edilmesinde, bir maddenin saf olup olmadığında ve yeni geliştirilen bir metodun ne derece duyarlı olduğunun araştırılmasında fayda sağlar.

Günümüzde GC cihazları doğrudan hızlı taramalı bir kütle spektrometresine bağlanacak şekilde imal edilmektedir (GC-MS). Kromatografi cihazındaki akış hızı kütle spektrometresinin tarama hızına göre ayarlanır. Böylece kolondan çıkan fraksiyonlar MS'in iyonlaştırma hücreğine gider. Burada elüe edilen numuneden elektron darbesi veya kimyasal iyonlaştırma metoduyla iyonlar elde edilir, radyo frekanslı bir alanda toplanan iyonlar çoklu elektron detektörüne gönderilir ve kütle/yük oranlarına göre kaydedilir. Böylece herhangi bir standardımız olmadan kütüphanede var olan bileşenlere benzerlik oranlarına göre numunemizdeki bileşenleri veya kütle/yük oranlarından faydalanarak bileşenleri tanımlayabiliriz.

GC'nin Kısımları (Şekil 3.8):

1. Taşıyıcı gaz sistemi
2. Numune enjekte etme kısmı
3. Isıtma kısmı
4. Ayırma kolonu
5. Detektör
6. Yazıcı, Kaydedici



Şekil 3.8. GC cihazının temel bileşenleri

Tez çalışmamızda, yağ asitleri metil esterleri % kompozisyonu Perkin Elmer Auto System XL markalı cihazda VARIAN CP sil for FAME 50 m x 0,25 mm 0,2 microm

markalı kolonda alev iyonizasyon detektörü kullanılarak tespit edilmiştir. Mobil faz olarak 15 PSİ basınçtaki helyum gazı kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi 1 µL' dir.

3.12.2.2. Elektriksel alan uygulaması sonrası ekstrakte edilen fındık yağının yağ asitleri metil esterleri % kompozisyonu analizi

Fındık yağının yağ asidi profil analizleri Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel ve Gözlemsel Araştırma ve Uygulama Merkezi laboratuvarında GC-MS cihazında yapılmıştır.

Fındık yağı örneklerinden 100 µL yağ alınıp % 0.5 sodyum Metoksit (80:20) (Methanol:İzooktan) içeren türevlendirici içersinde 24 saat oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra üzerine 1 ml isooktan eklendi ve vortekslendi. Vorteksleme işleminden sonra üst fazın ayrılması beklendi. Üst faz ayrıldıktan sonra 1 µL alınarak GC' ye enjekte edildi ve sonuçlar okundu.

3.12.3. Fındık yağının HPLC ile tokoferol tayini

Tokoferol analizi Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma Uygulama Merkezi Laboratuvarında HPLC Cihazında Yapılmıştır.

Tokoferol analizimizde kullanılan HPLC cihazının teknik özellikleri aşağıdaki gibidir:

- SCHMADZU marka
- RF10AXL Floresans Dedektör (Ex 295 nm- 330 nm)
- Otomatik örnekleyici: SIL-20AC prominence
- Sistem kontrol: LC-20AT promicence
- Pompa: 20AT promicence
- Kolon Fırını: CTO-10ASvp (25 °C)
- Mobil faz: Heptan/THF (95:5)
- Enjeksiyon Hacmi: 10 µL
- Akış Hızı: 1,2 ml/dakika

Fındık yağı numune örneğimiz Heptan/THF(95:5) mobil fazında seyreltilerek HPLC cihazına enjekte edildi. Daha sonra alfa (α), beta (β), gama (γ) ve delta (δ) tokoferol miktarları belirlendi.

3.12.4. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile fındık yağı yapı analizi

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (Fourier Transform Infrared Spectroscopy-FTIR): Kızılötesi (IR) absorpsiyon spektroskopisi bir tür titreşim spektroskopisidir; IR ışınları molekülün titreşim hareketleri tarafından soğurulmaktadır. Matematiksel Fourier dönüşümü spektroskopisinde ışıma şiddeti, zamanın bir fonksiyonu olarak alınır. Her dalga boyunu ayrı ayrı tarama gerekmeksizin hızlı ve yüksek çözünürlükte spektrumlar elde edilebilir. Bu yöntem ile moleküler bağ karakterizasyonu yapılarak; katı, sıvı, gaz veya çözelti halindeki organik bileşiklerin yapısındaki fonksiyonel grupları, iki bileşiğin aynı olup olmadığı, yapıdaki bağların durumu, bağlanma yerleri ve yapının aromatik yada alifatik olup olmadığı belirlenebilir.

Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma ve uygulama Merkezi laboratuvarına Perkin Elmer Spectrum BX markalı FTIR cihazı ile yapılmıştır.

Örnekler direkt olarak FTIR cihazına enjekte edildi. Analizler oda sıcaklığına ATR tekniği ile 2 cm^{-1} çözünürlükte, $4000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ orta infrared bölgesinde 2 cm^{-1} aralıklarla 32 tarama sayısı ile yapıldı.

3.13. Küf Sporlarının Elektromanyetik Muamele Sonucunda Taramalı Elektron Mikroskopunda (SEM, Scanning Elektron Microscopy) Görüntü Analizi

Küf sporlarının SEM ile görüntü analizi Süleyman Demirel Üniversitesi Teknokent Plazma Uygulama Sanayi laboratuvarında yapıldı.

+4 °C’de depo edilmiş PDA üzerine ekili küf sporları bulunan petri kaplarının ¼’ü kazındı ve 9 ml’lik peptonlu su çözeltisine steril öze yardımı ile aktarıldı ve

vortekslendi. Bu tüpten 1 ml alınarak 9 ml'lik başka peptonlu su çözeltisine aktarıldı ve vortekslendi. Bu tüpten kontrol grubu, 10 ve 15 dakikalık elektrik uygulaması olmak üzere 3 adet 2 ml'lik tüplere 2'şer ml alınarak santrifüjlendi. Santrifüjleme sonucunda dipte çöken küf sporları üzerindeki peptonlu su steril bir uç takılı mikropipet yardımı ile alındı. Dipte kalan küf sporlarının üzerine 2'şer ml FTS çözeltisinden ilave edildi ve vortekslendi. Bu tüplerin içersindeki örneklerden 1'er ml alınarak 10 dakika ve 15 dakika boyunca kesikli olmak üzere 30 saniye aralıklarla 1800 Volt elektrik akımı uygulandı. Daha sonra elektromanyetik cihazının küvetindeki örnekler 2 ml'lik plastik tüplere alınarak santrifüjlendi. Santrifüjleme sonunda küf sporları tüp tabanında birikti ve üzerindeki sıvı faz kısmı ayrıldı. Tüp tabanında kalan sporların kuruması için 30 °C'lik su banyosuna tüplerin ağzı steril tül parçası bağlanarak kurutuldu. Kurutulma sonucunda dipte kalan küf sporları steril bir öze yardımıyla kazındı ve metal bir plaka üzerine yerleştirildi. Daha sonra metal plaka elektron mikroskobuna yerleştirildi ve görüntü çekimi yapıldı.

3.14. İstatistiksel Analiz

Darbeli elektriksel alan uygulamasına maruz kalmış findık örneklerinden elde edilen findık yağında yapılan tokoferol ve renk analizleri için SPSS for Windows (16) paket programı kullanılarak istatistiksel olarak varyans analizi ve Duncan tek yönlü karşılaştırma testi kullanılarak %95 güven eşiğinde değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Farklı Küf Suşlarına Ait Küf Sporlarının Gelişimi

Canlandırma ve çoğaltma işlemine tabi tutulmuş küf suşlarının gelişme durumları incelenmiş ve üzerinde çalıştığımız küf suşlarının içersinde *Aspergillus parasiticus-1041-1* suşunun diğer suşlara göre daha hızlı geliştiği ve daha fazla spor oluşturduğu tespit edilmiştir. Tez çalışmamızda bu suşun kullanılmasına karar verilmiştir. Bu amaçla PDA üzerine *Aspergillus parasiticus-1041-1* suşu ekilerek tezimizde kullanılacak kadar suş sayımız artırılmış ve petri kaplarının ağızları parafilm ile kaplanarak +4 °C 'de depolandı.

4.2. Elektriksel Alan Uygulamalarının Küf Kolonileri Üzerine Etkisi

Saf su, peptonlu su ve fizyolojik tuzlu su çözeltileri kullanılarak *Aspergillus parasiticus-1041-1* suşuna 5 dakika ve 30 dakika boyunca 1800 V/50 Hz ve 2500 V/50Hz de 30 sn aralıklarla kesikli elektriksel alan muameleleri uygulandı ve sonucunda 30 dk muamelelerin küf sporlarının sayısını oldukça azalttığı ve hatta bazı örneklerde küf sporlarının tamamını öldürdüğü gözlemlendi. Bu nedenle elektriksel alan uygulamaları süreleri üzerinde değişiklik yapıldı ve muamele süreleri 5, 10 ve 15 dakika olarak belirlendi. Elektriksel alan muameleleri sonucunda küf sayıları üzerindeki değişiklikler logaritmik olarak Çizelge 4.1, 4.2 ve Şekil 4.1 olarak aşağıda verilmiştir.

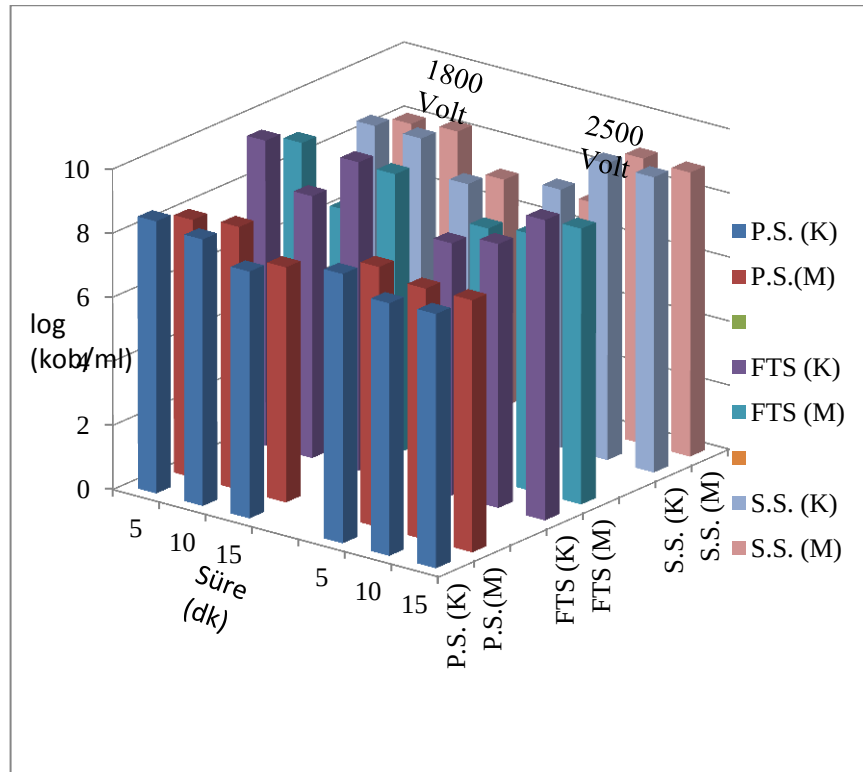
Çizelge 4.1. Farklı Süre ve farklı güçteki vurgulu elektriksel alan uygulamaları Sonucu *Aspergillus parasiticus*-1041-1 Suşuna ait koloni sayılarındaki logaritmik değişim (kob/ml)

	SÜRE (Dakika)	P.S.(K)	P.S.(M)		FTS(K)	FTS(M)		S.S.(K)	S.S.(M)
1800 Volt	5	8,49	7,879		9,5188	8,9557		8,4903	7,8257
	10	8,3131	8,2062		8,2009	7,2253		8,4835	8,2054
	15	7,6989	7,3541		9,6196	8,807		7,4668	7,0899
2500 Volt	5	8,3996	8,1215		8,27	7,832		10,049	9,1139
	10	7,875	7,8344		8,2619	8,0141		9,2504	8,9123
	15	7,9293	7,8591		9,3653	8,6019		9,243	8,6469

*P.S.(K): Peptonlu Su Kontrol *P.S.(M): Peptonlu Su Muamele

*FTS(K): Fizyolojik Tuzlu Su Kontrol *FTS(M): Fizyolojik Tuzlu Su Muamele

*S.S.(K): Saf Su Kontrol * S.S.(M): Saf Su Muamele



Şekil 4.1. Farklı süre ve farklı güçteki vurgulu elektriksel alan uygulaması sonrası koloni sayılarındaki logaritmik değişim

Çizelge 4.2. Farklı sürelerdeki ve farklı güçteki elektriksel alan uygulamaları sonucunda koloni sayısındaki logaritmik azalma (kob/ml)

		Peptonlu su (P.S.)	Fizyolojik Tuzlu Su (FTS)	Saf Su (S.S.)
1800 Volt	5 Dakika	0,611	0,5631	0,6646
	10 Dakika	0,1069	0,9756	0,2781
	15 Dakika	0,3448	0,8126	0,3769
2500 Volt	5 Dakika	0,2781	0,438	0,9351
	10 Dakika	0,0406	0,2478	0,3381
	15 Dakika	0,0702	0,7634	0,5961

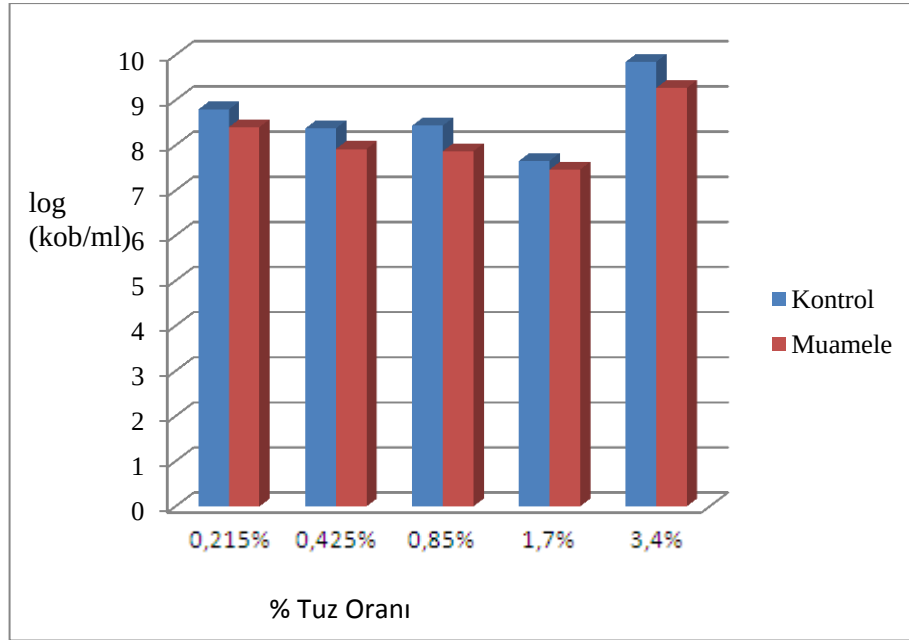
Grafikte görüldüğü gibi genel olarak en fazla koloni sayısındaki azalmaların FTS çözeltilerinde 1800 Voltta 10 dakikada daha belirgin olduğu gözlenmiştir. 10 ve 15 dakika'daki farklılığın küf spor sayılarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3. Farklı Tuz Konsantrasyonlarındaki Küf Kolonilerine Uygulanan Elektriksel Alan Uygulamasının Etkisi

Oda sıcaklığında 1800 voltta 30 saniye aralıklarla 10 dakika boyunca farklı tuz konsantrasyonlarına enjekte edilmiş *Aspergillus parasiticus*-1041-1 suşunun koloni sayılarındaki logaritmik değişim Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2'de verilmiştir. Yapılan analiz sonucunda tuz konsantrasyonlarının artışına paralel olarak *Aspergillus parasiticus* suşunun inaktivasyonu artış göstermiştir. %1,7'lik tuz çözeltisindeki inaktivasyon oranının düşük olmasının da diğerlerine göre düşük olmasının küf sporlarının yoğunluğunun düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.3. Farklı tuz konsantrasyonlarında elektriksel alan uygulaması sonucundaki küf sporlarındaki logaritmik değişim (Kob/ml)

% FTS	Kontrol (Kob/ml)	Muamele (kob/ml)	Logaritmik Fark
%0,215	8.796	8.405	0,391
%0,425	8.376	7.92	0,456
%0,85	8.4396	7.8717	0,5679
%1,7	7.6576	7.4628	0,1948
%3,4	9.852	9.272	0,58



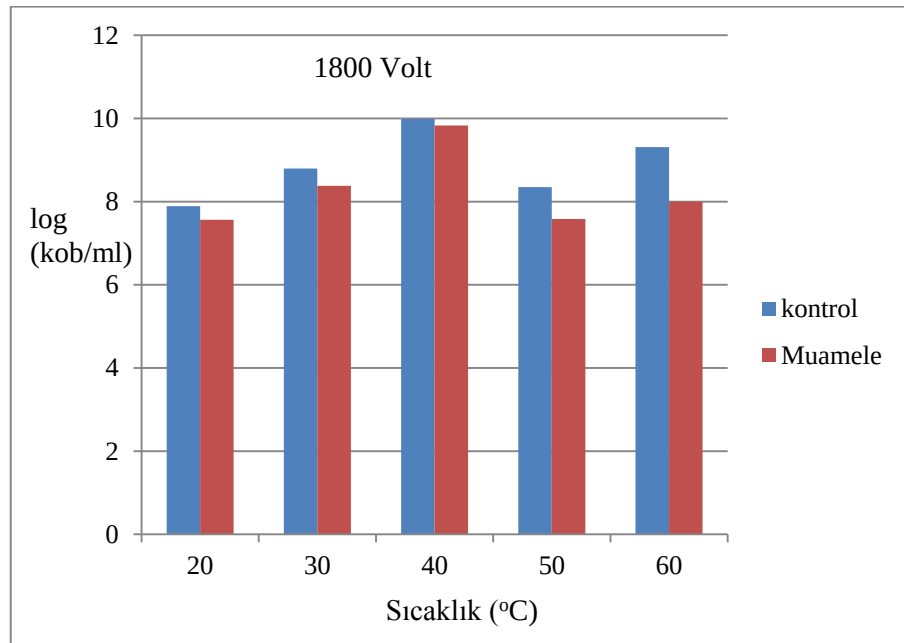
Şekil 4.2. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Elektriksel Alan Uygulaması Sonucu Küf Sporlarındaki Değişim

4.4. Farklı Sıcaklıklardaki Küf Kolonilerine Uygulanan Elektriksel Alan Uygulamasının Etkisi

Farklı sıcaklıklarda %0,85'lik FTS çözeltisinde elektriksel alan uygulamalarında 1800 V, 30 saniyelik sürelerde 20, 30, 40, 50 ve 60 °C' lik sıcaklıklarda 10 dakika boyunca elektriksel alan uygulaması sonucunda küf sporlarının inaktivasyon oranının logaritmik olarak artış gösterdiği gözlenmiştir (Çizelge 4.4. ve Şekil 4.3.)

Çizelge 4.4. Farklı sıcaklıklarda 1800 voltta 10 dakika boyunca elektriksel alan uygulanması sonucu küf sayılarının logaritmik olarak değişimi

Sıcaklık	Kontrol (Kob/ml)	Muamele(Kob/ml)	Logaritmik Fark
20 °C	7,892	7,564	0,328
30 °C	8,796	8,381	0,415
40 °C	9,987	9,831	0,156
50 °C	8,3141	7,584	0,7301
60 °C	9,312	7,998	1,314



Şekil 4.3. Farklı sıcaklıklarda 1800 voltta 10 dakika boyunca elektriksel alan uygulaması sonucu küf sayılarının logaritmik (kob/ml) olarak değişimi

4.5. Elektriksel Alan Muamelesi Sonrası Aflatoksin Analizi

Küflü fındıklar öğütüldükten sonra üzerine %0,85'lik FTS çözeltisi ilave edildi. Bu karışımdan yaklaşık 6 gr'lık örnekler 10 ve 15 dakika 1800 V 30 sn'ye aralıklarla darbeleri elektriksel alana maruz bırakıldı. Daha sonra bu örneklerin mikrobiyolojik sayımları ve HPLC cihazında aflatoksin analizi yapıldı. Sonuçlar Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Çizelge 4.5. ve 4.6 'da gösterilmiştir.

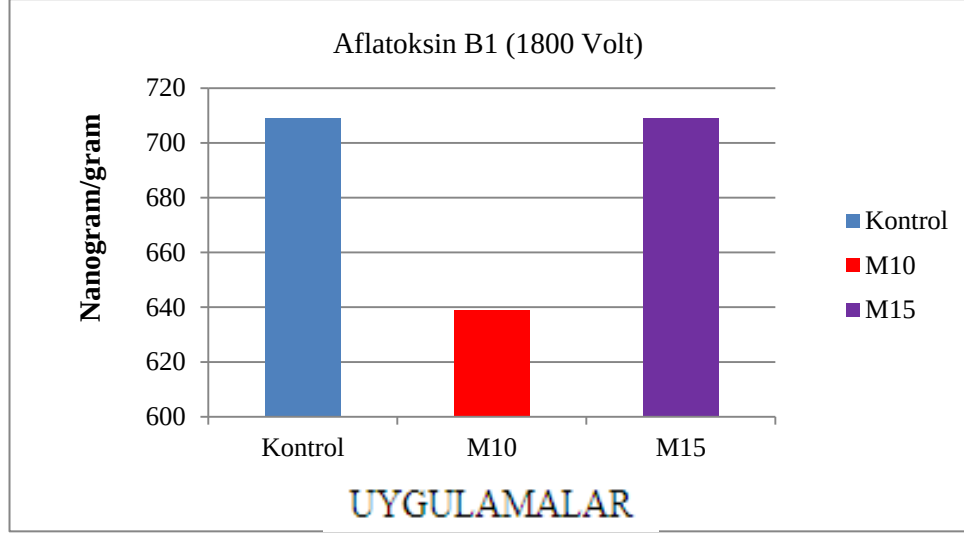
Yapılan aflatoksin analizi sonucunda aflatoksin G1 ve G2 bulunamamıştır. Çizelge 4.6’da görüldüğü gibi aflatoksin B1 ve B2 tespit edilebilmiştir. Elektrik uygulaması sonucunda aflatoksin miktarlarında düşme beklenmekteyken aksine aflatoksin(B2) miktarında yükselme gözlenmiştir. Aflatoksin B1 de 10 dk uygulama sonucunda bir azalma gözlenirse de 15 dakikalık muamelede kontrol grubuyla aynı düzeyde aflatoksin olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun nedeni örneklerdeki küf sporlarının miktarının farklı olmasından, küflü fındık örneğinin kompleks yapısından ve örneğin homojen olmamasından dolayı darbeli elektriksel alan uygulamasının istenilen düzeyde gerçekleşmediği düşünülmektedir. Kompleks yapıdaki gıdaların yapısında bulunan bazı bileşenlerin elektrik uygulamasının etkinliği azaltabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.5. Aflatoksin analizi için darbeli elektriksel alana maruz bırakılan küflü fındıkların *Aspergillus parasiticus-1041-1* suşunun logaritmik (kob/ml) olarak koloni sayım sonuçları

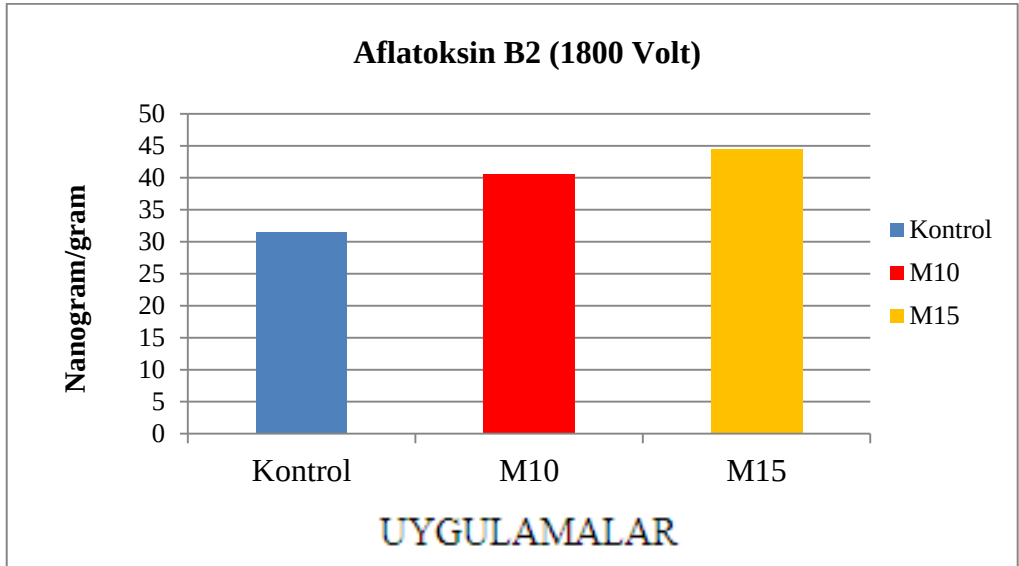
Kontrol	8,669 log
10 Dakikalık Muamele	8,342 log
15 Dakikalık Muamele	8,445 log

Çizelge 4.6. Darbeli elektriksel alana maruz bırakılan küflü fındıkların aflatoksin değişimi(nanogram/gram)

Numune	G2	G1	B2	B1
Kontrol	*	*	31,54	708,81
M10	*	*	40,51	638,90
M15	*	*	44,52	708,05



Şekil 4.4. Darbeli elektriksel alana maruz bırakılan küflü fındıkların aflatoksin B1 miktarı



Şekil 4.5. Darbeli elektriksel alana maruz bırakılan küflü fındıkların aflatoksin B2 miktarı

4.6. Elektriksel Alan Uygulamasının Fındık Yağının Yağ Asitleri Metil Esterleri % Kompozisyonuna Etkisi

GC-MS cihazında elde edilen fındık yağı yağ asidi kompozisyonlarına ait piklerin alanları yağ asitlerinin miktarlarını göstermektedir. Bu pik alanları kullanılarak fındık yağı örneğimizdeki yağ asitlerinin yüzdeleri hesaplanmıştır. Yapılan yağ

ekstraksiyonu sonucu kontrol grubunda palmitik, palmitoleik, stearik, oleik, linoleik, linolenik yağ asitleri miktarı sırasıyla %6,1157; %0,175; %3,485; %79,38; %10,56; %0,2726 olarak bulunmuştur. 10 dakikalık muamele sonucunda palmitik, palmitoleik, stearik, oleik, linoleik, linolenik yağ asitleri miktarında sırasıyla %5,51; %0,16105; %2,91103; %80,72; %10,43; %0,2575 olarak bulunmuştur. 15 dakikalık muamele sonucunda ise palmitik, palmitoleik, stearik, oleik, linoleik, linolenik yağ asitleri miktarı %5,52; %0,1639; %2,8924; %80,86; %10,29; %0,24 olarak bulunmuştur.

Fındık örneğinin darbeli elektriksel alan uygulamasından (1800 Volt, 10 ve 15 Dakika) sonra yağı alınarak GC-MS ile yağ asidi profili incelenmiş ve GC-MS de elde edilen piklerin alanlarına bakılarak elektrik uygulamasının genel olarak yağ asitleri üzerine olumsuz etkisi olduğu görülmüştür. Palmitik, palmitoleik, stearik, oleik, linoleik ve linolenik yağ asitlerinin azalmasına neden olmuştur. Yağ asitlerinin miktarındaki değişim GC-MS cihazında elde edilen pik alanları dikkate alınarak Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Elektrik alan uygulamasının yağ asitleri üzerinde meydana getirdiği değişim

Yağ Asitleri	GC-MS pik Alanı		
	Kontrol	M10	M15
Palmitik(C16:0)	1402100	1241809	746635
Palmitoleik(C16:1)	40121	36265	22136
Stearik (C18:0)	799011	655491	390535
Oleik (C18:2n6c)	18200450	18176901	10918530
Linoleik (C18:2n6c)	2421780	2348965	1390410
Linolenik (C18:3n3)	62500	58002	33573
Toplam Alan	22925962	22517433	13501819

4.7. Elektriksel Alan Uygulamanın Fındık Yağındaki Tokoferol Üzerine Etkisi

Elektrik alan uygulamasına maruz kalmış fındıktan elde edilen fındık yağının içeriğindeki tokoferol üzerine etkisi araştırılmıştır. Alfa ve gama tokoferoller 400 kat, beta ve delta tokoferoller 20 kat seyreltildikten sonra okunmuş ve sonuçlar, Çizelge 4.8 üzerinde gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. Elektriksel alan muamelesi sonrası tokoferol miktarları

Numune	α -Tokoferol (ppm)	β -Tokoferol (ppm)	γ -Tokoferol (ppm)	δ -Tokoferol (ppm)
Kontrol-1	360,4	8,3	69,4	1,7
Kontrol-2	357,1	8,1	67,8	1,7
M10-1	382,9	9,2	64,6	2,0
M10-2	383,4	9,4	64,1	2,0
M15-1	353,2	8,9	53,7	1,3
M15-2	356,0	8,9	56,2	1,3

Elektriksel alan uygulama sonrası fındık yağının içeriğindeki alfa-tokoferol miktarı 10 dakikalık muamele sonrası artmış ve 15 dakikalık uygulamada ise azalma gözlenmiş ve kontrol grubundaki alfa-tokoferol miktarından daha düşük seviyeye indiği gözlenmiştir.

Beta tokoferol de alfa tokoferol gibi 10 dakikalık muamelede arttığı 15 dakikalık muamelede ise azaldığı gözlenmiştir. Fakat alfa tokoferol gibi azalma kontrol grubundaki beta-tokoferol miktarının altına düşmemiştir.

Elektriksel alan uygulamasının gama tokoferol üzerine etkisi alfa ve beta tokoferole olan etkisinden farklıdır. Gama-tokoferol elektriksel alan uygulama süresinin artışı ile azalma göstermiştir.

Elektriksel alan uygulamasının delta tokoferol üzerine etkisi alfa tokoferol üzerine olan etkisine benzerdir.

Darbeli elektriksel alan muamelesine maruz kalmış fındık örneği ile hiçbir işlem yapılmamış fındık örneğinden ekstrakte edilen yağın bileşimindeki tokoferol miktarları HPLC ile tespit edilmiş ve sonuçlar istatistiksel olarak incelenmiştir (Çizelge 4.9)

Çizelge 4.9. Elektriksel alan uygulanmış fındık örneklerinden ekstrakte edilen yağ örneklerinde tokoferol bileşenlerine ilişkin varyans analizi sonuçları

Örnekler	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık
α - Tokoferol	951,790	475,895	150,441	0,001
β - Tokoferol	1,240	0,620	46,5	0,006
γ - Tokoferol	195,163	97,582	64,624	0,003
δ - Tokoferol	0,493	0,247		

* $P \leq 0,005$

Çizelge 4.10. Elektriksel alan uygulanmış fındık örneklerinden ekstrakte edilen yağ örneklerinde tokoferol bileşenleri ortalamaları ve DUNCAN tek yönlü karşılaştırma testi sonuçları

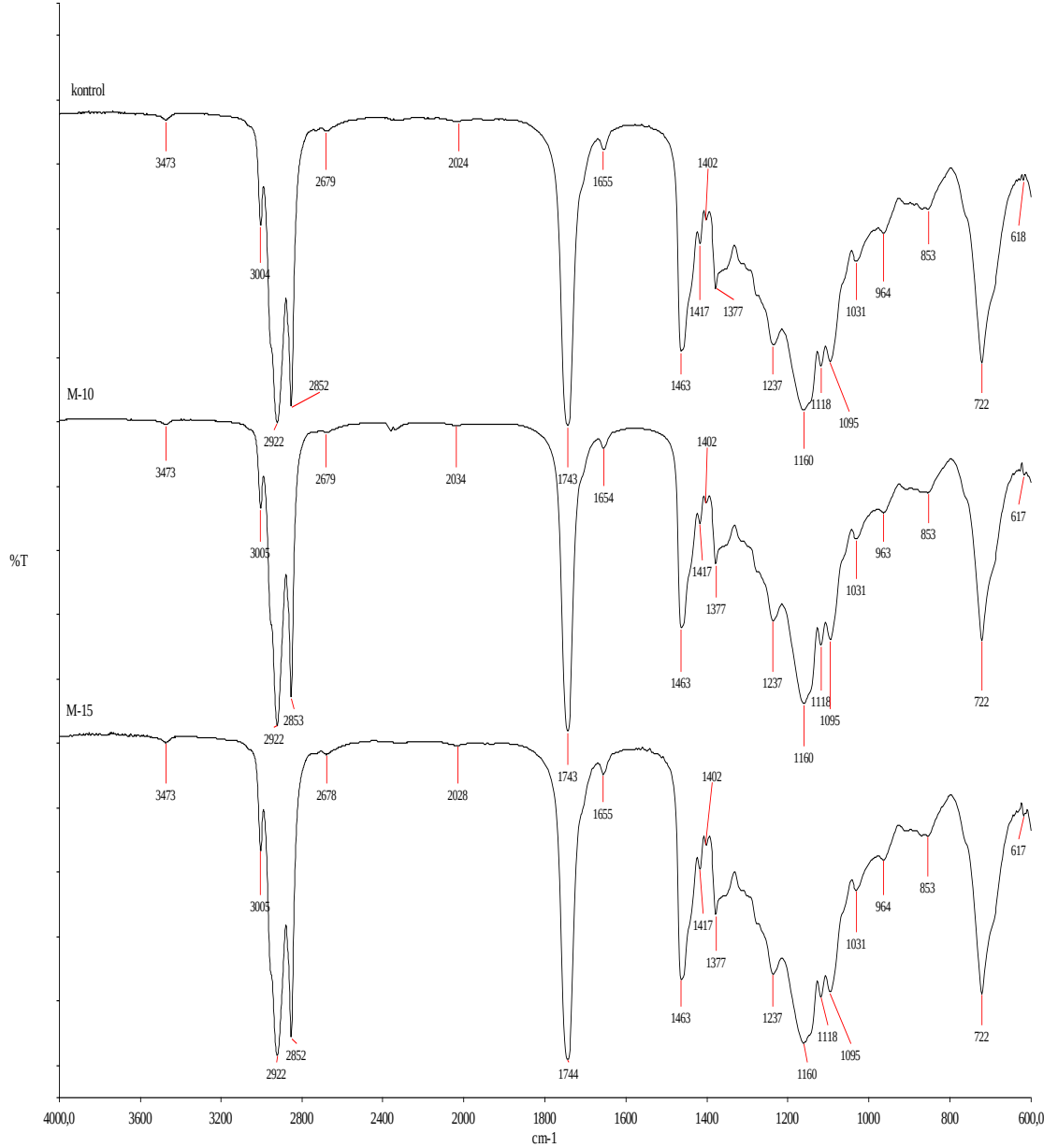
Uygulama	α - Tokoferol	β - Tokoferol	γ - Tokoferol	δ - Tokoferol
Kontrol	358,75 $\pm$ 2,33 ^b	8,2 $\pm$ 0,141 ^c	68,6 $\pm$ 1,3113 ^a	1,7 $\pm$ 0 ^a
M10	383,15 $\pm$ 0,353 ^a	9,3 $\pm$ 0,1414 ^a	64,35 $\pm$ 0,353 ^b	2 $\pm$ 0 ^a
M15	354,6 $\pm$ 1,979 ^b	8,9 $\pm$ 0 ^b	54,95 $\pm$ 1,767 ^c	1,3 $\pm$ 0 ^a

*Aynı sütunda aynı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir ($p \leq 0,05$).

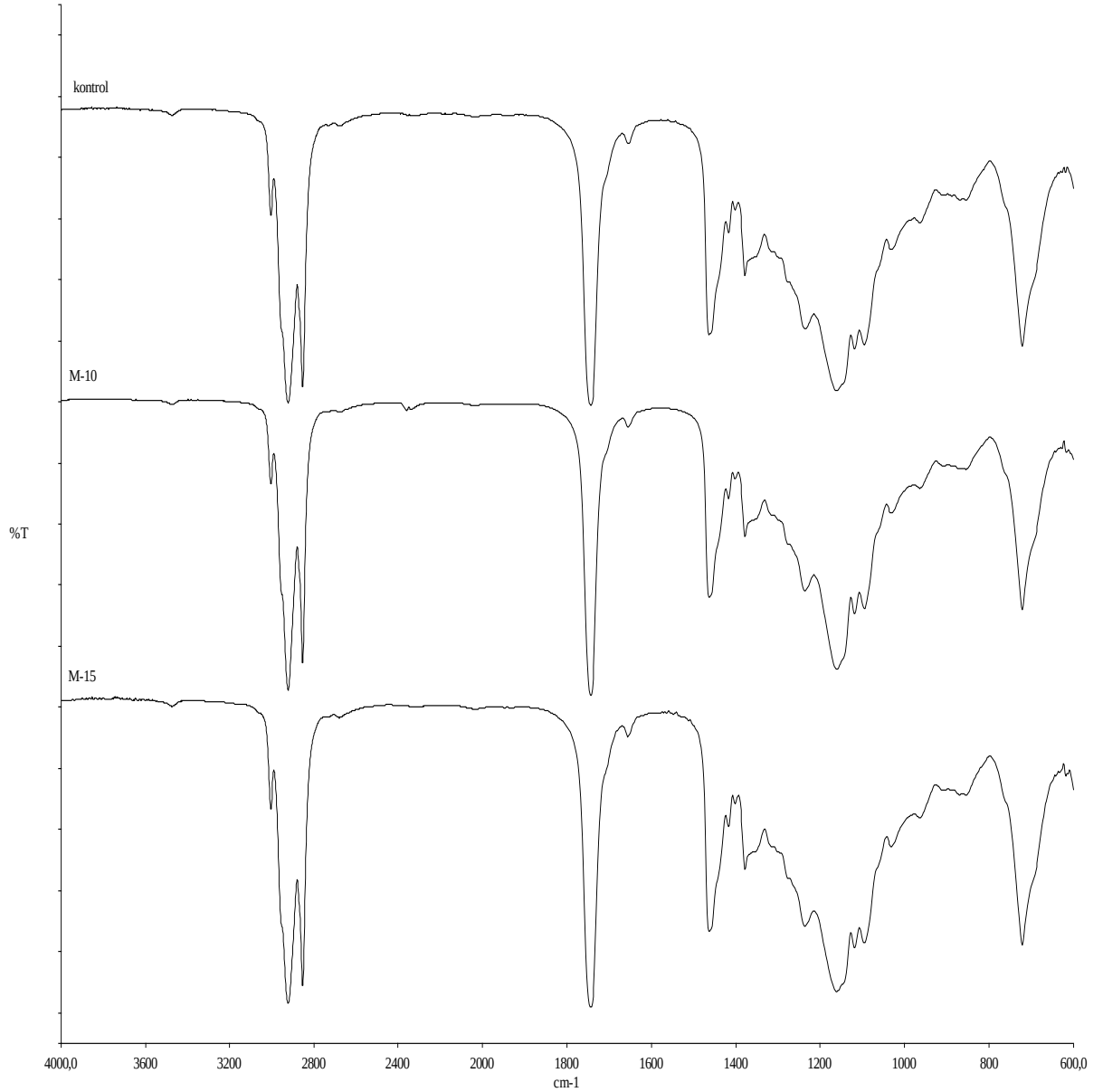
Çizelge 4.10'da görüldüğü gibi α -tokoferol de kontrol grubu ile M15 arasında istatistiksel olarak fark bulunmazken M10 grubu diğer gruplara göre istatistiksel olarak farklıdır. β vey tokoferollerinde bulunan örnek gruplarının istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğu görülmektedir. δ -tokoferolde ise istatistiksel olarak kontrol, M10 ve M15 grupları arasında bir fark yoktur.

4.8. Elektriksel Alan Uygulamasının Fındık Yağının Yapı Analizi Üzerine Etkisi

Elektriksel muamele sonrası fındık yağının yapı analizi FTIR cihazında ATR yöntemiyle iki paralelli olarak yapılmış ve elde edilen pik grafikleri karşılaştırılarak elektrik uygulamasının yapı üzerine etkisi incelenmiştir(Şekil 4.6 ve 4.7).



Şekil 4.6. Elektrik uygulaması sonrası fındık yağında yapı analizi (1.kısım)

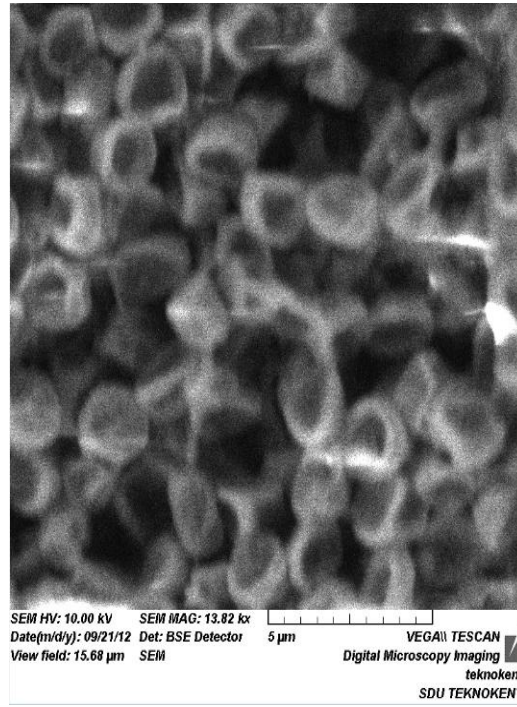


Şekil 4.7. Elektrik uygulaması sonrası fındık yağında yapı analizi (2.kısım)

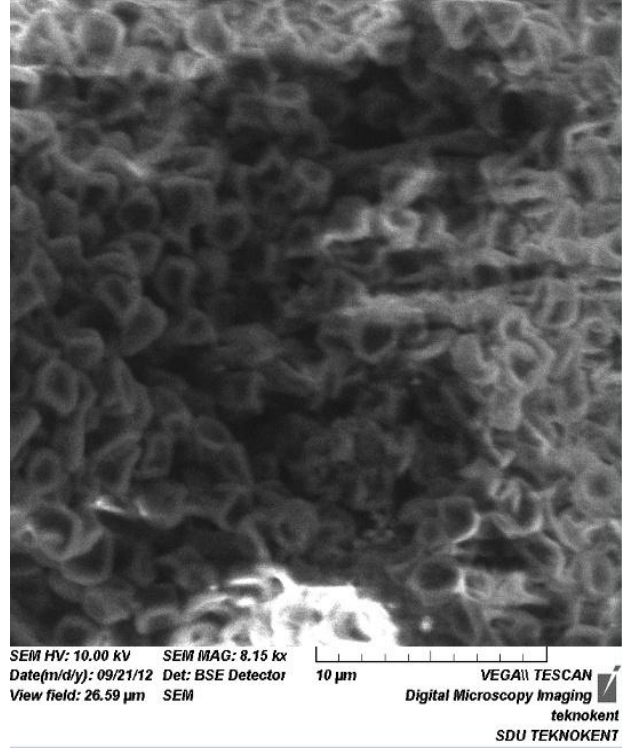
Elde edilen pik grafikleri incelendiğinde Kontrol-1, Kontrol-2 ve M10-1 grafiklerinde 2922-2852 dalga boylarında simetrik C-H bağları, 1743 dalga boyunda C=O bağları ve 1160 dalga boyunda C-O bağı; M10-2, M15-1 ve M15-2 grafiklerinde 2922-2953 dalga boylarında simetrik dalga boylarında simetrik C-H bağları, 1744 dalga boyunda C=O bağı ve 1160 dalga boyunda C-O bağı elde edildiği gözlenmiştir. Bu grafiklere bakarak fındık yağının yapısının elektrik uygulanmasından fazla etkilenmediği tespit edilmiştir.

4.9. Elektriksel Alan Uygulanmış Küf Sporlarının SEM Görüntüleri

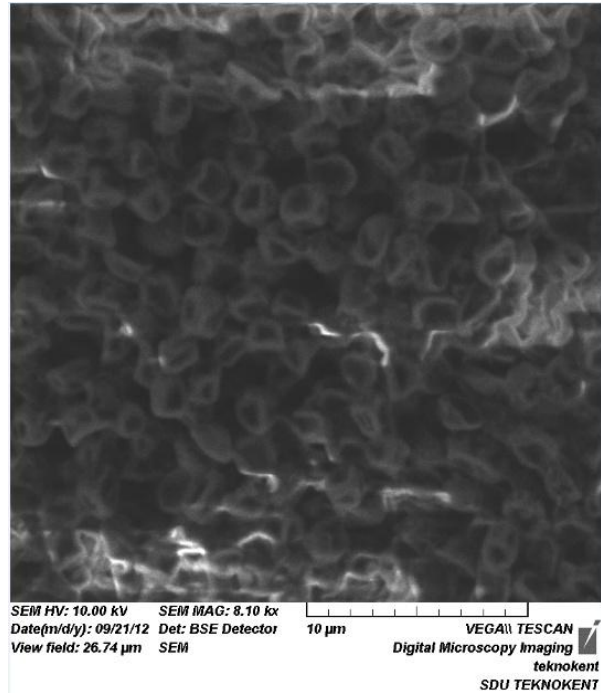
Elektrik uygulamasından sonra kontrol, M10 ve M15 olmak üzere örneklerin elektron mikroskobu ile görüntüleri elde edilmiştir(Şekil 4.8 , 4.9 ve 4.10). Kontrol grubu ile M10 ve M15 örneklerine ait görüntüler karşılaştırıldığında *Aspergillus parasiticus-1041-1* suşuna ait hücrelerin darbeli elektrik alan uygulamasından etkilendiği görülmektedir.



Şekil 4.8. Kontrol grubu (1800 V) uygulamasının SEM görüntüleri



Şekil 4.9. M10 (1800 V) uygulamasının SEM görüntüsü



Şekil 4.10. M15 (1800 V) uygulamasının SEM görüntüsü

4.10. Elektriksel Alan Uygulanması Sonrası Fındıklarda Renk Değişimi

Elektriksel alan uygulaması sonrasında yapılan renk analizi sonuçları Çizelge 4.11’de verildiği gibidir

Çizelge 4.11. Elektriksel alan uygulaması sonrası fındıklarda renk değişimi

	L*	a*	b*
Kontrol	58,04	3,12	9,08
M10	56.97	3,016	8,81
M15	56,34	3,01	8,78

Tabloda görüldüğü gibi elektriksel alan uygulaması sonrası Çizelge 4.11’ de görüldüğü gibi renk bileşenleri değerlerinin düştüğü görülmektedir.

Darbeli elektriksel alan uygulanan fındık örneğine yapılan renk analizinden elde edilen bulgular kullanılarak istatistiksel analiz yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.12. ve 4.13’ de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Darbeli elektriksel alan uygulanmış fındıklarda renk bileşenleri ortalamaları ve Duncan Tek Yönlü Karşılaştırma Testi sonuçları

Uygulama	L*	a*	b*
Kontrol	57,89±6,48 ^a	3,12±1,265 ^a	9,08±1,296 ^a
M10	56,973±5,20 ^a	3,016±1,247 ^a	8,816±1,332 ^a
M15	56,34±3,429 ^a	3,01±1,325 ^a	8,78±1,082 ^a

*Aynı sütunda aynı harfle işaretlenen ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir (p≤0,05).

Çizelge 4.13. Darbeli elektriksel alan uygulanmış fındık örneklerinde renk bileşenlerine ait varyans analizi sonuçları

	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık
L	4,429	2,214	0,082	0,922
a	0,023	0,011	0,07	0,993
b	0,161	0,080	0,052	0,950

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Darbeli elektriksel alan uygulaması ısı olmayan gıda işleme teknolojisidir. Bir dış elektriksel alan uygulaması hücre zarlarında bölgesel ve yapısal değişiklere, bozulmalara öncülük eder. Bu şekilde hücre zarının geçirgenliğinin artışına neden olur. Hücre zarının geçirgenlik durumu muamele süresine, darbe oluşumuna ve darbe enerjisine, elektrik alan gücüne ve sıcaklığa bağlı olarak geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz olarak gerçekleşebilir(Guderjan vd., 2007). Literatür taramaları sonucunda darbeli elektriksel alan uygulamasının, Cserhalmi vd., (2002), sporlar üzerine etkisi kesinlik kazanmadığını belirtmekle birlikte (Özcan ve Kurtuldu, 2011); mikroorganizmalar üzerine öldürücü etkisi olduğu görülmüştür (Martin vd., 1997; Akdemir Evrendilek vd., 2008).Literatür taramalarına göre çalışmamızda elde edilen sonuçlara bakıldığında yapılan elektriksel alan uygulamalarının küf sporlarının hücre zarında porların oluşmasına, bunun sonucunda hücre zarı geçirgenliğinin artabileceği ve ileri düzeylerde elektrik alan uygulamasının hücre duvarını parçalayabileceği ve böylece küf sporlarının inaktif olabileceği sonucuna varılmıştır. Fincan vd. (2004), yaptığı çalışmada kırmızı pancardaki kırmızı renk pigmentinin ekstraksiyonu için pancar dokularına 7 Kj/kg'lık bir enerji ile 1 kV/cm alan gücünde 10 µs elektriksel darbe uygulayarak hücre geçirgenliğini artırmış ve toplam kırmızı boyaların %90'nını elde etmişlerdir (Fincan vd., 2004). Ayrıca Guderjan vd. (2005), bitki yağları üzerine yaptığı çalışmada mısır tanelerine uygulanan elektriksel darbeler ile fitostereol miktarını %32,4 artırmıştır (Guderjan vd., 2005). Bu çalışmalarda vardığımız sonucumuzu desteklemektedir. Analiz metotunun oluşturulması amacıyla yapılan çalışmaların elektriksel alan uygulanan küf sporlarının örneklerinde genel olarak en fazla ve en düzenli düşüşün görüldüğü grup 1800 Volt FTS çözeltileri olmuştur. Özellikle 10 dakika 1800 Voltta en yüksek logaritmik azalma meydana geldi. Özellikle 2500 Volt FTS çözeltisinde yapılan muameleler de *Aspergillus parasiticus-1041-1* suşunun sürenin artışıyla birlikte düzenli olarak inaktivasyon oranının arttığı görülmektedir. Yapılan analizlerde en yüksek düşüş 0.9756 log'luk azalma ile 1800 Voltta FTS 10 dakika da olduğu gözlemlendi. Biz çalışmamızı 1800 Voltta 10 ve 15 dakika olmak üzere FTS çözeltisinde devam ettirdik. Çalışmamızda beklentimiz 2500 Voltta ve 15 dakikalık muamele sürelerinde darbeli elektriksel alan uygulamalarının yapıldığı örneklerde düşüşün daha fazla olmasıydı. Elektriksel alan gücü ve muamele süresinin artışı mikroorganizmaların

inaktivasyonunu arttırmaktadır. Fakat beklediğimizin dışında sonuçlar elde ettik. Bu durumun darbeli elektriksel alan uygulaması ile mikroorganizmaların inaktivasyonunun elektriksel alan gücü ve muamele süresinin dışında değişik faktörlere bağlı olmasından dolayı diğer faktörlerden de etkilendiği düşünülmektedir. Bu faktörlerden bazıları şunlardır; gıdanın çeşidi, iletkenliği ve sıcaklığı, mikrobiyal faaliyetler (mikroorganizmanın türü, konsantrasyonu ve gelişme aşamasında olup olmadığı)'dir (Özcan ve Kurtuldu, 2011). Yine yapılan bir başka çalışmada, darbeli elektriksel alan uygulaması süresince sıcaklık ölçümleri yapılmış örneklerin başlangıç sıcaklıkları 11 °C iken artan elektriksel alan gücüne bağlı olarak örnek sıcaklıkları 10 °C artarak en yüksek elektriksel alan gücünde (34 kV/cm) örnek sıcaklığı 21 °C idi (Akdemir Evrendilek vd., 2008). Bizim çalışmamızda da cihaz belirli süre çalıştıktan sonra aynı elektriksel alan gücünde dahi olsa küvetin metal plaka kısmında sıcaklık yükselmesinin olduğu gözlemlenmiştir.

1800 Voltta 10 dakikalık farklı tuz konsantrasyonlarında ve farklı sıcaklıklarda yapılan uygulamalarda %1,7'lik tuz konsantrasyonuna ve 40 °C sıcaklığa sahip uygulamalar dışında tuz konsantrasyonu ve sıcaklık artışına paralel küf koloni sayılarında logaritmik azalmanın arttığı gözlenmiştir. Tuz konsantrasyonun artması çözelti içersindeki iyon sayısının yükselmesine ve buna bağlı olarak da elektriksel iletkenliğin artmasını sağlamaktadır. İletkenliğin artmasına paralel mikrobiyal inaktivasyonun tuz konsantrasyonun artması ile arttığı düşünülmüştür. Lopez ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada sıcaklık artışı ile kırmızı pancardaki betanin salınımı artış göstermiştir (Lopez vd., 2009). Bizim sıcaklıkla yapmış olduğumuz çalışmalarda sıcaklık ile hücre geçirgenliğin artmasına bağlı olarak darbeli elektriksel alan uygulaması sonucu mikrobiyal inaktivasyonun arttığı düşünülmüştür. Farklı sıcaklıklardaki uygulamalarda en yüksek düşüşün olduğu sıcaklık uygulamasının 1,314 log'luk azalmanın gözlemlendiği 60 °C' sıcaklıkta yapılan uygulama olduğudur. Aynı şekilde farklı tuz konsantrasyonları ile yapılan çalışmada da en yüksek inaktivasyonun 0,58 log'luk azalma ile %3,4'lük tuz konsantrasyonunda olduğudur. Ancak, koloni sayısındaki düşüşünün % 0,85'lik FTS'dekine benzer olduğu yani düşüşün birbirlerine yakın olduğu görülmektedir. Tuz konsantrasyonun artışının elektriksel iletkenliği artırmasının sonucu olarak küfler üzerine öldürücü etkiyi artırma etkisi olabilir.

Küflendirilmiş fındık örneklerinin elektriksel alan uygulaması sonucu kontrol:7,684 log, 10 dakikalık muamele: 8.342 log ve 15 dakikalık muamelede:8.445 log'luk küf spor sayıları elde edilmiştir. HPLC ile yapılan aflatoksin analizinde kontrol grubunda gözlenen aflatoksin B₂:31,54 nanogram/gram, B₁: 708,81 nanogram/gram; 10 dakikalık muamelede aflatoksin B₂: 40.51 nanogram/gram, aflatoksin B₂: 638,90 nanogram/gram 15 dakikalık muamele için ise aflatoksin B₂ 44,52 nanogram/gram, aflatoksin B₁: 708,50 nanogram/gram olarak tespit edilmiştir. Elde edilen bulgulara bakıldığında muamele süresi artış gösterdikçe aflatoksin B₂ de artış gözlenmiş, Aflatoksin B₁ de ise 10 dakikalık muamelede düşüş gözlenmiş fakat 15 dakikada kontrol grubu ile aynı miktarda aflatoksin gözlenmiştir. Eisa vd. (2003), darbeli elektriksel alan uygulamasının aflatoksin miktarı üzerine yapmış oldukları çalışmada farklı güç ve sürelerde uygulanan darbeli elektriksel alan uygulamasının küf toksinleri miktarında azalmasına neden olduğunu gözlemişlerdir. Bu nedenle çalışmamızda darbeli elektrik alan uygulaması sonrası aflatoksin miktarının azalacağı beklenmekteydi. Fakat aflatoksin miktarında genel olarak artış meydana gelmiştir. Allen ve Soike (1966) ile Gilliland ve Speck (1967)'e göre, kompleks yapıya sahip gıdalarda bazı maddeler (yüksek protein içeriği gibi) elektriksel alan uygulamasının etkinliğini azaltmaktadır (Martin vd., 1997). Bu nedenle aflatoksin miktarında istenen düşüşün gerçekleşmemesinin fındık örneğinin elektriksel alan uygulamasına uygun olmadığı yani partiküllü ve kompleks bir yapıya sahip olmasından dolayı durağan alanda elektriksel alan uygulamanın etkinliğini azalttığı düşünülmektedir. 10 dakikalık muamele de aflatoksin B₁ miktarındaki düşüşün gözlenmesi bu sonuca ulaşmamıza neden oldu.

Darbeli elektriksel alan uygulamasına maruz bırakılan fındık örneklerinin soxhelet yöntemi ile yağı alınmış ve GC-MS cihazında yağ asitleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda 1800 voltta, 10 ve 15 dakikalık elektrik alan uygulaması sonucu palmitik, palmit oleik, stearik, linoleik ve linolenik yağ asitlerinin azalmasına neden olmuştur. Yapılan bir çalışmada darbeli elektirisel alan uygulamasının oleik asit oksitlenmesine neden olduğu tespit edilmiştir (Zhao vd., 2011). Bu nedenle çalışmamızda yağ asitlerinin azalmasının elektriksel alan uygulaması sonrası meydana gelen oksidasyon sonucunda gerçekleştiği düşünülmektedir. Sonuç olarak elektriksel alan uygulamasının fındık yağının yağ asitleri miktarı üzerine olumsuz etkisi olduğu gözlenmiştir.

HPLC cihazında yapılan tokoferol analizinde α , β , γ ve δ tokoferoller üzerine inceleme yapılmıştır. Elde edilen bulgulara bakıldığında darbeli elektriksel alan uygulaması sonrası tokoferoller miktarlarının genel olarak önce arttığı daha sonra azaldığı gözlenmiştir. α , β , ve δ tokoferoller 10 dakikalık muamele sonrasında önce artış gösterebilirler de 15 dakikalık muamelelerden sonra azaldıkları görülmektedir. γ tokoferol ise 10 ve 15 dakikalık muameleler de miktar (ppm) olarak azalmıştır. Literatür taraması sonucu bu konu ile ilişkili bir kaynağa rastlanmamıştır. Ancak, vitamin E tokoller olarak bilinen sekiz izomerli bir aileden oluşmaktadır. 4 tokoferol ve 4 tokotrienolden oluşur ki bunlar α , β , γ ve δ 'dır (Singh vd., 2009). Yani α , β , γ ve δ tokoferoller birbirlerinin izomeridirler. Tokoferol tayininde elde edilen bulgulara bakılarak elektriksel alan uygulamaları sonucu alfa, beta, gama ve delta tokoferoller arasında izomer değişiminin olabileceği ve hatta tokotrienollerin elektriksel alan uygulaması sonrası tokoferollere dönüşebileceği yorumu yapılmıştır.

Darbeli elektriksel alanda muamele edilen örneklerden soxhlet yöntemiyle elde edilen yağın FTIR cihazında ATR yöntemi ile yapı analizi yapılmıştır. FTIR da elde edilen pikleri gösteren grafikler incelendiğinde elektrik alan uygulamasının fındık yağının yapısı üzerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı görülmektedir.

Darbeli elektriksel alana maruz bırakılan fındık örneklerinde yapılan renk tayini sonunda elektriksel alan uygulama sürelerinin artışına paralel olarak ortalama L^*a^*b değerlerinde azda olsa düşme meydana geldiği görüldü. Fakat L^* , a^* ve b^* değerlerinin istatistiksel olarak birbiri ile aynı olduğu yapılan istatistiksel analiz sonrası görüldü. Elektriksel analiz sonrası fındık renk bileşenleri üzerine önemli bir değişiklik olmadığı görüldü.

Darbeli elektriksel alan uygulaması sonucunda küf sporlarının durumunu görmek için SEM 'de görüntü alındı. Elde edilen bulguların 10 ve 15 dakikalık elektriksel alan uygulamasının küf sporlarının yapısını etkilediği görülmektedir.

Çalışma sonucunda elde edilen bulgular doğrultusunda elektriksel alan uygulamasının *Aspergillus parasiticus*-1041-1 suşunun üzerine öldürücü etkiye sahip olduğu görülmüştür. Fakat elektriksel alan uygulamasının küf sporları üzerine etkisi

bazı faktörlere bağlıdır. Farklı sıvı ortamlarında yapılan muamelelerde farklı sonuçlar elde edilmiştir. Buradan yola çıkarak önce durağan ortamda darbeli elektriksel alan uygulamasının etkinliğinin gıdanın yapısına, elektriksel alan gücüne, uygulama süresine, küf sporlarının gelişme evrelerine ve gıdanın sıcaklığına bağlı olduğu sonucuna ulaşıldı. Bu nedenle durağan ortamda fındık gibi katı gıdaların darbeli elektriksel alan uygulamasına uygun olmadığı görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Akdemir Evrendilek, G., Tok, F., M., Soylu, E., M., Soylu, S., 2008. Inactivation of *Penicillium Expansum* in Sour Cherry Juice, Peach and Apricot Nectars by Pulsed Electric Fields. *Food Microbiology*, 25 ,662– 667.
- Akın, E., Akdemir Evrendilek, G., 2009. Effect of Pulsed Electric Fields on Physical, Chemical and Microbiological Properties of Formulated Carrot Juice. *Food Science and Technology*, 15-3, 275-282.
- Altuntaş, J., Akdemir Evrendilek, G., Sangun, M., K., Zhang, H., Q., 2011. Processing of Peach Nectar by Pulsed Electric Fields with Respect to Physical and Microbial Inactivation. *Journal of Food Process Engineering*, 34-5, 1506-1522.
- Basaran, P., Basaran-Akgül, N., Oksüz, L., 2008. Elimination of *Aspergillus Parasiticus* from Nut Surface with Low Pressure Cold Plasma (LPCP) Treatment, *Food Microbiology*, 25, 626-632.
- Basaran, P., Özcan, M., 2009. Occurrence of Aflatoxins In Various Nuts Commercialized In Turkey, *Journal of Food Safety*, 29, 95-105.
- Basaran, P., Akhan, Ü., 2010. Microwave Irradiation of Hazelnuts for The Control of Aflatoxin Producing *Aspergillus Parasiticus*. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 113-117
- Bendciho, S., Barbosa-Cánovas, G.V., Martín, O., 2002, Milk Processing By High Intensity Pulsed Electric Fields. *Trends in Food Science & Technology*, 13, 195-204
- Çetintaş, G., 2005. Fındık Yağı işleme Aşamalarında Kalite Kriterlerinde ve Aflatoksin Konsantrasyonunda Olan Değişimler. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 75s. Isparta.
- Durak, İ., Köksal, İ., Kaçmaz, M., Büyükkoçak, S., Çimen, B., M., Y., Öztürk, H., S., 1999. Hazelnut Supplementation Enhances Plasma Antioxidant Potential and Lowers Plasma Cholesterol Levels. *Clinica Chimica Acta*, 284, 113-115.
- Eisa, N., A., Ali, F., M., El-Habbab, G., M., Abdal-Reheem, S., K., Abou-El-Ela, M., F., 2003. Pulsed Electric Field Technology for Checking Aflatoxin Production in Cultures and Corn Grains, *Egypt. j. Phytopathol*, 31, 1-2, 75-86.
- Elez-Martinez, P., Escolà-Hernández, J., Soliva-Fortuny, R.C., Martín-Belloso, O., 2005. Inactivation of *Lactobacillus Brevis* in Orange Juice by High-Intensity Pulsed Electric Fields, *Food Microbiology*, 22, 311-319.
- Eraslan, D., 2006, Fındıkta Mikrodalga ile Kurutmanın *Aspergillus flavus* Küfüne Etkisinin İncelenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 88s. İstanbul.

- Fincan, M., Devito, F., Dejmek, P., 2004. Pulsed Electric Field Treatment For Solid-Liquid Extraction of Red Beetroot Pigment, Journal of Food Engineering, 64, 381-388.
- Fındık Tanıtım Grubu, 2010. Erişim tarihi:12.11.2010. <http://www.ftg.org.tr>
- Guderjan, M., Töplf, S., Angersbach, A., Knorr, D., 2005. Impact of Pulsed Electric Field Treatment on the Recovery and Quality of Plant Oils, Journal of Food Engineering, 67-3, 281-287.
- Guderjan, M., Elez-Martínez, P., Knorr, D., 2007. Application of Pulsed Electric Fields at Oil Yield and Content of Functional Food Ingredients at the Production of Rapeseed Oil, Food Science Emerging Technologies, 8-1,55-62.
- Gürsoy, 2010. Aflatoksin Seviyelerinde Değişiklik. Erişim Tarihi: 10.02.2012. <http://www.gursoy.com.tr/content/view/366/258/lang,tr/>
- İşman, B., 2004. , Aydın Yöresi Yetiştirilen Kuru İncirlerdeki Fungusu Florasına Ultraviyole Işıkların Etkilerinin İncelenmesi. Aydın, Yüksek Lisans Tezi, 107s. AYDIN.
- Kaletunç, G., 2009. Gıda Endüstrisinde Alışılmamış Yöntemler, Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi,502, 61-63.
- Köksal, A.İ., Artik,N., Şimşek, A., Güneş, N., 2006. Nutrient Composition of Hazelnut (*Corylus avellana*) Varieties Cultivated in Turkey, Food Chemistry,99, 509-515.
- López, N., Puértolas, E., Condón, S., Raso, J., Alvarez, I., 2009. Enhancement of the Extraction of Betanine from Red Beetroot by Pulsed Electric Fields, Journal Food Engineering. 90-1, 60-66.
- Martín, O., Qin, B.,L.,Chang F.J., Barbosa-Cánovas, G.V., Swanson, B.G., 1997. Inactivation of *Escherichia coli* in Skim Milk by High Intensity Pulsed Electric Fields. Journal of Food Process Engineering, 20, 317-336.
- Oliveira, I., Sousa, A., Morais, J.,S., Ferreira, I.,C.,F.,R., Bento, A., Estevinho, L., Pereira, J., A., 2008. Chemical Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Three Hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. Food and Chemical Toxicology, 46, 1801-1807.
- Özer, H., 2009. Fındıklara Uygulanan Fiziksel ve Isıl Süreçlerin Aflatoksinler Üzerine Etkisi. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 105s, İstanbul.
- Özkaya,T., Temiz, A., 2003. Aflatoksinler: Kimyasal Yapıları, Toksititeleri ve Detoksifikasyonları. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi.01: 01, 1-21.

- Özcan, M., 2008. Tahribatsız ve Hızlı Yöntemlerle Kırmızı Biber ve Fındıkta Kalite Kontrolü. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 70s. Isparta.
- Özcan, T., Kurtuldu, O., 2011. Sütün Raf Ömrünün Uzatılmasında Alternatif Yöntemler. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 25,1, 119-229.
- Resmi Gazete, 2011. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. Erişim Tarihi:10.02.2012.<http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M38.htm>
- Saldaña, G., Puértolas, E., Álvarez, I., Meneses, N., Knorr, D., Raso, J., 2010. Evaluation of A Static Treatment Chamber to Investigate Kinetics of Microbial Inactivation by Pulsed Electric Fields at Different Temperatures at Quasi-Isothermal Conditions, Journal of Food Engineering, 100, 349-356.
- Şimşek, A., Aykut, O, 2007.Evaluation of the Microelement Profile of Turkish Hazelnut (*Corylus avellana* L.) Varieties for Human Nutrition and Health. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 58, 8, 677-688
- Singh, V.K., Brown, D.S., Kao, T., 2009. Tocopherol Succinate: A Promising Radiation Countermeasure. International Immunopharmacology, 9-12, 1423-1430.
- Yavuz, G., G., Polat, K., 2011. Fındık Durum ve Tahmin 2011-2012, T.C. Gıda,Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Ekonomi Ve Politika Geliştirme Enstitüsü, 1-16. Ankara.
- Zhao, W., Yang, R., Shi, X., Pan, K., Zhang, S., Zhang, W., Hua, X., 2011. Oxidation of Oleic Acid Under Pulsed Electric Fields Processing. Food Research International, 44, 1463-1467.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ahmet BEKTEŞ

Doğum Yeri ve Yılı : Isparta, 1985

Medeni Hali : Bekâr

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : ahmetbektes@hotmail.com



Eğitim Durumu

Lise : Isparta Eğirdir Anadolu Lisesi, 2003.

Lisans :Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Mimarlık
Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 2009.

Mesleki Deneyim

Amasya Üniversitesi, 2011-..... (halen)