

**YIKAMA, KURUTMA VE KABUK SOYMA İŞLEMLERİNİN
MISIR VE BUĞDAYDA BAZI *FUSARIUM* TOKSİNLERİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

**THE EFFECTS OF WASHING, DRYING AND DEHULLING
ON SOME *FUSARIUM* TOXINS IN CORN AND WHEAT**

SİNE YENER

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

GIDA Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2011

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :.....
Prof. Dr. Hazım ÖZKAYA

Üye (Danışman) :.....
Prof. Dr. Hamit KÖKSEL

Üye :.....
Prof. Dr. Dilek SİVRİ ÖZAY

Üye :.....
Doç. Dr. Ümran UYGUN

Üye :.....
Doç. Dr. Arzu BAŞMAN

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından 20/07/2011 tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunca/...../..... tarihinde kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Adil DENİZLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YIKAMA, KURUTMA VE KABUK SOYMA İŞLEMLERİNİN MISIR VE BUĞDAYDA BAZI *FUSARIUM* TOKSİNLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Sine Yener

ÖZ

Mikotoksinler küfler tarafından üretilen, insanlar ve hayvanlar üzerinde önemli toksik etkileri olan ikincil metabolitlerdir. Gıda ve yemlerin mikotoksinlerle kontaminasyonu dünya genelinde görülen bir problemdir. Gıdaların mikotoksinlerle kontaminasyonu hasat öncesinde ve gıdaların depolanması sırasında meydana gelebilmektedir. Buğday, arpa, mısır ve yulaf gibi tahılların büyük bir kısmı henüz tarlada iken *Fusarium* türleri tarafından enfekte edilmektedir. Deoksinivalenol (DON) ve zearalenon (ZEA) hububat ve hububat ürünlerinde sık rastlanan ve ekonomik açıdan önemli *Fusarium* toksinlerindendir. Kontamine olmuş tahıllarda mikotoksin düzeylerinin kontrolünde ve azaltılmasında çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik dekontaminasyon yöntemleri kullanılmaktadır.

Bu çalışmada yıkama, kabuk soyma ve kurutma işlemlerinin doğal olarak kontamine olmuş buğday ve mısır örneklerinde DON ve ZEA düzeyleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Uygulamalarda 11624 ppb DON ve 850 ppb ZEA içeren buğday örneği ile 752 ppb ZEA içeren mısır örneği kullanılmıştır. Kabuk soyma süresinin (15, 30, 45 ve 60 saniye) buğday örneğinde DON ve ZEA düzeylerinin azaltılmasındaki etkisi ve ZEA ile kontamine olmuş mısır örneğinde alkali ile kabuk soyma işleminin etkinliği incelenmiştir. Buğday örneğinde 60 saniyelik kabuk soyma işlemi ile tane ağırlığının %34'ü azaltılırken DON ve ZEA düzeylerinde sırasıyla %90 ve 96 azalma sağlanmıştır. Sodyum hidroksit ile kabuk soyma işlemi mısırdaki bulunan ZEA'nın tamamen uzaklaştırılmasını sağlamıştır. Kabuk soyma işlemi uygulanan buğday ve mısır örneklerinde toplam besinsel lif, protein ve kül içerikleri belirlenmiştir. Kabuk soyma süresinin artmasıyla kabuk soyma işlemi uygulanan mısır ve buğday örneklerindeki toplam besinsel lif ve protein içeriklerinde azalma gözlenmiştir. Buğdayların 1 dakika süreyle basınçlı su ile yıkanmalarıyla DON konsantrasyonunda en az %30 ve ZEA'da ise en az %24 olmak üzere toksin seviyelerinde azalma sağlanmıştır. Su ile yıkama sonrası uygulanan mikrodalga ve kızılötesi kurutma işlemleri ile DON ve ZEA konsantrasyonlarında en az %36.5 ve en çok %89.0 oranında azalma gözlenmiştir. Klorlu su ve 1 M sodyum karbonat çözeltileriyle yıkama ile buğdayda DON ve ZEA seviyelerinde sırasıyla %37.2-87.7 ve %31.9-89.1 arasında azalma sağlanmıştır. Mısır örneklerinin su ve 1 M sodyum karbonat çözeltileriyle yıkanması ile ZEA konsantrasyonu kaydadeğer ölçüde azaltılmıştır. Kabuk soyma ve yıkama işlemlerinin kontamine olmuş tahıllarda mikotoksin seviyelerinin azaltılmasında kullanılabilecek yararlı uygulamalar olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Deoksinivalenol, zearalenon, buğday, mısır, yıkama, kabuk soyma, kurutma, dekontaminasyon

Danışman: Prof. Dr. Hamit KÖKSEL, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

THE EFFECTS OF WASHING, DRYING AND DEHULLING ON SOME *FUSARIUM* TOXINS IN CORN AND WHEAT

Sine Yener

ABSTRACT

Mycotoxins are secondary metabolites produced by fungi and have been associated with important toxic effects to humans and animals. Contamination of foods and feeds with mycotoxins are a worldwide problem. The contamination of foods with mycotoxins can occur before harvest and during storage of foods. A wide variety of crops including wheat, barley, corn and oats are known to be infected by *Fusarium* species even in the field. Deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZEA) are prevalent and economically important *Fusarium* toxins found in cereals and cereal products. Several physical, chemical and biological decontamination methods are used to control and reduce mycotoxin levels in contaminated cereals.

In this study, the effects of washing, dehulling and drying procedures on DON and ZEA levels of naturally contaminated wheat and corn samples were investigated. Wheat sample containing 11624 ppb DON and 850 ppb ZEA and corn sample containing 752 ppb ZEA were used for experiments. The effect of pearling time (15, 30, 45 and 60 sec) for reducing DON and ZEA levels in a wheat grain sample and the efficiency of alkali dehulling of a corn sample contaminated with ZEA were evaluated. Pearling of wheat during 60 sec resulted in 34% of grain mass removal, 90% and 96% reduction in DON and ZEA levels, respectively. Complete removal of ZEA in corn was obtained by alkaline dehulling with sodium hydroxide. Total dietary fiber (TDF), protein and ash contents were determined in pearled wheat and dehulled corn. As pearling time increased TDF and protein contents of dehulled wheat and corn samples decreased. Washing of wheat grains with pressurized water reduced mycotoxin levels with a minimum of 30% in DON and 24% in ZEA. Infrared and microwave drying of washed grains caused an increase in reduction of DON and ZEA concentrations to a minimum 36.5% and a maximum %89.0. Using chlorinated water and 1 M sodium carbonate solutions for 1 min reduced DON levels by 37.2-87.7% and ZEA levels by 31.9-89.1% in wheat. Washing of corn with water and 1 M sodium carbonate solution reduced ZEA levels considerably. It can be concluded that the dehulling and washing seem to be useful procedures for reducing mycotoxin levels in contaminated grains.

Keywords: Deoxynivalenol, zearalenone, wheat, corn, washing, dehulling, drying, decontamination

Advisor: Prof. Dr. Hamit KÖKSEL, Hacettepe University, Department of Food Engineering

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde bilgisi ve deneyimleri ile beni yönlendiren, ilgi ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım ve değerli hocam Prof. Dr. Hamit KÖKSEL'e,

En az danışmanım kadar benimle ilgilenen ve bana yardımcı olan değerli hocam Doç. Dr. Ümran UYGUN'a,

Kızılötesi cihazının kullanılmasındaki yardımları ve desteğinden dolayı değerli hocam Doç. Dr. Arzu BAŞMAN'a,

Deneyimlerini benimle paylaşarak bana yol gösteren, tez yazım aşamasında her konuda yardımcı olan ve beni sürekli motive etmeye çalışmaktan bıkmayan Dr. Deniz BAŞ'a,

Deneylerimin bir kısmını gerçekleştirdiğim Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Kalite ve Teknoloji Bölümü Başkanı Sayın Turgay ŞANAL ve aynı kurumda çalışan değerli arkadaşım Oğuz ACAR'a,

Sıkıntılı dönemlerimde bana moral veren ve laboratuvar çalışmalarımda bana destek olan sevgili arkadaşlarım Özden İSMAİLOĞLU, Araş. Gör. Seher GÜMÜŞ, Araş. Gör Dilay KÜTÜK, Araş. Gör M. Tuğrul MASATCIOĞLU ve Yük. Müh. Demet KÖROĞLU'na,

Tez çalışmalarım sırasında tecrübelerini benimle paylaşarak bana yardımcı olan Dr. Arda SERPEN ve Araş. Gör. Eren NUMANOĞLU'na,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana her türlü desteği sağlayan Uzm. Meltem ZENCİR YILDIRIM ve Uzm. Yelda ZENCİR'e,

010 D08 602 001 Numaralı "Mısır Ürünlerinde Bazı Gıda İşleme Yöntemlerinin *Fusarium* Toksinleri Üzerine Etkisi" konulu proje kapsamında sağlanan maddi katkılarından dolayı Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne,

01001602007 Numaralı "Mısır ve Buğdayda Çeşitli İşlemlerin DON ve ZEA Mikotoksinleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması" konulu proje kapsamında sağlanan maddi katkılarından dolayı Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne,

Tez kapsamında kullanılan buğday örneğinin temininde sağladıkları katkılardan dolayı Macaristan'da bulunan Cereal Research Non-Profit Ltd.'ye,

Beni her zaman destekleyen ve yanımda olan sevgili aileme,

teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZ.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Gıda Güvenliği ve Mikotoksinler	3
2.2. <i>Fusarium</i> Toksinleri ve Özellikleri	6
2.2.1. Deoksinivalenol (Vomitoksin).....	7
2.2.2. Zearalenon.....	8
2.3. Mikotoksin Kontaminasyonunu Azaltmada Kullanılan Yöntemler	11
2.3.1. Hasat öncesi uygulanan işlemlerle mikotoksin kontaminasyonunun azaltılması	12
2.3.2. Hasat sonrası uygulanan işlemlerle mikotoksin kontaminasyonunun azaltılması	13
2.3.2.1. Temizleme ve ayıklama	13
2.3.2.2. Yıkama.....	13
2.3.2.3. Kabuk soyma	14
2.3.2.4. Öğütme	15
2.3.2.5. Isıl işlemler	16
2.3.2.6. Işınlama (radyasyon)	18
2.3.2.7. Kimyasal yöntemler.....	18
2.3.2.8. Biyolojik yöntemler	19
2.3.2.9. Adsorbanların kullanımı	20
3. MATERYAL ve METOT	22
3.1. Materyal	22
3.2. Metot.....	22
3.2.1. Fiziksel analizler.....	22

3.2.2. Mikotoksin analizleri.....	22
3.2.2.1. Hızlı test kitleri ile mikotoksin içeren örneklerin belirlenmesi	23
3.2.2.2. ZEA analizi	23
3.2.2.3. DON analizi	24
3.2.2.4. Validasyon çalışmaları	25
3.2.3. Mısır ve buğday örneklerine uygulanan mikotoksin konsantrasyonunu azaltma yöntemleri	27
3.2.3.1. Kabuk soyma	27
3.2.3.2. Yıkama	28
3.2.4. İstatistiksel analiz	30
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	31
4.1. Örneklerin hızlı test kitleri ile belirlenen mikotoksin içerikleri	31
4.2. Validasyon Çalışmaları	31
4.2.1. Kalibrasyon eğrilerinin oluşturulması	31
4.2.2. Geri kazanım.....	33
4.2.3. Tekrarlanabilirlik	33
4.2.4. Tespit sınırı ve tayin sınırı	34
4.3. Mısır ve Buğdayda Kabuk Soyma İşlemlerinin Mikotoksin Konsantrasyonları Üzerine Etkileri	35
4.3.1. Buğdayda kabuk soyma işleminin DON ve ZEA üzerine etkisi	35
4.3.2. Mısırdaki kabuk soyma işleminin ZEA üzerine etkisi	43
4.4. Yıkama İşlemlerinin Mikotoksin Konsantrasyonları Üzerine Etkisi.....	44
4.4.1. Buğdayda yıkama işleminin DON ve ZEA üzerine etkisi	44
4.4.2. Mısırdaki yıkama işleminin ZEA üzerine etkisi	54
5. YORUM ve ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	68

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AACC	American Association of Cereal Chemists
ACN	Asetonitril
a/h	Ağırlık/Hacim
BCI1E	2 ppm klorlu su ile 1 dakika süreyle yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan buğday örneği
BCI2E	2 ppm klorlu su ile 2 dakika süreyle yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan buğday örneği
BS1E	Su ile 1 dakika süreyle yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan buğday örneği
BS2E	Su ile 2 dakika süreyle yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan buğday örneği
BS1IR	Su ile 1 dakika süreyle yıkanan ve kızılötesi kurutucuda 525 W'ta 30 dakika kurutulan buğday örneği
BS2IR	Su ile 2 dakika süreyle yıkanan ve kızılötesi kurutucuda 525 W'ta 30 dakika kurutulan buğday örneği
BSK1E	1 M sodyum karbonat çözeltisi ile 1 dakika süreyle çalkalama yöntemiyle yıkanan, ardından 1 dakika basınçlı su yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan buğday örneği
BSK2E	1 M sodyum karbonat çözeltisi ile 2 dakika süreyle çalkalama yöntemiyle yıkanan, ardından 1 dakika basınçlı su yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan buğday örneği
BS1MD	Su ile 1 dakika süreyle yıkanan ve mikrodalga fırında %100 güçte 1 dakika kurutulan buğday örneği
BS2MD	Su ile 2 dakika süreyle yıkanan ve mikrodalga fırında %100 güçte 1 dakika kurutulan buğday örneği
DON	Deoksinivalenol
FAO	Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç Dairesi)
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
IAC	Immunoaffinity Column (İmmunoafinite Kolonu)

IAEA	International Atomic Energy Agency (Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı)
JECFI	Joint Expert Committee on Food Irradiation (Gıda İşinlama Ortak Uzmanlar Komitesi)
MS1E	Su ile 1 dakika süreyle yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan mısır örneği
MS2E	Su ile 2 dakika süreyle yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan mısır örneği
MS1IR	Su ile 1 dakika süreyle yıkanan ve kızılötesi kurutucuda 525 W'ta 30 dakika kurutulan mısır örneği
MS2IR	Su ile 2 dakika süreyle yıkanan ve kızılötesi kurutucuda 525 W'ta 30 dakika kurutulan mısır örneği
MSK1E	1 M sodyum karbonat çözeltisi ile 1 dakika süreyle çalkalama yöntemiyle yıkanan, ardından 1 dakika basınçlı su yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan mısır örneği
MSK2E	1 M sodyum karbonat çözeltisi ile 2 dakika süreyle ile çalkalama yöntemiyle yıkanan, ardından 1 dakika basınçlı su yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan mısır örneği
PBS	Phosphate Buffered Saline (Fosfat tamponu)
RSD	Relative standart deviation (Bağıl standart sapma)
TBL	Toplam Besinsel Lif
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
ZEA	Zearalenon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Deoksinivalenolün kimyasal yapısı (Sobrova et al., 2010)	7
Şekil 2.2. Zearalenon, kimyasal yapısı ve bazı metabolitleri (SCF, 2000)	9
Şekil 3.1. Basınçlı yıkama düzeneğinin şematik olarak gösterimi	29
Şekil 4.1. DON için oluşturulan kalibrasyon eğrisi	32
Şekil 4.2. ZEA için oluşturulan kalibrasyon eğrisi	32
Şekil 4.3. Buğdayda kabuk soyma süresi ile tanede ağırlık azalması arasındaki ilişki	35
Şekil 4.4. Farklı kabuk soyma süreleri sonucu buğdayda meydana gelen ağırlık azalmasının buğdayda kalan DON oranına (%) etkisi	37
Şekil 4.5. Kabuk soyma süresinin buğdayda kalan DON oranı (%) üzerine etkisi	38
Şekil 4.6. Farklı kabuk soyma süreleri sonucu buğdayda meydana gelen ağırlık azalmasının tanede kalan ZEA (%) miktarına etkisi	38
Şekil 4.7. Kabuk soyma süresinin buğdayda kalan ZEA (%) üzerine etkisi	39
Şekil 4.8. Farklı sürelerde yıkama işlemi ile kurutma işlemlerinin (etüv, mikrodalga ve kızılötesi) buğdayın tane rutubeti üzerine etkisi	46
Şekil 4.9. Farklı kurutma parametrelerinin 1 ve 2 dakika süresince yıkanan buğdaylarda ZEA ve DON konsantrasyonu üzerine etkisi	48
Şekil 4.10. Kızılötesi kurutucuda kurutulan buğday örneklerinin yüzey sıcaklıkları ve kızılötesi kurutucunun ortam sıcaklığındaki değişiklikler	50
Şekil 4.11. Su ve farklı yıkama çözeltilerinin buğdayda DON ve ZEA konsantrasyonu üzerine etkisi	52
Şekil 4.12. 1 ve 2 dakika süreyle su ile yıkanan mısır örneklerinde yıkama sonrası tane rutubeti ve etüvde kurutma ve kızılötesi kurutmanın tane rutubeti üzerine etkisi	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Önemli mikotoksinler, bu mikotoksinleri üreten küf türleri ve etkilenen gıdalar (Scudamore, 2000).....	5
Çizelge 2.2. Gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum deoksinivalenol miktarları (EC, 2007; TGK, 2009/22).....	8
Çizelge 2.3. Gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum zearalenon miktarları (EC, 2007; TGK, 2009/22).....	11
Çizelge 4.1. Mısır ve buğdayda DON ve ZEA için belirlenen geri kazanım değerleri	33
Çizelge 4.2. Mısır ve buğday örneklerindeki ortalama mikotoksin miktarları ve tekrarlanabilirlik değerleri (n=5)	34
Çizelge 4.3. DON ve ZEA için belirlenen tespit sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) değerleri.....	34
Çizelge 4.4. DON ve ZEA içeren buğday örneğinde kabuk soyma süresinin tane ağırlığı üzerine etkisi.....	35
Çizelge 4.5. Farklı sürelerde kabuk soyma işlemi uygulanan buğday örneğinde soyulmuş tane ve kepekteki DON ve ZEA miktarları ve % dağılımları	37
Çizelge 4.6. Farklı sürelerde kabuk soyma işlemi uygulanan buğdayda soyulmuş tane ve kepekteki toplam besinsel lif, kül ve protein içerikleri	41
Çizelge 4.7. Buğdayda farklı sürelerde kabuk soyma işlemi ile gerçekleşen ağırlık azalmasının buğdayın toplam besinsel lif, kül ve protein içeriğine etkisi.....	42
Çizelge 4.8. Alkali kabuk soyma işlemi uygulanan mısır, soyulmuş tane ve mısır kepeğinde toplam besinsel lif, kül ve protein içerikleri.....	44
Çizelge 4.9. Farklı sürelerde su, klorlu su ve sodyum karbonat çözeltisi ile yıkanan ve etüvde, kızılötesi kurutucu ve mikrodalga fırında kurutulan buğday örneklerine ait kısaltmalar ve açıklamaları	45
Çizelge 4.10. Su, klorlu su ve 1 M sodyum karbonat çözeltisi ile farklı sürelerde yıkanan ve kurutulan (etüv, mikrodalga ve kızılötesi) örneklerdeki DON ve ZEA konsantrasyonları ve toksin miktarındaki azalma değerleri (%)	47
Çizelge 4.11. Basınçlı su ile yıkama ile suda çalkalanarak yıkama işlemlerinin buğdayda DON ve ZEA konsantrasyonları üzerine etkisi.....	53

Çizelge 4.12. Farklı sürelerde su ve sodyum karbonat çözeltisi ile yıkanarak etüvde ve kızılötesi fırında kurutulan mısır örneklerine ait kısaltmalar ve açıklamaları54

Çizelge 4.13. Mısır örneğinin 1 ve 2 dakika boyunca su ve 1 M sodyum karbonat çözeltisi ile yıkanıp etüvde ve kızılötesi kurutucuda kurutulan örneklerdeki ZEA konsantrasyonları ve ZEA konsantrasyonunda görülen azalmalar (%)..... 56

1. GİRİŞ

Mikotoksinler, tarım ürünlerinde tarladan tüketime kadar tüm aşamalarda, ekolojik koşullara bağlı olarak gelişen bazı küf türleri tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir. Dünyada üretilen tahılların büyük bir kısmının mikotoksinlerle kontamine olduğu bilinmektedir. Tahıllarda ve diğer gıdalarda küf gelişmesi hem ekonomik açıdan önemli kayıplara yol açmakta hem de mikotoksin riskini beraberinde getirmektedir. Mikotoksinler insan ve hayvan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle gıda güvenliği kapsamında en çok çalışılan konulardan birini oluşturmaktadır.

Mikotoksinlerin varlığı ilk olarak 1960 yılında Hindi-X hastalığına neden olan aflatoksinlerin tanımlanması ile ortaya konmuştur. Bugün ise küfler tarafından üretilen 400'den fazla mikotoksin olduğu belirtilmektedir (Kabak et al., 2006). Mikotoksinler başlıca *Fusarium*, *Aspergillus* ve *Penicillium* gibi küfler tarafından üretilen bileşiklerdir. Bu küfler tarafından üretilen önemli mikotoksinler başında aflatoksinler (aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁, M₂), fumonisinler, deoksinivalenol, zearalenon, T-2 ve HT-2 toksinleri, okratoksin A ve patulin sayılabilir. Dünyada iklim ve çevre koşullarına bağlı olmak üzere pek çok gıdada bir veya birden fazla mikotoksin bulunmaktadır. Şimdiye kadar gıdalardaki mikotoksin varlığının belirlenmesi için pek çok çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmalar sonucunda buğday, mısır, pirinç, sorgum gibi tahıllar, kuruyemişler (özellikle yer fıstığı ve antep fıstığı), çeşitli kuru meyveler ve sebzeler, baharat, siyah zeytin ve kahve gibi birçok gıdada mikotoksin varlığı saptanmıştır.

Mikotoksinler çok çeşitli kimyasal yapılara sahiptir ve birçoğu gıdalara uygulanan çeşitli işlemler sırasında stabil kalmaktadır. Mikotoksinlerle kontamine olmuş hammaddelerde mikotoksinler üzerinde azaltıcı etkisi olduğu bulunan temizleme, öğütme, yıkama, ısıt işlemler, çeşitli kimyasallarla muamele gibi pek çok yöntem bulunmaktadır. Kullanılan yöntem ve mikotoksinin kimyasal yapısına bağlı olarak gıdalarda toksin konsantrasyonlarının azaltılması mümkün olmaktadır. Uygulanan bazı işlemler ile gıdalardaki mikotoksinlerin fiziksel olarak uzaklaştırılması mümkün olmakta, bazı işlemler sonucunda da mikotoksinlerin yapılarında değişiklikler gözlenmekte, kimi işlemlerle toksinler parçalanabilmektedir. Bu açıdan bakıldığında mikotoksinlerin fiziksel olarak uzaklaştırılabildiği işlemler önem

kazanmaktadır. Günümüzde bazı mikotoksinlerin parçalanma ürünleri ve toksisitelerinin belirlenmesi konusunda çalışmalar devam etmektedir.

Bu tez kapsamında deoksinivalenol (DON) ve zearalenon (ZEA) ile kontamine olmuş buğday ve ZEA içeren mısır gibi tahıllara uygulanan bazı ön işlemlerin etkinlikleri araştırılmıştır. Örnekler farklı sürelerde basınçlı su, klorlu su ve sodyum karbonat çözeltisi ile yıkanarak işlemin DON ve ZEA konsantrasyonları üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Su ile gerçekleştirilen yıkama işlemi sonrasında uygulanan farklı kurutma işlemlerinin (kızılötesi ve mikrodalga kurutma) mikotoksinler üzerindeki azaltıcı etkileri araştırılmıştır. Buğday örneklerine uygulanan farklı sürelerdeki kabuk soyma işlemi ile kabuğu soyulan taneler ve uzaklaştırılan kepekteki DON ve ZEA miktarları incelenmiştir. Mikotoksinlerin soyulmuş tane ve kepekteki dağılımları belirlenmiştir. ZEA içeren mısırlarda ise NaOH kullanılarak alkali kabuk soyma işlemi gerçekleştirilmiş ve işlemin ZEA üzerindeki etkisi incelenmiştir. Mikotoksinler, immunoafinite kolonlarla örnek temizleme ve sonrasında yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Bu metot yaygın olarak kullanılmaktadır ve güvenilirliği yüksektir. Mikotoksin analizlerinde ayrıca buğday ve mısırdaki DON ve ZEA için validasyon çalışmaları da gerçekleştirilmiş, uygulanan metodun test edilen toksinler ve matriks için geçerliliği belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gıda Güvenliği ve Mikotoksinler

Gıda güvenliği (food safety) terimi ilk defa 1992 yılında düzenlenen Uluslararası Beslenme Konferansı ve 1996 yılında düzenlenen Dünya Gıda Zirvesi ile ön plana çıkmıştır. Gıda güvenliği, FAO/WHO Codex Alimentarius Uzmanlar Komisyonu tarafından “sağlıklı ve kusursuz gıda üretimini sağlamak amacıyla gıdaların; üretim, işleme, muhafaza ve dağıtımları sırasında gerekli kurallara uyulması ve önlemlerin alınması” olarak tanımlanmaktadır (Anonymous, 2004). Gıda kalitesini ve güvenliğini etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır. Doğal toksinler, patojen mikroorganizmalar, pestisit kalıntıları, gıda katkı maddeleri, gıda alerjenleri ve genetiği değiştirilmiş organizmaları (GDO) içeren birçok faktör, gıda güvenliğini tehdit etmektedir. Doğal toksinler sınıfına giren mikotoksinler, birçok yerde bulunmaları, insan ve hayvan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle üzerinde en çok çalışılan gruplar arasında yer almaktadır (WHO, 2002).

Mikotoksinlerin varlığı ilk olarak 1960 yılında hindilerde ve kümes hayvanlarında görülen Hindi-X hastalığı ile ortaya çıkmıştır. Bu hayvanların bilinmeyen bir hastalık yüzünden öldükleri belirlenmiştir. Hastalığın nedenleri araştırıldığında hayvanların yedikleri yemde UV ışık altında mavi ve yeşil floresan veren toksik bileşikler saptanmıştır. Bu bileşikler, kromatografik yöntemlerle aflatoksinler olarak adlandırılmıştır (Scudamore, 2000). Mikotoksinler arasında en önemli grubu aflatoksinler oluşturmaktadır. Sağlık açısından risk oluşturan diğer mikotoksinler arasında *Fusarium* toksinleri (fumonisinler, deoksinivalenol, zearalenon), okratoksin A ve patulin gibi toksinler de bulunmaktadır (Kabak et al., 2006).

Mikotoksin sözcüğü Yunanca küf anlamına gelen “mykos” ve toksin anlamına gelen “toxicum” kelimelerinden türemiştir. Mikotoksinler genelde *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* türü küfler tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir (Brera et al., 2008). Küfler doğada yaygın olarak bulunduklarından gıdalarda hasat öncesinde, hasat sırasında ve hasattan sonra gelişebilirler. Eğer ortamda toksin üreten bir küf mevcutsa gıda üretiminin hemen hemen tüm aşamalarında uygun nem miktarı ve sıcaklık gibi koşullarda mikotoksin üretimi gerçekleşir (Lupien et al., 1999; Scudamore, 2000). Gözle görülebilir küf bulaşısı olmadan da gıdalarda

mikotoksin varlığı saptanabilmektedir. Bu duruma küf sporlarının çeşitli prosesler sırasında uzaklaştırılmış olması veya mikroorganizmanın yaşam döngüsünün çeşitli etkiler nedeniyle durmuş olması neden olabilir. Bunun yanında herhangi bir gıdanın görsel olarak küflü olması o gıdada mikotoksin bulunduğunun bir göstergesi değildir. Ayrıca spesifik bir mikotoksin, tek bir küf türü tarafından üretilirken spesifik bir küf türü birden fazla mikotoksin de üretebilmektedir (Brera et al., 2008). Gıda güvenliği açısından büyük öneme sahip mikotoksinler ve bulundukları gıdalar Çizelge 2.1’de gösterilmektedir.

Coğrafik koşulların ve iklim değişikliklerinin mikotoksin üretimi ve varlığı üzerinde etkisi bulunmakla birlikte mikotoksin kontaminasyonu dünya çapında görülmekte ve gıda zincirinde yer alan gıdaların büyük bir kısmı belli bir miktarda mikotoksin içermektedir (Kuiper-Goodman, 2004).

Küf kontaminasyonunu önlemek için yapılan çeşitli çalışmalar bulunmasına rağmen toksik küflerin doğada yaygın olarak bulunmasından dolayı hububat, kuruyemişler ve meyveler gibi birçok üründe küf üremesi gözlenmekte ve bu ürünlerde mikotoksin varlığı kimi zaman kaçınılmaz olmaktadır (Murphy et al., 2006).

Mikotoksin üreten küfler tarla patojenleri ve depo patojenleri olarak sınıflandırılabilir. Tarla patojenleri, tahılları genellikle büyüme evresinde etkilerler. Enfeksiyon ve üreme için yüksek bağıl nem ve tanede en az %19 nem gereklidir. Avrupa’da toksin üreten tarla küfleri *Fusarium*, *Claviceps* ve *Alternaria* türleridir. Depo patojenleri depolama sırasında düşük bağıl nemde (>%65) ve genelde düşük sıcaklıklarda (>5°C) gelişerek tahıllara etki ederler. *Aspergillus* ve *Penicillium* başlıca depo küfleridir (Köpke and Thiel, 2007).

Mikotoksinler geniş ve çok çeşitli gruplardan oluşmaktadır. Genel özelliklerinin başında hepsinin küfler tarafından üretilmesi, omurgalılar ve diğer organizmalar üzerinde toksik etkili olmaları gelmektedir. Bununla beraber mikotoksinler hakkında genel yargılara varmak oldukça zordur. Toksin üretiminde birçok metabolik yollar bulunmaktadır ve mikotoksinler oldukça geniş farmakolojik etkilere sahiptir. İnsanlar ve hayvanlar; beslenme sırasında, solunum yolu ile ve deriyle temas gibi farklı şekillerde mikotoksinlere maruz kalırlar. Mikotoksinler yağda ve

suda çözünebilir, bağırsaklardan, deriden ve hava yolu ile kolayca absorbe edilebilirler (Bennet and Rai, 2010).

Çizelge 2.1. Önemli mikotoksinler, bu mikotoksinleri üreten küf türleri ve etkilenen gıdalar (Scudamore, 2000)

Mikotoksin	Küf türü	Etkilenen gıda
Aflatoksin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> ^a ^a (Sadece B ₁ ve B ₂ 'yi üretir)	Tahıllar, kuruyemişler, incir, kuru meyveler, baharatlar, mısır, pirinç
Aflatoksin M ₁ , M ₂	<i>Aflatoksin B₁ ve B₂'nin metabolik ürünüdür.</i>	Süt ve süt ürünleri
Deoksinivalenol, Nivalenol	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. crookwellense</i>	Tahıllar
Zearalenon	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. crookwellense</i>	Tahıllar
Fumonisin B ₁ , B ₂ , B ₃	<i>F. moniliforme</i> , <i>F. proliferatum</i>	Mısır ve mısır ürünleri
T-2 toksin, HT-2 toksin	<i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. poae</i>	Tahıllar
Okratoksin A	<i>P. verrucosum</i> , <i>A. ochraceus</i>	Tahıllar, kahve çekirdeği, fasulye, bira, kuruyemişler
Patulin	<i>P. expansum</i>	Elma suyu, meyveler
Sitrinin	<i>P. verrucosum</i>	Tahıllar
Monilioformin	<i>Fusarium türleri</i>	Tahıllar
Alternariol, alternariolmonometileter, Tenuazonik asit	<i>Alternaria alternata</i> , <i>A. tenuis</i>	Tahıllar, meyveler, domates, yağlı tohumlar
Ergot alkaloidleri	<i>Claviceps purpurea</i>	Tahıllar
Sterigmatosistin	<i>A. versicolor</i> , <i>A. nidulans</i>	Tahıllar, peynir
Siklopiazonik asit	<i>A. flavus</i> , <i>P. commune</i>	Tahıllar, baklagiller, peynir, kuruyemişler,

Mikotoksinlerin insan ve hayvan sağlığı üzerindeki toksik etkileri mikotoksikozis olarak adlandırılmaktadır. Mikotoksikozisin derecesi; toksine maruz kalma seviyesi, yaşı ve beslenme düzeyine bağlı olmakla beraber vücuda alınan diğer kimyasallarla oluşturulan sinerjik etkilere de bağlıdır. Mikotoksikozis hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde de görülür. Ancak küf üremesini teşvik eden nem ve sıcaklık gibi iklim koşulları; çevresel, sosyal ve ekonomik etkilerle birleştiğinde mikotoksikozis görülme sıklığı artmaktadır (Peraica et al., 1999).

Mikotoksinlerin hepatoksik veya karsinojenik (aflatoksinler), östrojenik (zearalenon), immunotoksik (patulin, trikotesenler ve fumonisinler), nefrotoksik (okratoksin A) etkileri olabilmektedir. Mikotoksinlerin neden oldukları riskleri belirlemek oldukça zordur çünkü mikotoksinler elimine edilmeleri oldukça zor doğal kontaminantlardır. Ayrıca bir küf türü uygun koşullarda birden fazla mikotoksin üretebilmektedir (Peraica et al., 1999). Mekanizmaları tam olarak açıklanamasa da birçok mikotoksinin kombine toksik etki gösterdikleri bilinmektedir. Bir gıdadaki birden fazla mikotoksin benzer yapıdaysa ve aynı küf türü tarafından üretiliyorsa veya aynı mikotoksin grubunda ise etki mekanizmaları ve toksisite profillerinin de benzer olması beklenmektedir. Bazı çalışmalar sitrinin ve okratoksin A'nın kombine toksik etki gösterdiğini belirtmektedir. Her ne kadar sınırlı sayıda çalışma bulunsa da trikotesenlerin toksik etkilerinin sinerjik olduğu bildirilmiştir (Speijers and Speijers, 2004).

2.2. *Fusarium* Toksinleri ve Özellikleri

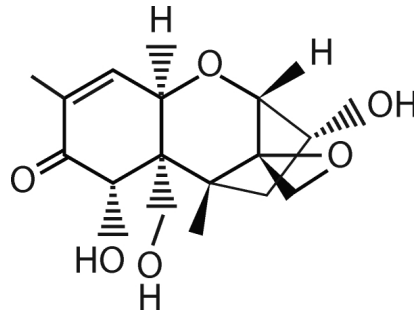
Avrupa'da hasat öncesi görülen başlıca mikotoksin zararları *Fusarium* türü küfler tarafından oluşturulmaktadır. *Fusarium* küfleri buğdayda başak yanıklığı (*Fusarium* head blight) ve mısırdaki koçan çürüklüğü (ear rot) adı verilen önemli bitki hastalıklarına neden olurlar. Bu hastalıklar buğdayda ve mısırdaki önemli ölçüde verim ve kalite kaybına sebep olmaktadır. *Fusarium* zararı görmüş tahıllarda mikotoksin bulunma riski oldukça yüksektir (Bottalico and Perrone, 2002; Kabak et al., 2006).

2.2.1. Deoksinivalenol (Vomitoksin)

Deoksinivalenol (DON) genellikle buğday, arpa, çavdar, yulaf ve mısırdaki bulunur. Pirinç, tritikale ve sorgumda görülme sıklığı ise daha azdır. DON, *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*) and *F. culmorum* ile ilişkilendirilmektedir. *Fusarium* başak yanıklığı ve DON kontaminasyonu arasında direkt ilişki olduğu belirlenmiştir. Çiçeklenme zamanında görülen yağış sonrası nemli bir ortam oluşması ve 25°C civarındaki sıcaklıklar *Fusarium* başak yanıklığı riskini arttırmaktadır. Hasat öncesinde *Fusarium* başak yanıklığının görülmesi gelişmekte olan taneleri etkileyerek buruşuk ve büzüşmüş tane yapısına neden olmakta ve tane ağırlığı oldukça düşmektedir. 1 mg/kg'a kadar DON kontaminasyonu genellikle tanelerin yüzeyine yakın yerlerde bulunmakta, daha yüksek konsantrasyonlarda tane içlerine doğru dağılım göstermektedir (Canady et al., 2001) .

Deoksinivalenol ($C_{15}H_{20}O_6$; molekül ağırlığı 296.3 g/mol) trikotesen gurubu mikotoksinler arasındadır ve ölçülebildiği kadarıyla dünyadaki tahılların %75'inden fazlasını kontamine ettiği bildirilmektedir (SCF, 1999).

Trikotesenler, siklik seskiterpenoid ailesindendir ve karakteristik fonksiyonel gruplarına göre dört gruba ayrılmışlardır (A, B, C, D). A ve B grubundaki trikotesenler daha yaygın olarak bulunmaktadır. A grubu trikotesenler arasında T-2 ve HT-2 toksinleri yer alırken DON, 3-asetil-DON (3-Ac-DON), 15-asetil-DON (15-Ac-DON), nivalenol (NIV) ve fusarenon-X (FUS-X) B grubu trikotesenler arasında yer almaktadır. A grubu trikotesenlerde hidroksil gruplarının azlığı bu gruptaki toksinlerin daha az polar özellikte olmalarına neden olmaktadır. DON (Şekil 2.1), suda ve etanol (EtOH), metanol (MeOH), etil asetat ve asetonitril gibi (ACN) polar çözümlerde çözünmektedir (Krska et al., 2007).



Şekil 2.1. Deoksinivalenolün kimyasal yapısı (Sobrova et al., 2010)

DON; hematoksik, nörotoksik ve bağışıklık sistemini baskılayıcı özelliğindedir. Triketesenlerin oral yoldan alınmasıyla hayvanlarda deride kızarıklık, iştahsızlık, kusma, ishal, nöral bozukluk ve düşük gibi semptomlar görülmektedir. Moleküler yapısındaki 3-OH grubunun DON'un bağışıklık sistemini baskılayıcı özellik göstermesinde etkili olduğu bildirilmektedir. DON, DNA ve RNA sentezini inhibe ederek ribozomal düzeyde protein sentezini engellemektedir. De-epoksidasyon ve glukuronidasyon ile daha az toksik özellikteki metabolitlerine dönüştürülebilmektedir (SCF, 1999; Canady et al., 2001; Richard, 2007). Avrupa Komisyonu tarafından belirlenen, bazı gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum DON miktarları Çizelge 2.2' te verilmiştir.

Çizelge 2.2. Gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum deoksinivalenol miktarları (EC, 2007; TGK, 2009/22)

Gıda maddesi ⁽¹⁾	Maksimum limit (µg DON/kg)
İşlem görmemiş tahıllar (durum buğdayı, yulaf ve mısır hariç)	1250
İşlenmemiş durum buğdayı ve yulaf	1750
İşlenmemiş mısır (ıslak öğütülecekler hariç) ⁽²⁾	1750
Doğrudan tüketime sunulan tahıllar, doğrudan insan tüketimine sunulan tahıl unları, kepek (son ürün olarak) ve ruşeym (germ)	750
Makarna ⁽³⁾	750
Ekmek (fırıncılık ürünleri dahil), pastacılık ürünleri, bisküvi, tahıl çerezleri, kahvaltılık tahıl ürünleri	500
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ⁽⁴⁾	200

⁽¹⁾ Pirinç ve pirinç ürünleri tahıl ve tahıl ürünleri kapsamında değerlendirilmemelidir.

⁽²⁾ İstisnalar sadece kullanım amacı belirtilen mısırlar için kullanılır. Örneğin; etiketinde veya herhangi bir belgesinde, "nişasta üretimi için" gibi kullanım amacı belirtilenler vb.

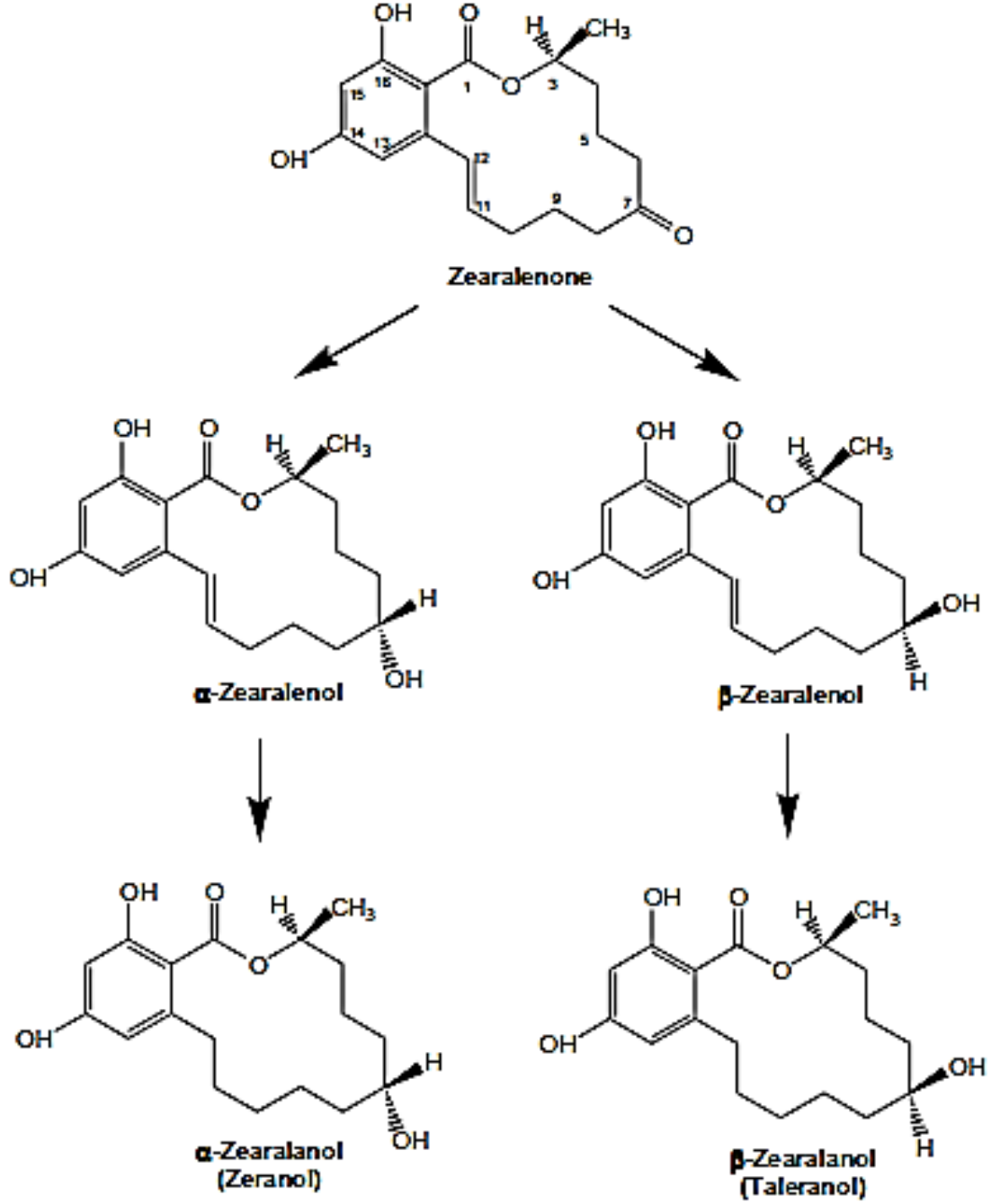
⁽³⁾ "TGK – Makarna Tebliği"nde tanımlanan ürünleri kapsar.

⁽⁴⁾ "TGK – Bebek ve Küçük Çocuk Ek Gıdaları Tebliği"nde tanımlanan gıdaları kapsar. Maksimum miktar kuru madde üzerinden geçerlidir.

2.2.2. Zearalenon

Zearalenon (ZEA); (C₁₈H₂₂O₅; molekül ağırlığı 318.36), steroid yapıda değildir ve *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum* ve *F. moniliforme* gibi birçok *Fusarium*

türü küf tarafından üretilmektedir (Alldrick, 2004). Zearalenon, şimdiye kadar tanımlanan mikotoksinler arasında östrojenik aktiviteye sahip tek mikotoksindir (Krska and Josephs, 2001).



Şekil 2.2. Zearalenon, kimyasal yapısı ve bazı metabolitleri (SCF, 2000)

Zearalenon oral yolla alındıktan kısa bir süre sonra absorbe edilir. Karaciğer tarafından iki izomerine (α ve β) dönüştürüldükten sonra ince bağırsakta glukuronid konjugatları oluşturulur. Bu mikotoksin ve metabolitleri östrojen antagonistleri gibi davranarak östrojen reseptörlerine bağlanırlar. Reseptörlere bağlanma yetenekleri α -zearalanol > α -zearalenol > β -zearalanol > zearalenone > β -zearalenol şeklinde verilmektedir. Östrojen reseptörlerine bağlanarak doğurganlığı azaltmakta, embriyoda Emilimi arttırmakta ve yavru büyüklüğünü azaltmaktadır (Alldrick, 2004). α -zearalanolün, zearalenondan 3 kat daha fazla östrojenik aktiviteye sahip olduğu ve hayvan yemlerine katılarak hayvanlarda üremeyi arttırmak amaçlı kullanıldığı bildirilmektedir (Murphy et al., 2006).

Zearalenonun akut toksisitesi oldukça düşüktür ve LD₅₀ değeri JECFA tarafından 4000-20 000 mg/kg vücut ağırlığı olarak verilmektedir (Alldrick, 2004). Ancak bu oranın hububat depolama sistemlerinin kontrolünün yeteri kadar iyi yapılmadığı ülkelerde daha fazla olduğu tahmin edilmektedir (Murphy et al., 2006).

Zearalenon ve metabolitleri, mısır başta olmak üzere; arpa, çavdar, buğday, pirinç ve sorgum gibi tahıllarda bulunmaktadır. En yüksek zearalenon konsantrasyonlarına mısır ve mısır ürünlerinde rastlanmaktadır (Alldrick, 2004). Taneler üzerinde küf üremesinin gözlenmesi toksin üretiminin işareti olarak görülmemelidir çünkü *Fusarium* ile enfekte olmuş taneler çok yüksek mikotoksin konsantrasyonlarında küflü görünüme sahip değildir (Murphy et al., 2006).

Toksin üretimi genel olarak 3 aşamada gerçekleşmektedir: bitkinin küf ile enfekte olması, küfün gelişmesi ve toksin üretmesi. Enfeksiyonun temel mekanizması küfün buğday ve arpada tozlaşma döneminde, mısırdaki ise püsküllerin oluştuğu dönemde görülen yağış veya rüzgar yardımı ile topraktan bitkiye taşınmasıdır. Gelişmekte olan mısırdaki fiziksel zarar mikotoksin riskini arttırmaktadır. Deoksinivalenol üretimi tane gelişiminin ilk evrelerinde görülürken zearalenon üretimi ise tane gelişiminin ileriki aşamalarında da gözlenebilmektedir. *Fusarium* türleri tarla patojenleri olarak bilinmesine rağmen hasat sonrasında depolama sırasında zearalenon üretiminin gerçekleştiği bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Eriksen et al., 2000; Alldrick, 2004; Richard, 2007)

ZEA genellikle deoksinivalenol üreten küf türleri tarafından üretilir ve deoksinivalenol ile birlikte bulunabilir. ZEA üreten küfler, enfekte olmuş tahıllarda ZEA üretimiyle eş zamanlı olarak pembe renkli bir pigment üretmekte ve tanede pembe renkli bölgelerin görülmesi ZEA varlığı ile ilişkilendirilmektedir (Richard, 2007).

Avrupa Komisyonu tarafından belirlenen, bazı gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum zearalenon miktarları Çizelge 2.3' te verilmiştir.

Çizelge 2.3. Gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum zearalenon miktarları (EC, 2007; TKG, 2009/22)

Gıda maddesi ⁽¹⁾	Maksimum limit (µg ZEA/kg)
İşlem görmemiş tahıllar (mısır hariç)	100
İşlenmemiş mısır (yaş öğütülecekler hariç) ⁽²⁾	350
Doğrudan tüketime sunulan tahıllar, doğrudan insan tüketimine sunulan tahıl unları, kepek (son ürün olarak) ve ruşeym	75
Rafine mısır yağı	400
Ekmek (fırıncılık ürünleri dahil), pastacılık ürünleri, bisküvi, tahıl çerezleri, kahvaltılık tahıllar (mısır çerezleri ve mısır bazlı kahvaltılık tahıllar hariç)	50
Doğrudan insan tüketimine sunulan mısır, mısır çerezleri ve mısır bazlı kahvaltılık tahıllar	100
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	20

⁽¹⁾ Pirinç ve pirinç ürünleri tahıl ve tahıl ürünleri kapsamında değerlendirilmemelidir.

⁽²⁾ İstisnalar sadece kullanım amacı belirtilen mısırlar için kullanılır. Örneğin; etiketinde veya herhangi bir belgesinde, "nişasta üretimi için" gibi kullanım amacı belirtilenler vb.

2.3. Mikotoksin Kontaminasyonunu Azaltmada Kullanılan Yöntemler

Bu bölümde mikotoksin kontaminasyonunu azaltılmasında kullanılan yöntemler, hasat öncesinde ve hasat sonrasında uygulananlar olmak üzere iki başlık altında incelenecektir. Tahıllarda hasat öncesinde mikotoksin kontaminasyonun önlenmesinde küflerin mikotoksin üretmesini teşvik eden koşulların elimine

edilmesi ve tarlada tarımsal üretimin iyileştirilmesi gibi uygulamalar anlatılacaktır. Hasat sonrası uygulamalar kapsamında ise temizleme, yıkama, ısıtma işlemleri, öğütme, ışınlatma, adsorbsiyon ve kimyasalların kullanımı gibi işlemler ile mikotoksinlerin biyolojik yöntemlerle dekontaminasyonu anlatılacaktır. Gıdaların işlenmesinde kullanılan pişirme, ekstrüzyon ve fermentasyon gibi üretim aşamalarının mikotoksinler üzerindeki etkilerinden bahsedilecektir. Mikotoksin kontaminasyonu azaltmada kullanılan uygulamalar açıklanırken mikotoksinlerin azaltılmasında etkili olan yöntemlerin bilimsel açıdan mikotoksinler üzerinde azalma sağlayıp sağlamadıkları tartışılacaktır. Gıda güvenliği açısından insan veya hayvan beslenmesinde kullanılmaya uygun olmayan hammaddelerin kullanılabilir hale getirilmesi olanakları önerilmeyecek, uygulanan yöntemlerin etkinlikleri karşılaştırılacaktır.

2.3.1. Hasat öncesi uygulanan işlemlerle mikotoksin kontaminasyonunun azaltılması

Tahıllarda hasat öncesinde *Fusarium* zararının önlenmesinde *Fusarium* türlerine dirençli çeşitlerin yetiştirilmesi yoluna gidilebilir. Ürün rotasyonu, toprağın işlenmesi, sulama ve gübreleme işlemlerinin kontrollü olarak yapılması *Fusarium* zararını azaltma amacıyla uygulanan yöntemlerdendir. Bu işlemler arasında ürün rotasyonu önemli bir uygulamadır. *Fusarium* ile enfekte olmuş mısırdan sonra buğday ekilmesi mikotoksin riskini arttırırken enfekte olmuş buğdaylardan sonra baklagil gibi ürünlerin ekilmesi ile risk azaltılabilmektedir (FSA, 2007).

Hasatın, yağışlı bir dönemde yapılması, ürünün tam olgunlaşmadan hasat edilmesi ve *Fusarium* türleriyle enfekte olduğu bilinen başakların geç hasat edilmesiyle mikotoksin oluşumunun arttığı bilinmektedir. Tarlada *Fusarium* enfeksiyonunu önlemenin bir diğer yolu fungusit da kullanımıdır. Fungusit kullanımında önemli bir nokta belli bir mikotoksini üreten bir küf türünün kullanılan fungusite karşı dirençli olmasıdır. Bu durumda onunla rekabet edecek diğer küfler ortamdan elimine edilerek mikotoksin üretiminde artış gözlemlenmektedir (FSA, 2007).

2.3.2. Hasat sonrası uygulanan işlemlerle mikotoksin kontaminasyonunun azaltılması

2.3.2.1. Temizleme ve ayıklama

Temizleme ve ayıklama işlemleri ile tahıllarla karışık halde bulunan toz, toprak ve saman gibi kirlerle beraber rengi değişmiş, küflü, kırık ve küçük boyuttaki tanelerin ayrılması sağlanmaktadır. Temizleme ile küflü tanelerin ayrılması depolama aşamasında ürün stabilitesini arttırmakta ve mikotoksin riskini azaltmaktadır (Kabak et al., 2006; Bullerman and Bianchini, 2007). Temizleme işlemi elle, mekanik olarak veya elektronik yöntemlerle gerçekleştirilebilmektedir. Mısır, pamuk tohumu, kuru incir ve yerfıstığı gibi ürünlerde floresan ayırma kullanılarak aflatoksin içeren tanelerin ayrılması mümkün olmaktadır. Elektronik ayırıcılar (sorter) ile endüstriyel düzeyde kontamine olmuş tanelerin ayrılması gerçekleştirilebilmektedir. Yüzdürme ve yoğunluk farkına (density segregation) göre yapılan ayırma işlemleri ile de mikotoksinle kontamine olmuş taneler ayrılabilir. Kontamine olmuş taneler sağlıklı olanlara göre daha hafif olduklarından sıvı yüzeyinde kalmakta ve ayrılmaları kolay olmaktadır. Aflatoksin içeren mısırlarda bu işlem başarı ile uygulanmaktadır. Su ve doygun tuz çözeltileri kullanılarak tahıllardaki DON, ZEA ve aflatoksin düzeyleri önemli ölçüde azaltılabilmektedir (Bata and Lasztity, 1999; Kabak et al., 2006). Yüksek hızlı çift dalga boylu ayırıcıların kullanımıyla kontamine olmuş mısırlarda aflatoksin ve fumonisin miktarlarının önemli ölçüde azaltıldığı çalışmalar bulunmaktadır (Pearson et al., 2004).

2.3.2.2. Yıkama

Yıkama işlemi birçok gıdanın üretim aşamalarında kullanılan önemli ön işlemlerdendir. Yıkama ile beraber hem hammaddeye kir ve toz uzaklaştırılmakta hem de istenmeyen özellikteki bazı bileşenlerin ayrılmaları sağlanabilmektedir. Küflerle kontamine olmuş tahılların su ile yıkanmaları mikotoksin düzeylerinde önemli ölçüde azalma sağlamaktadır (Juany, 2007). Böyle uygulamalar hem gıdalarda hem de yemlerde etkili olmakla beraber yağ öğütmede veya etanol

retiminde kullanılmayacak olan tahıllarda kurutma giderlerini arttırmaktadır (Fandohan et al., 2005).

Fusarium toksinleri ile kontamine olmuş tahılların su veya sodyum karbonat çözeltileri ile yıkanmalarının mikotoksin kontaminasyonunu azalttığı çalışmalar bulunmaktadır (Abramson et al., 2005). DON ve ZEA ile kontamine olmuş arpa, mısır ve buğdayda su ve sodyum karbonat çözeltisi ile yapılan yıkamanın toksin düzeylerine etkisi incelendiğinde su ile yapılan yıkamada DON ve ZEA düzeylerinde sırasıyla %65-69 ve %2-61 oranında azalma sağlanmıştır. 1 M sodyum karbonat çözeltisi ile yıkamanın DON ve ZEA düzeylerinde %72-74 ve %80-87 azalma sağladığı görülmüştür. Su ve sodyum karbonatla yıkama işlemlerinin arka arkaya yapılması ile toksin miktarlarında %100'e varan azalma sağlanmıştır (Trenholm et al., 1992).

2.3.2.3. Kabuk soyma

Mikotoksinler tahıllarda daha çok kepek ve/veya kavuz ve ruşeym gibi bölgelerde lokalize olmaktadır (Abbas et al., 1985). Mikotoksinlerin başta kepek ve karın çizgisi olmak üzere tanede en dış katmanlarda olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. *Fusarium graminearum*'un arpa ve buğdayda daha çok sakal kısmında bulunduğu, enfeksiyon süresinin artmasıyla küfün perikarp ve testaya doğru ilerlediği bildirilmiştir (Skadsen and Hohn, 2004). Kf enfeksiyonun çok ileri aşamalarında hidrolitik enzimlerin senteziyle endosperme doğru ilerleyen küflerin, tanede ciddi hasarlar meydana getirdiği ve bu bölgelerde mikotoksin bulunma riskini arttırdığı belirlenmiştir (Jacowiak et al., 2005). Tanelerdeki toksin konsantrasyonunun artmasıyla tanenin i kısımlarındaki mikotoksin miktarının dış kısımlara oranla arttığı belirtilmiştir (Young et al., 1984).

Mikotoksinlerin tahıllarda tanede bulunduğu kısımlar göz önüne alındığında tanelerin dış katmanlarının ayrıldığı kabuk soyma işlemi, mikotoksinle kontamine olmuş tahıllarda kontaminasyonun azaltılmasında kullanılabilecek etkili bir yöntem olarak görülmektedir. Bu yöntemle beraber tahıllarda yeni toksinler oluşturulmadan, tanenin besleyici gelerinde önemli bir değişiklik olmadan mevcut teknolojiler kullanılarak mikotoksinlerin uzaklaştırılmaları sağlanmaktadır.

Kontaminasyonun çok yüksek olduğu tahıllarda kabuk soyma işleminin tanede önemli ölçüde ağırlık kaybı gerçekleşmekte ancak mikotoksin kontaminasyonunu önemli ölçüde azaltılabilmektedir (Trenholm et al., 1991). ZEA ve DON ile kontamine olmuş buğday, mısır ve çavdar örneklerinde eleme ve kabuk soyma işlemlerinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, iri olarak öğütülen ve elenen örneklerde %67-83 oranında daha az mikotoksine rastlanmıştır. Kabuk soyma işleminin orta düzeyde kontamine olmuş tahıllarda ve tane yüzeyine yakın olan mikotoksinlerin uzaklaştırılmasında daha etkili olduğu belirlenmiştir (Trenholm et al., 1991). Durum buğdayında %10 oranında kabuk soyma yapıldığında DON miktarında %45 oranında azalma sağlanmıştır. Öğütme işlemi ile karşılaştırıldığında kabuk soyma işleminin daha etkili olduğu bildirilmektedir (Rios et al., 2009).

Kavuzlu ve kavuzsuz arpa çeşitlerinin yapay olarak *Fusarium graminearum* ile enfekte edildiği bir çalışmada, mikotoksinlerin kavuzlu arpa çeşitlerinde kavuz kısmında birikmeye daha elverişli olduğu ve mikotoksinlerin önemli bir kısmının kavuzda toplandığı belirlenmiştir (Legzdinaa and Buerstmayr, 2004). DON ile kontamine olmuş arpalara uygulanan labotuvaz ölçekli kabuk soyma işlemi ile tanelerdeki DON seviyesinin %80-100 oranında azaltıldığı bildirilmiştir. Ancak kabuk soyma süresi arttıkça tane ağırlığının oldukça azaldığı ve besleyici öğelerin kaybında artış meydana geldiği gözlenmiştir (House et al., 2003).

2.3.2.4. Öğütme

Öğütme işlemi ile tahıllar çeşitli fraksiyonlara ayrılmakta ve kontamine olmuş tahıllarda mikotoksin seviyeleri azaltılabilmektedir. Ticari olarak yapılan bir kuru öğütmede fumonisinlerin irmik, un, ruşeym ve kepekte bulunduğu belirlenmiştir. DON ile kontamine olmuş buğdaylarda küfün endosperme nüfuz etme yeteneğine bağlı olarak değiştiği, kontaminasyonun yüzeyde meydana geldiği tanelerden elde edilen unlarda daha düşük düzeyde mikotoksin bulunduğu bildirilmiştir. *P. verrucosum* ile enfekte edilen sert ve yumuşak buğdaylarda öğütme sonrası OTA miktarlarında sırasıyla %66 ve %40 oranında azalma gözlenmiştir (Canady et al., 2001; EMAN, 2011).

Zearalenon ve aflatoksin içeren mısırların öğütülmesi sırasında toksinlerin öğütme fraksiyonlarına dağılımının incelendiği bir çalışmada kontamine mısır örnekleri endüstriyel bir işletmede öğütülmüştür. Ruşeym, kepek, farklı irilikteki mısır irmikleri, un ve hayvan yemi için kullanılan unda mikotoksin analizleri yapılmıştır. Kepek ve ruşeymdeki aflatoksin ve zearalenon miktarları taneye göre daha fazla bulunmuştur (Brera et al., 2006).

Mısırın kuru öğütme öncesi temizlenmesinin ZEA miktarında %3-10 arasında azalma sağladığı bildirilmiştir. Öğütme fraksiyonlarının tamamının ZEA ile kontamine olduğu, toksinin en çok yağ oranı yüksek fraksiyonlarda ve kepekte bulunduğu belirlenmiştir. İrmik, un ve düşük yağ içerikli fraksiyonlardan oluşan ürünlerin ise tanedeki ZEA miktarının %20'sini içerdiği saptanmıştır (Bennet et al., 1976). Mısırın kuru öğütülmesiyle unda ve irmikte %80-90 oranında *Fusarium* toksinlerinde azalma gözlenirken kepekte ve embriyoda daha yüksek oranlarda mikotoksin bulunmuştur (Magan and Aldred, 2007).

Doğal olarak kontamine olmuş farklı ZEA içeriklerine sahip mısır örneklerinin yaş öğütülmesiyle elde edilen nişastada ZEA'ya rastlanmamıştır. Diğer bütün öğütme fraksiyonlarda ise ZEA varlığı tespit edilmiştir. Toksin miktarının en çok gluten başta olmak üzere; sırasıyla çözünür fraksiyonlar, kepek ve ruşeymde olduğu belirlenmiştir. Kontaminasyon derecesi yüksek olan mısır örneklerinde ruşeym ve nişasta verimlerinin daha düşük olduğu bildirilmiştir (Bennet et al., 1978).

2.3.2.5. Isıl işlemler

Zearalenon, lakton halkasına sahip olmasına karşın ısıya karşı oldukça dayanıklıdır. Şimdiye kadar zearalenonun fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle azaltılmasına yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmaların bir kısmı model sistemlerde gerçekleştirilirken bir kısmı ise doğal kontamine örneklerle sürdürülmüştür.

Farklı pH'ya sahip tampon çözeltilerde farklı sıcaklıklarda (100, 125, 150, 175, 200 ve 225°C) ısıtma işlemi uygulanmasının zearalenon üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada zearalenon miktarının sıcaklığın artması ile azaldığı belirlenmiştir. Yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilen uzun süreli işlemlerin ZEA'nın azaltılmasında

daha etkili olduğu bulunmuştur. Zearalenonun en çok pH 7'de stabil olduğu bunu sırası ile pH 4 ve 10'un izlediği belirlenmiştir (Ryu et al., 2003).

Ekstrüzyon işleminin mikotoksinler üzerindeki etkisinin araştırıldığı pek çok çalışma mevcuttur. Ekstrüzyon pişirme ile sıcaklık 100-200°C' ye çıkabilmekte ve istenen son ürünün özelliklerine göre nem oranı %13-30 arasında olmaktadır. Yüksek sıcaklık-basınç ve gerçekleşen kimyasal reaksiyonların etkisiyle mikotoksinler parçalanmakta veya ortamda bulunan diğer bileşenlerle interaksiyona girmektedir. Ekstrüzyon işleminin *Fusarium* toksinleri üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada yüksek nem içeriği ve sıcaklığın zearalenon konsantrasyonunun azaltılmasında daha etkili olduğu belirlenmiştir (Scudamore et al., 2008).

Trikotesenlerin 120°C'de stabil; 180°C'de yarı-stabil olduğu ve 210°C'de 30-40 dakikalık bir ısıt işlem ile parçalanabildikleri bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise mısırda bulunun DON'un alkali ortamda (tortilla üretiminde) %72-82 oranında azaldığı belirtilmiştir (Canady et al., 2001). Ekmek pişirme işlemi sırasında DON'un yaklaşık %50 oranında azaldığı bildirilmiştir (Neira et al., 1997). DON ile kontamine olmuş erişte ve spagetti gibi ürünlerin pişirilmesi ile önemli miktarda mikotoksinin pişirme suyuna geçtiği belirlenmiştir (Scott, 1984). Bir başka çalışmada DON'un makarnanın pişirilmesi sırasında yaklaşık %50 oranında pişirme suyuna geçtiği bildirilmiştir (Larsen et al., 2004). Diğer taraftan, %50'ye yakın deoksinivalenolün hamur fermentasyonu süresince varlığını sürdürdüğu, ZEA'nın ise ekmekte %60 ve erişte benzeri ürünlerde %50 oranında bulunduğu bildirilmiştir.

Durum buğdayının işlenmesi sırasında deoksinivalenol azalmasının incelendiği bir çalışmada doğal olarak kontamine olmuş ve/veya *Fusarium* inoküle edilmiş 9 örnek ile çalışılmıştır. Temizlenmemiş buğdaydan spagettinin pişirilmesine kadar tüm basamaklardaki mikotoksin azalması incelenmiştir. Deoksinivalenolün öğütme fraksiyonlarına çeşitli oranlarda dağıldığı ve temizleme işlemi, irmik üretimi, spagetti üretimi ve pişirme işlemi ile sırasıyla %77, %37, %33 ve %20 oranında azalma gerçekleştiği görülmüştür (Visconti et al., 2004).

2.3.2.6. Işınlama (radyasyon)

Işınlama uygulaması iyonize ve iyonize olmayan ışınlama olarak kategorize edilebilir. X-ışınları ve gama (γ)-ışınları iyonize; UV ışınları, mikrodalga, kızıl ötesi ışınlar ve radyo dalgaları iyonize olmayan ışınlardır. 1980 yılında FAO/IAEA/WHO Uzmanlar Komitesi'nin (JECFI) gıdaların ışınlanması konusunda yayımladığı rapora göre 10 kGy'lik bir doza kadar yapılan ışınlamanın insan sağlığı açısından toksik etkisinin olmadığı, mikrobiyolojik sorunlara ve beslenme problemlerine yol açmadığı bildirilmiştir. Işınlama işlemi gıdaların depolanması sırasında mikotoksin biyosentezini inhibe etme amaçlı kullanılmaktadır. Gama (γ) ışınlarının küf gelişimini ve mikotoksin oluşumunu engellediği çalışmalar mevcuttur. Ancak ışınlama işleminin etkinliği küf türüne ve uygulanan doza bağlı olmakla birlikte nemden ve depolama koşullarından oldukça etkilenmektedir (Kabak et al., 2006).

Ultraviyole (UV) ışınlama yönteminin gıda olarak tüketilecek veya hayvan yemi üretiminde kullanılacak tarımsal ürünlerin sterilizasyonunda başarı ile uygulandığı bilinmektedir. Bu yöntemin mikotoksinlerin elimine edilmesinde umut verici bir yöntem olduğu düşünülmektedir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada, DON ve ZEA içeren yemlerde düşük ve yüksek dozda UV-ışınlama işleminin mikotoksinler üzerine etkisi araştırılmıştır. Işınlama süresine bağlı olmakla beraber UV-ışınlamanın mikotoksinler üzerinde azaltıcı etkisinin olduğu, 1 saatlik bir işlem sonrasında mikotoksinlerin dedekte edilemeyecek seviyeye indirildiği gösterilmiştir (Murata et al., 2008).

2.3.2.7. Kimyasal yöntemler

Farklı kimyasalların mikotoksin detoksifikasyonu üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu amaçla ozonlama, alkali uygulaması, okside edici ajanlar, klorlama ajanları ve indirgeme ajanlarının kullanıldığı bildirilmektedir. Detoksifikasyonun başarısı; gıdanın nem içeriği, uygulanan prosesteki sıcaklık, basınç ve uygulama zamanı ile gıdanın mikotoksin düzeyi gibi faktörlerden etkilenmektedir (Shapira, 2004). Bazı ülkelerde amonyak, sodyum ve kalsiyum hidroksit gibi bazik özellikteki kimyasalların aflatoksin detoksifikasyonunda kullanıldığı ve unların ağartılmasında kullanılan klorun DON

konsantrasyonlarında %10 oranında azalma sağlandığı belirlenmiştir (Bata and Lasztity, 1999).

Fusarium toksinleriyle kontamine olmuş tahılların kimyasal olarak dekontaminasyonunda DON için sodyum bisülfid, klor gazı, nemli ozon ve amonyak; ZEA için ise kalsiyum hidroksit ve formaldehit kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Dekontaminasyonda kullanılacak kimyasal yöntem, gıdalarda toksik kalıntılar bırakmayacak, gıdanın besinsel öğelerinde kayıp veya teknolojik özelliklerinde değişiklik meydana getirmeyecek özellikte olmalıdır (Shapira, 2004).

Ozonlama işleminin aflatoksin, patulin, siklopiazonik asit, okratoksin A ve ZEA gibi mikotoksinlerin detoksifikasyonunda ve degradesyonunda etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. İşlemin etkinliği ozon konsantrasyonu, uygulama süresi, örnek sıcaklığı, uygulanan tahılın pH ve nem içeriği gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Tiwari et al., 2010). DON ile kontamine olmuş mısırlara uygulanan 1 saatlik nemli ozonlama ile toksin düzeyinin %90'lara kadar azaldığı bildirilmiştir. Ozonun mikotoksinler üzerinde kimyasal modifikasyonlara neden olarak biyolojik aktivitelerini azalttığı bildirilmektedir. Bazı çalışmalarda ozon uygulanması ile oluşan yeni ürünlerin toksisitelerinin azaldığı belirtilmiştir. Model ortamda gerçekleştirilen çalışmalarda da ozonun mikotoksinler üzerinde etkili olduğu bildirilmektedir (Young et al., 2006)

2.3.2.8. Biyolojik yöntemler

Mikotoksinlerin biyolojik yöntemlerle detoksifikasyonu mikotoksin kontaminasyonunu azaltmada kullanılan yöntemlerdendir. Biyolojik detoksifikasyonda herhangi bir mikroorganizma, hücre veya enzim sistemi kullanılarak toksinin biyotransformasyonu veya hayvanlar tarafından tüketildiğinde toksik olmayan metabolitlerine parçalanması veya daha az toksik etkiye sahip metabolitlerin oluşması sağlanmaktadır (Sweeney and Dobson, 1998).

Saccharomyces cerevisiae ve laktik asit bakterileri birçok gıdanın üretiminde kullanılmaktadır. Fermentasyon sırasında mikotoksinler mayaların ve bakterilerin hücre duvarındaki β -glukan ve glukomannanlara bağlanmaktadır. Oluşan kompleks sindirim sisteminde ayrışmamakta ve mikotoksin detoksifikasyonu

ortamdaki maya sayısının artmasıyla artmaktadır (Shetty and Jespersen, 2006). Yapılan bir çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* türlerinin aflatoksin B₁ bağlama kapasiteleri araştırılmış ve türe bağlı olmakla birlikte %10-40 oranında toksin bağlanması gözlenmiştir (Shetty et al., 2007). *In vitro* koşullarda 37-39°C arasında zearalenonun %50 oranında *S. cerevisiae* hücre duvarına bağlandığı bildirilmiştir (Yiannikouris et al., 2006).

Deoksinivalenolün mikrobiyel transformasyonlarla daha az toksik özellikteki de-epoksi metabolitlerine dönüştürüldüğü belirtilmiştir. Doğal olarak DON ile kontamine olmuş arpa ve buğday maltı kullanılarak bira üretimi gerçekleştirildiğinde mayşeleme aşamasında enzimatik aktivite etkisiyle DON konsantrasyonunda bir miktar artış gözlenmiştir. Şıranın 90 dakika kaynatılmasının DON üzerine yıkıcı bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Biradaki mikotoksin konsantrasyonunun kullanılan malttaki toksin konsantrasyonuna çok yakın bir değerde olduğu bildirilmiştir (Canady et al., 2001).

2.3.2.9. Adsorbanların kullanımı

Mikotoksinlerin kontaminasyonun azaltılmasında kullanılan yöntemlerden birisi de adsorbanların kullanımıdır. Bazı adsorban özellikteki maddeler mikotoksinleri bağlayarak bulunduğu ortamdan uzaklaştırmaktadır. Genellikle meyve suyu ve süt gibi sıvı gıdalarda mikotoksinlerin uzaklaştırılmasında adsorban özellikteki maddelerin kullanımı yaygındır. Bu adsorbanların başında aktif karbon ve bentonit gibi maddeler bulunmaktadır. Elma suyundan patulin ve süttten aflatoksin M₁'in uzaklaştırılmasında bentonit başarı ile kullanılmaktadır (Kabak et al., 2006). Adsorbanların kullanımı ile mikotoksinlerin canlı vücudunda tutulmasını sağlayan çalışmalar mevcuttur. Bu amaçla genellikle hayvan yemlerine inert bit katkı olarak adsorban eklenmekte ve hayvanın sindirim sisteminde mikotoksin adsorban tarafından tutularak vücuttaki emilimi azaltılmaktadır. Aluminasilikat yapıdaki adsorbanlar (zeolit, sepiyolit, diatom toprağı, bentonit gibi) değişik özellikteki mikotoksinlerin bağlanmasında kullanılmaktadırlar (Philips et al., 1990).

Adsorbanların mikotoksinleri bağlamasındaki mekanizma fiziksel olmasına rağmen kimyasal reaksiyona benzer bir özellik de göstermektedir. Adsorbsiyon için göz

önünde bulundurulması gereken en önemli özellik adsorbanın fiziksel yapısıdır. Adsorbandaki toplam yük, yükün dağılımı, yapıdaki porların büyüklüğü ve ulaşılabilir yüzey alanı gibi özellikler önemli yer tutmaktadır. Mikotoksinlerin polaritesi, çözünürlüğü, büyüklük ve şekil özellikleri, yük dağılımları ve disasosiyasyon sabitleri de bağlanma üzerinde etkili olmaktadır (Philips et al., 1990; Huwig et al., 2001; Dakovic et al., 2005).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

Araştırmada kullanılmak üzere biri Macaristan'dan (Cereal Research Non-Profit Ltd., Szeged) beş adedi ise Türkiye'nin farklı illerinden (Bolu, Hatay ve Ankara) buğday örneği ve Hatay, Bolu ve İzmir illerinden sağlanan 9 mısır örneğinde hızlı test kitleri ile DON ve ZEA miktarları yaklaşık olarak tespit edilmiştir. Macaristan'dan gelen buğday örneği tarlada yetişmekte olan bitkilere *Fusarium greminearum* kültürü inoküle edilerek üretilmiştir. Diğer mısır ve buğday örnekleri ise doğal ortamda inokülasyon yapılmadan küf üremesi gözlenen örneklerden seçilmiştir. Mikotoksin analizlerinde kullanılan hızlı kitler, immunoafinite kolonları ve mikotoksin standart çözeltileri R-Biopharm (Germstadt, Almanya)'dan; asetonitril, fosfat tamponu tabletleri ve diğer kimyasal maddeler Sigma Aldrich (Taufkirchen, Almanya)'den temin edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Fiziksel analizler

Öğütülmüş örneklerde rutubet analizleri AACCI Metot No: 44.19'a göre gerçekleştirilmiştir. Rutubet içeriği %13'ten yüksek olan tane halindeki örneklerde rutubet analizleri AACCI Metot 44-18'e göre iki kademeli olarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerdeki kül, toplam besinsel lif ve protein analizleri sırasıyla AACCI Metot No: 08.01, AACCI Metot No: 991.43 ve AACCI Metot No: 46-30'a göre gerçekleştirilmiştir (AACCI, 2000).

3.2.2. Mikotoksin analizleri

Yıkama, kurutma ve kabuk soyma işlemlerinde her bir uygulama iki tekrarlı olarak yapılmıştır. Elde edilen örneklerde mikotoksin analizleri her bir örnek için 2 paralel halinde gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar geri kazanım değerine göre düzeltme yapılarak kurumadde üzerinden verilmiştir. Örnek tarama aşaması sonrasında mikotoksin analizlerinde ikili pompa, diyod array dedektör (DAD), floresan dedektör (FLD) ve otomatik örnekleyiciden oluşan HPLC sistemi (Agilent 1100, Agilent Technologies Waldbronn, Almanya) kullanılmıştır.

3.2.2.1. Hızlı test kitleri ile mikotoksin içeren örneklerin belirlenmesi

Örnek hazırlama aşamalarında kullanılmak üzere farklı bölgelerden toplanan mısır ve buğday örneklerinde DON ve ZEA varlığının belirlenmesinde hızlı test kitlerinden yararlanılmıştır. DON saptanması için yanal akış prensibi ile çalışan RIDA®QUICK DON (R-Biopharm AG, Germstadt) (tespit sınırı 500 ppb) ve ZEA analizi için sandviç ELISA prensibi ile çalışan RIDASCREEN®FAST Zearalenon SC (R-Biopharm AG, Germstadt) (tespit sınırı 5 ppb) test kitleri kullanılmıştır.

3.2.2.2. ZEA analizi

5 g örnek, 25 ml asetonitril (ACN):su (75:25, v/v) ile iki kademeli olarak ekstrakte edilmiştir. İlk aşamada 5 g örnek üzerine 15 ml ekstraksiyon çözeltisi eklenerek 2800 rpm'de 2 dakika vorteksle karıştırılmıştır. Ardından 8000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant bir tüpe alınmıştır. Santrifüj sonrası kalan çökelti üzerine 10 ml ekstraksiyon çözeltisi eklenerek vorteks ve santrifüj aşamaları tekrarlanmış ve tüm ekstraktlar aynı tüpte toplanmıştır. Toplanan ekstraktan 10 ml alınarak 40 ml fosfat tamponu (PBS) ile seyreltilmiştir. İmmunolojik yöntemlerde kullanılmak üzere üretilmiş olan fosfat tamponu tabletlerinin 1 tanesi 200 ml suda çözündürülerek hazırlanmaktadır. Bir tabletin 25 C'de 200 ml suda çözündürülmesi ile 0.0027 M potasyum klorür ve 0.137 M sodyum klorür içeren 0.01 M fosfat tamponu elde edilmektedir (pH 7.4).

ZEA analizi için MacDonald ve ark. (2005a) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. ZEA immunoafinite kolonları (EASI-EXTRACT® ZEARENONE, R-Biopharm AG, Germstadt) Vakum Manifold'a (Supelco Visiprep™ SPE Vacuum Manifold) yerleştirilmiştir. Kolonlar üzerine 20 ml'lik rezervuarlar takılmıştır. Kolon tamponu 1 damla/s hızda kolondan alınarak sırasıyla 20 ml örnek ve 20 ml PBS geçirilmiştir. Kolonlarda kalan su, su trombu ile oluşturulan vakum ile uzaklaştırılmıştır. Toksin, kolondan 2 kez 1 ml ACN:15 mM amonyum asetat (50:50, v/v) geçirilerek alınmış ve kolondan ayrılan fraksiyon 4 ml'lik cam viallerde toplanmıştır.

Miktar tayini için floresan dedektörlü HPLC cihazı kullanılmış ve emisyon dalga boyu 245 nm, uyarma dalga boyu 450 nm olacak şekilde ölçüm yapılmıştır.

Kromatografik ayırım C18 (250 mm x 4 mm x 5 µm) ters faz HPLC kolonunda (Lichrospher, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak 1.0 ml/dk akış hızında ACN:15 mM amonyum asetat (43:57, v/v) kullanılmıştır. Enjeksiyon 100 µl hacimde gerçekleştirilmiş ve her bir ekstraksiyon için 2 enjeksiyon yapılmıştır.

3.2.2.3. DON analizi

5 g örnek 50 ml deiyonize su ile 2 kademeli olarak ekstrakte edilmiştir. İlk kademede 5 g örneğe 25 ml deiyonize su eklenerek 2800 rpm'de 2 dakika vorteksle karıştırılmıştır ve ardından 8000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant bir tüpe alınmıştır. Santrifüj sonrası kalan çökelti üzerine 25 ml deiyonize su eklenerek vorteksleme ve santrifüj aşamaları tekrarlanmıştır. Ekstraktlar bir tüpte toplanmış; bulanıklığı gidermek amacıyla 2 ml ekstrakt, 10000 xg'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant 1:1 oranında deiyonize su ile seyreltilmiştir. Seyreltilen ekstrakt DON immunoafinite kolonundan DONPREP® (R-Biopharm AG, Germstadt) 1 damla/s hızda geçirilmiştir.

DON İmmunoafinite Kolonu 5 ml saf su ile 1 damla/s hızda yıkandıktan sonra kolonda kalan su, su trompu ile oluşturulan vakumla uzaklaştırılmıştır. Daha sonra DON, kolondan 1 damla/s hızında 2 kez 750 µl metanol geçirilerek alınmış ve kolondan ayrılan fraksiyon 4 ml'lik cam viallerde toplanmıştır. Çözücü (metanol) 50°C sıcaklıkta azot gazı akımında tamamen buharlaştırıldıktan sonra kalıntı 1000 µl mobil faz içerisinde çözündürülmüştür (MacDonald et al., 2005b).

Miktar tayini için UV/DAD dedektörlü HPLC cihazı kullanılmış ve 218 nm'de ölçüm yapılmıştır. Kromatografik ayırım C18 (250 mm x 4 mm x 5 µm) ters faz HPLC kolonunda (Lichrospher, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak 1.0 ml/dk akış hızında su:ACN (90:10, v/v) karışımı kullanılmıştır. Enjeksiyon 100 µl hacimde gerçekleştirilmiş ve her bir ekstaksiyon için 2 enjeksiyon yapılmıştır.

3.2.2.4. Validasyon çalışmaları

Validasyon, kullanılan analitik metodun geçerliliğini gösteren bir tanımdır. Geçerlilik ise bir cihazın, yöntemin veya sistemin başarısının belirlenen koşullara uygun olduğunu göstermek için yapılan işlerin tümüdür (Ertaş and Kayalı, 2005). Bu tez kapsamında validasyon çalışmaları için doğrusallığın belirlenmesinde kalibrasyon eğrileri oluşturularak, geri kazanım (recovery) ve tekrarlanabilirlik (repeatability) değerleri hesaplanmıştır. Kullanılan analitik cihaz için tayin sınırı (limit of detection-LOD) ve tespit sınırı (limit of quantification-LOQ) belirlenmiştir.

Kalibrasyon çalışmaları

Farklı konsantrasyonlardaki DON ve ZEA standart çözeltileri hazırlanarak her mikotoksin için ayrı ayrı kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. DON için 5 ng/ml'den 1000 ng/ml'ye kadar değişen aralıkta dokuz farklı konsantrasyonda standart çözelti ile çalışılmıştır. ZEA için 25 ng/ml'den 1000 ng/ml'ye kadar değişen aralıkta yedi farklı konsantrasyonda ZEA standart çözeltisi kullanılmıştır. Kalibrasyon eğrilerinin oluşturulmasında enjeksiyon 100 µl hacimde gerçekleştirilmiş ve her bir konsantrasyon değerinde 2 enjeksiyon yapılmıştır.

Geri kazanım

Buğday ve mısır örneklerinde DON ve ZEA toksinleri için geri kazanım çalışmaları yapılmıştır. Geri kazanım değerinin belirlenmesi için DON ve ZEA içermediği tespit edilen buğday ve mısır örnekleri kullanılmıştır. Öğütülmüş buğday örneğine 1000 ng/g oranında DON ve 500 ng/g oranında ZEA; mısır örneğine ise 344 ng/g oranında ZEA standart çözeltisi eklenerek çözücünün buharlaşması için 2 saat beklenmiştir. Bu sürenin ardından her bir mikotoksin ve matris için 3 tekrarlı olarak ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir.

$$\% \text{ Geri kazanım} = \frac{(a-b)}{a} \times 100 \quad (3.1)$$

a: Eklenen mikotoksin miktarı

b: Hesaplanan mikotoksin miktarı

Tekrarlanabilirlik

Tekrarlanabilirlik (r); aynı operatör, aynı örnek, aynı alet, aynı laboratuvar gibi tekrarlanabilir koşullar altında kısa zaman içersinde elde edilen iki ayrı sonuç arasındaki mutlak farklılığı belli bir güven aralığında (genellikle %95) ifade eden terim olarak tanımlanmaktadır (EC, 2006). Bu amaçla yıkama işlemlerinde kullanılmak üzere DON ve ZEA içeren buğday örneğinde ve ZEA içeren mısır örneğinde tekrarlanabilirlik çalışmaları için herbir örnekten 5 tekrarlı ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Örneklerdeki ortalama toksin konsantrasyonları, standart sapma (S_r) ve bağıl standart sapma (RSD_r) değerleri hesaplanmıştır.

$$RSD_r = \frac{S_r}{\text{ortalama}} \times 100 \quad (3.2)$$

Tespit sınırı ve tayin sınırı

Kullanılan DON ve ZEA analiz yöntemleri için tespit sınırı (LOD:Limit of Detection) ve tayin sınırı (LOQ:Limit of Quantification) değerlerinin belirlenmesinde, DON ve ZEA için oluşturulan kalibrasyon eğrilerinden yararlanılmıştır. Kalibrasyon eğrisi denklemleri kullanılarak belirtilen yöntemler için LOD ve LOQ değerleri belirlenmiştir (Miller and Miller, 2005).

$$y = ax + b \quad (3.3)$$

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y - y')^2}{n-2}} \quad (3.4)$$

y' = Kalibrasyon eğrisine ait regresyon denkleminde gerçek x değerlerine karşılık gelen y değerleri (fit edilmiş y değerleri)

$s_{y/x}$ = y doğrultusundaki gelişigüzel hatalar

n = nokta sayısı

$$LOD = b + 3 \times s_{y/x} \quad (3.5)$$

$$LOQ = b + 10 \times s_{y/x} \quad (3.6)$$

3.2.3. Mısır ve buğday örneklerine uygulanan mikotoksin konsantrasyonunu azaltma yöntemleri

3.2.3.1. Kabuk soyma

Buğday örneklerinde kabuk soyma işlemi için Strong-Scott (Seedburo Equipment, Chicago, IL, ABD) kabuk soyma aleti kullanılmıştır. Kabukları soyulan buğdaylar elenmiş, ayrılan kısım ayrı bir yerde toplanmıştır. 100 g örnekte farklı sürelerde uygulanan kabuk soyma işlemi ile ayrılan miktarlar belirlenmiş ve tane ağırlığında meydana gelen azalma yüzde (%) olarak hesaplanmıştır. Dış kısımları uzaklaştırılan buğdaylarda ve ayrılan kısımlarda mikotoksin analizleri gerçekleştirilmiştir. Kabuk soyma işleminin tanelerden mikotoksinlerin uzaklaştırılmasındaki etkinliği belirlenmiştir. Buğday örneğinin, kabuğu soyulan buğdayların ve uzaklaştırılan kısımların toplam besinsel lif, protein ve kül içeriklerindeki değişimler incelenmiştir. Farklı sürelerde kabuk soyma işlemi uygulanmış buğday örneklerinde her süre için kabuk soyma işlemi iki kez gerçekleştirilmiş; kabuğu soyulan örneklerde ve kepekteki mikotoksin analizleri, toplam besinsel lif, kül ve protein analizleri iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Mısırlarda kabuk soyma işleminde tane yapısının kabuk soyma aletine uygun olmaması nedeniyle Strong-Scott kabuk soyma aleti kullanılamamıştır. Bunun yerine gıda endüstrisinde çeşitli ürünlerin üretim aşamalarında kullanılan alkali uygulamasıyla kabuk soyma işlemi yapılmıştır. Kabuk soyma Mistry ve Eckhoff (1992) tarafından bildirilen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 50 g mısıra 100 ml % 6'lık NaOH çözeltisi eklenmiş, 57°C'deki su banyosunda 8 dk bekletilmiştir. Bu sürenin ardından mısırlar bir süzgeç yardımıyla süzülerek bol su ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonrası kabukları yumuşayan örnekler, elle soyularak kabukları uzaklaştırılmıştır. Uzaklaştırılan kabuklar mısır kepeği olarak adlandırılmıştır. Mısır kepeği ve taneler 25°C'de 14-16 saat süre boyunca kurutulmuştur. Kurutma sonrası örnekler tartılıp kepek verimi belirlenmiştir. Mısır kepeği ve soyulmuş taneler öğütülerek mikotoksin analizleri gerçekleştirilmiştir. Kabuk soyma işlemi ve mikotoksin ekstraksiyonu iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Mısır örneği, kabuğu soyulan mısırlar ve mısır kepeğinde toplam besinsel lif, protein ve kül içeriklerindeki değişimler belirlenmiş ve analizler

iki tekrarlı olarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama değerler üzerinden kurumadde düzeltmesi yapılarak verilmiştir.

3.2.3.2. Yıkama

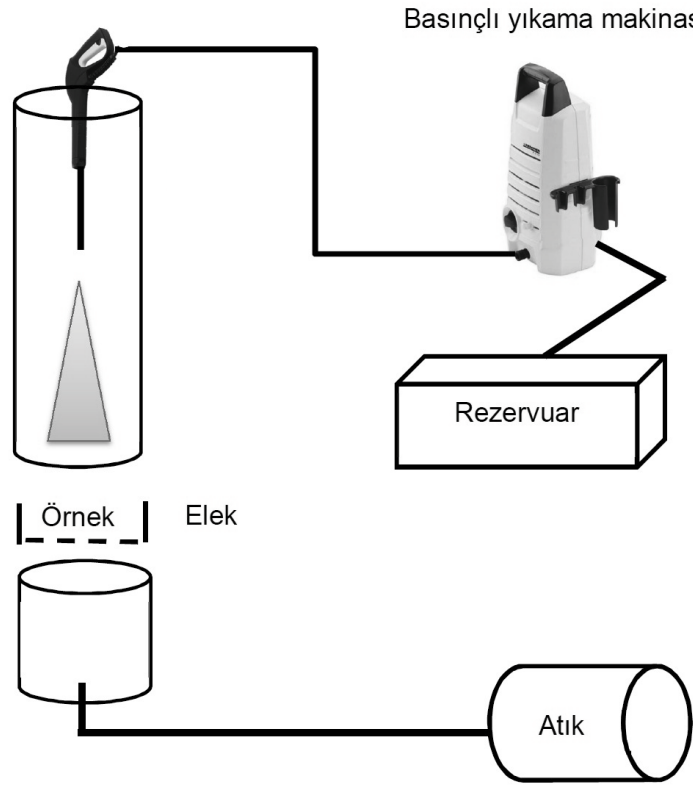
Mısır ve buğday örneklerinde yıkama işleminin gerçekleştirilmesi için bir basınçlı yıkama düzeneği oluşturulmuştur (Şekil 3.1). Basınçlı yıkama için ticari bir basınçlı yıkama makinesi (Kärcher K 2.15, Alfred Kärcher GmbH & Co., Almanya) kullanılmıştır. Yıkama düzeneğinde kullanılan basınçlı yıkama makinesi 8 MPa çıkış basıncı ile çalışmakta ve suyu örnek üzerine 5.5 L/dk debi ile vermektedir. Oluşturulan sistemde iç içe geçen iki boru arasında, üzerine yıkanacak tanelerin yerleştirildiği bir elek bulunmaktadır. Buğday ve mısır örneklerinden 100'er g tartılarak çapı 20 cm (yüzey alanı yaklaşık 314 cm²) olan elek üzerine konmuş ve örnekler 52.5 cm mesafeden basınçlı su püskürtülerek yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonrası örnekler elek üzerinden alınarak fazla suyu uzaklaştırıldıktan sonra tartılmış ve yıkama süresi boyunca bünyelerine aldıkları su miktarı belirlenmiştir. Basınçlı yıkama düzeneğinde su ile yıkama süresinin buğday ve mısır örneklerinin rutubet miktarına etkisinin belirlenmesi için farklı sürelerde yıkama yapılarak örneklerin rutubet içerikleri belirlenmiştir.

Aynı sürede yıkanan buğday ve mısır örneklerinin kurutulmasında farklı uygulamalar kullanılmıştır. Bu uygulamaların DON ve ZEA miktarları üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Yıkama işleminden sonra uygulanan kurutma yöntemleri ve parametreleri aşağıda verilmiştir:

- 1. Etüvde kurutma:** Mısır ve buğday örnekleri 30°C'de 14-16 saat süreyle etüvde (Şimşek Labortechnik, Model No: ST 120) kurutulmuşlardır.
- 2. Kızılötesi kurutma:** Mısır ve buğday örnekleri yakın (near) kızılötesi (Infrared: IR) bölgede çalışabilen kapalı bir sistem olan infrared cihazında (Infrared Heater, Biasis Ltd. Şti., Ankara) 525 Watt'ta yarım saat süreyle kurutulmuştur. Kızılötesi uygulaması Philips (Philips, Infrared, R125, Holland) marka halojen lambalar ile yapılmıştır. Philips marka lambaların her biri 150 W'lık olup toplam 1800 W güç sağlamaktadır. Örnekler tek sıra halinde kurutma tahtasına yayılarak kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Işık kaynağı kurutulacak örneklerden 20 cm

uzağa yerleştirilmiştir. Kızılötesi kurutucuda kurutma süresi boyunca farklı sürelerde sıcaklık ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Her 10 dakikada bir ortam sıcaklığı ve örneklerin yüzey sıcaklıkları ölçülerek sıcaklık profilleri çıkarılmıştır.

3. Mikrodalga kurutma: Buğday örnekleri ev tipi bir mikrodalga fırında (Vestel Goldstar, Model No: ER 536 MT) %100 güç seviyesinde 1 dakika boyunca kurutulmuştur. Mısır örnekleri mikrodalga fırında patladığı için mikrodalga kurutma yapılamamıştır.



Şekil 3.1. Basınçlı yıkama düzeneğinin şematik olarak gösterimi

Yıkama işleminde farklı çözeltilerin DON ve ZEA düzeylerine etkisi araştırılmıştır. Bunun için 2 ppm klor içeren su ve 1 M sodyum karbonat çözeltisi kullanılmıştır. Klorlu su ile 1 ve 2 dk boyunca yıkanan buğday ve mısır örnekleri etüvde kurutulmuştur. Sodyum karbonat çözeltisinin basınçlı yıkama sistemine zarar verme olasılığı olduğu için burada yıkama öncelikle çalkalama (90 rpm) yöntemi ile 1 ve 2 dk süreyle gerçekleştirilmiş, ardından örnekler basınçlı yıkama düzeneğinde

su ile 1 dakika boyunca yıkandıktan sonra etüvde kurutulmuştur. Kurutulan örnekler öğütülerek DON ve ZEA analizleri gerçekleştirilmiştir.

Basıncılı yıkama işlemi ile basınç uygulamadan yıkama işleminin etkisini karşılaştırmak için buğday ve mısır örnekleri 1 ve 2 dk süreyle çalkalanarak (90 rpm) yıkanmıştır. Yıkama sırasında kullanılacak örneğe örnek miktarının iki katı kadar su eklenmiştir. Daha sonra taneler süzülerek yıkama suyu ayrılmış ve örnekler etüvde kurutulmuştur (30°C, 14-16 saat). Kurutma sonrası öğütülen örneklerde ve yıkama suyunda DON ve ZEA analizleri gerçekleştirilmiştir.

Su ve farklı kimyasal çözeltilerle yapılan yıkama işlemleri mısır ve buğday örnekleri için iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerdeki mikotoksin ve rutubet analizleri de iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama değerler üzerinden kurumadde düzeltmesi yapılarak verilmiştir.

3.2.4. İstatistiksel analiz

Araştırma sonuçları SPSS 16.0 istatistik programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Ortalama değerler arasındaki farklar önemli bulunduğu ($p < 0.05$) DUNCAN testi kullanılarak karşılaştırma yapılmıştır.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

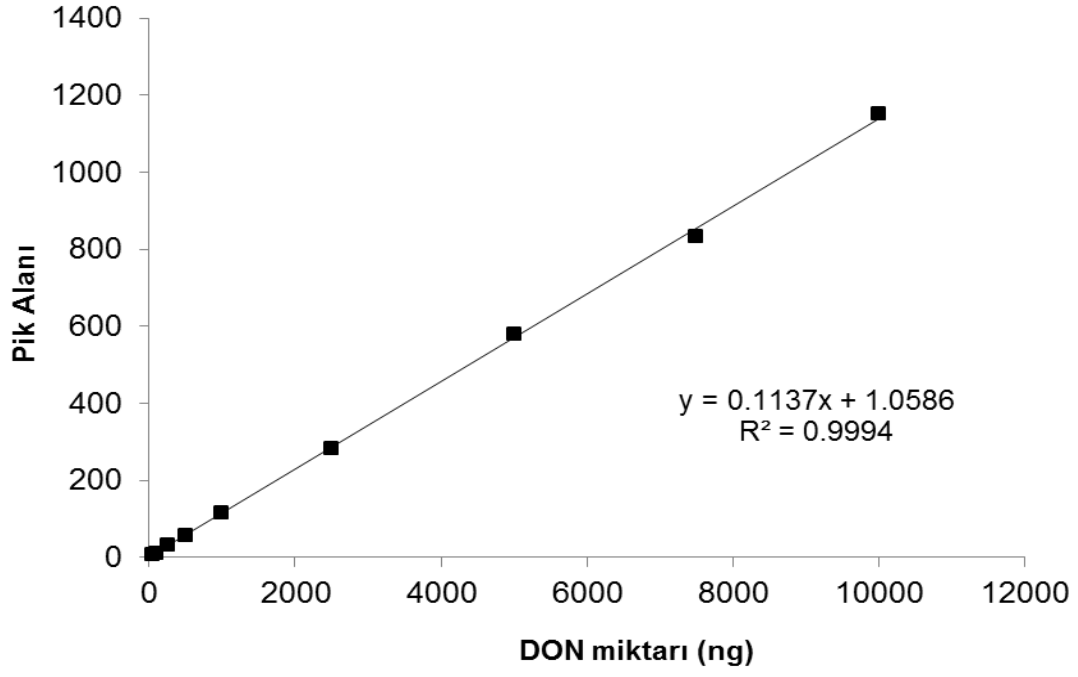
4.1. Örneklerin hızlı test kitleri ile belirlenen mikotoksin içerikleri

Araştırma kapsamında kullanılmak üzere temin edilen 6 buğday ve 9 mısır örneğinde hızlı test kitleri ile DON ve ZEA miktarları yaklaşık olarak tespit edilmiştir. Analize alınan buğday örneklerinden Macaristan'dan gelen buğday örneğinde 2000 ppb üzerinde DON ve 247 ppb ZEA; Hatay'dan gelen buğday örneğinde ise 44 ppb ZEA bulunduğu belirlenmiştir. Taranan mısır örneklerinden sadece Hatay'dan gelen örneğin 500 ppb ZEA içerdiği bulunmuştur. Kabuk soyma ve yıkama işlemlerinde (Macaristan'dan gelen) hem DON hem de ZEA içeren buğday örneği ve Hatay'dan gelen ZEA içeren mısır örneği kullanılmıştır. Hızlı test kitleri ile DON ve ZEA içerdiği belirlenen örneklerdeki mikotoksin konsantrasyonları ayrıca HPLC yöntemi ile daha güvenilir bir şekilde tespit edilmiştir.

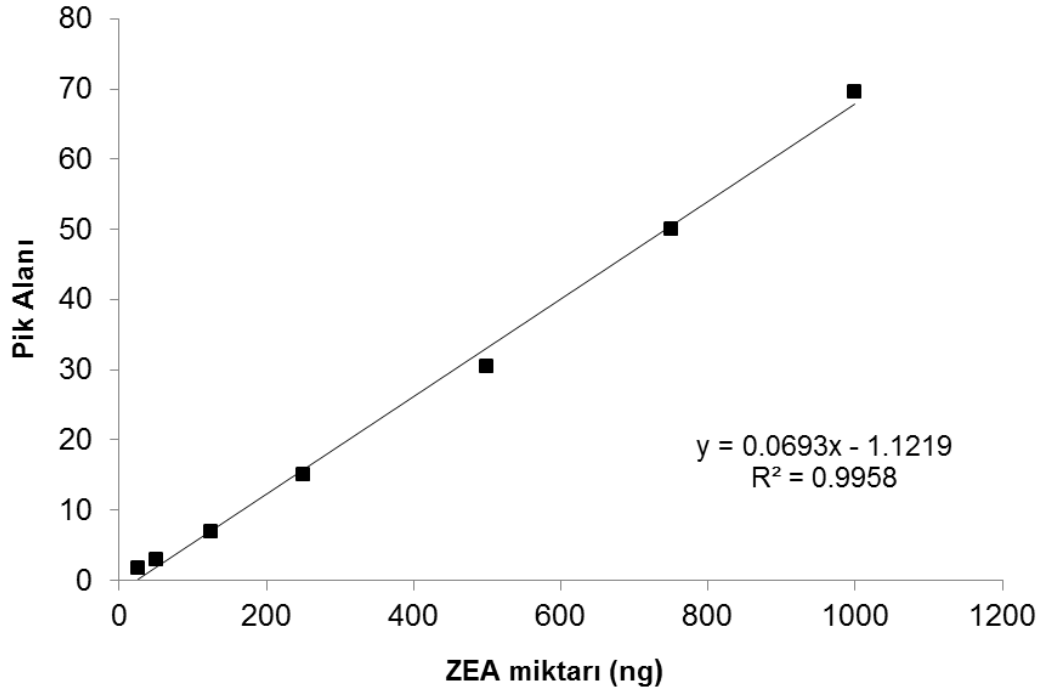
4.2. Validasyon Çalışmaları

4.2.1. Kalibrasyon eğrilerinin oluşturulması

DON kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında 5 ng/ml'den 1000 ng/ml'ye kadar değişen aralıkta dokuz farklı konsantrasyonda DON standart çözeltisi kullanılmıştır (Şekil 4.1). ZEA için kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında ise 25 ng/ml'den 1000 ng/ml'ye kadar değişen aralıkta yedi farklı konsantrasyondaki ZEA standart çözeltisi ile çalışılmıştır (Şekil 4.2). DON için elde edilen kalibrasyon eğrisinin denklemi $y=0.1137x+1.0586$ ve regresyon katsayısı $R^2=0.9994$; ZEA için oluşturulan kalibrasyon eğrisinin denklemi $y=0.0693x-1.1219$, regresyon katsayısı 0.9958 olarak bulunmuştur. Elde edilen doğru denklemleri ve R^2 değerleri, oluşturulan grafiklerin çalışılan konsantrasyon aralıklarında lineer olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.1. DON için oluşturulan kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.2. ZEA için oluşturulan kalibrasyon eğrisi

4.2.2. Geri kazanım

DON için buğdaydaki ortalama geri kazanım değeri 1000 ng/g düzeyinde %71.2; ZEA için ortalama geri kazanım değeri 500 ng/g düzeyinde %104.3 olarak bulunmuştur. ZEA için mısırdaki geri kazanım değeri 344 ng/g düzeyinde %103.1 olarak bulunmuştur. Mısır örneğinde DON tespit edilemediği için geri kazanım çalışması yapılmamıştır. Elde edilen geri kazanım değerleri ve bağıl standart sapmalar (%RSD) Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Mısır ve buğdayda DON ve ZEA için belirlenen geri kazanım değerleri

Matriks	Mikotoksin	Geri kazanım (%)	RSD (%)
Buğday	DON	71.2 ± 1.60	2.62
Buğday	ZEA	104.3 ± 2.33	2.23
Mısır	ZEA	103.1 ± 7.49	7.27

Çizelgedeki değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Avrupa Birliğinin (EC), 401/2006 no’lu yönetmeliğinde mikotoksinler için bildirilen analitik metod kriterlerine göre 500 µg/kg düzeyinden daha fazla DON veya ZEA içeren örneklerde geri kazanım değeri 70-120 arasında olmalıdır. Hem DON hem de ZEA için hesaplanan geri kazanım değerleri test edilen mikotoksinler ve matriks için uygun bulunmuştur. Hesaplanan relatif standart sapma değerlerinin düşük olması elde edilen sonuçların kabul edilebilir düzeyde olduğunu göstermektedir. Tez kapsamında yapılan tüm mikotoksin analiz sonuçları geri kazanım değerlerine göre düzeltme yapılarak verilmiştir.

4.2.3. Tekrarlanabilirlik

Yıkama denemelerinde kullanılacak buğday ve mısır örneklerindeki ortalama DON ve ZEA konsantrasyonları ile gerçekleştirilen tekrarlanabilirlik çalışmasının sonuçları Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Mısır ve buğday örneklerindeki ortalama mikotoksin miktarları ve tekrarlanabilirlik değerleri (n=5)

Matriks	Mikotoksin	Ortalama toksin miktarı (ng/kg)	% RSD _r
Buğday	DON	11624 ± 125.5	1.1
Buğday	ZEA	850 ± 4.6	2.3
Mısır	ZEA	752 ± 7.5	1.0

Çizelgedeki değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Avrupa Birliği'nin (EC), 401/2006 no'lu yönetmeliğine göre 500 µg/kg DON seviyesinde tekrarlanabilirlik değeri (% RSD_r) 20'den küçük; 500 µg/kg ZEA için ise 25'ten küçük olmalıdır. Elde edilen tekrarlanabilirlik değerleri mikotoksinler için bildirilen analitik metod kriterleri dikkate alındığında, test edilen mikotoksin ve matriks için uygun bulunmuştur.

4.2.4. Tespit sınırı ve tayin sınırı

DON ve ZEA standart çözeltileri ile oluşturulan kalibrasyon eğrilerinin denklemlerinden yararlanarak Eşitlik 3.3, 3.4, 3.5 ve 3.6 yardımıyla hesaplanan tespit sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) değerleri Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. DON ve ZEA için belirlenen tespit sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) değerleri

Mikotoksin	LOD (ng/kg)	LOQ (ng/kg)
DON	34.0	110.9
ZEA	8.7	26.5

Çizelge 4.3'teki sonuçlara göre DON ve ZEA analizinde kullanılan metot ve cihaz ile DON varlığı minimum 34 ng/g seviyesinde tespit edilebilmekte ve en az 110.9 ng/g'lık DON konsantrasyonu için miktar tayini yapılabilmektedir. Aynı değerler ZEA için sırasıyla 8.7 ng/g ve 26.5 ng/g olarak belirlenmiştir.

4.3. Mısır ve Buğdayda Kabuk Soyma İşlemlerinin Mikotoksin Konsantrasyonları Üzerine Etkileri

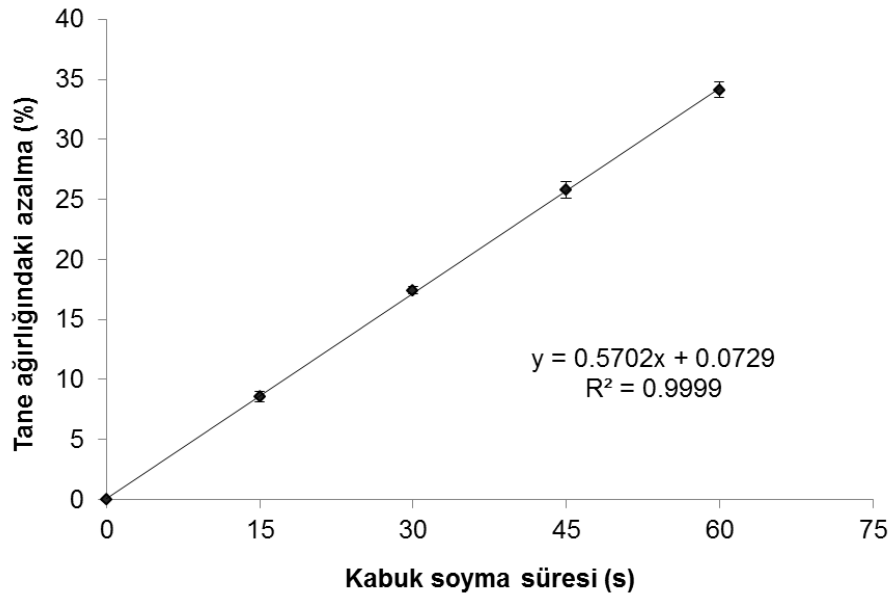
4.3.1. Buğdayda kabuk soyma işleminin DON ve ZEA üzerine etkisi

DON ve ZEA içeren buğday örneğinde farklı sürelerde uygulanan kabuk soyma işleminin tane ağırlığında meydana getirdiği azalma Çizelge 4.4'te, tane ağırlığındaki azalma ile kabuk soyma arasındaki ilişki ise Şekil 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. DON ve ZEA içeren buğday örneğinde kabuk soyma süresinin tane ağırlığı üzerine etkisi

Kabuk soyma süresi (s)	Tane ağırlığındaki azalma (%)	RSD (%)
0	0 ± 0.00	0.0
15	8.5 ± 0.44	5.13
30	17.4 ± 0.29	1.68
45	25.8 ± 0.67	2.60
60	34.1 ± 0.74	2.29

Çizelgedeki % azalma değerleri ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 4.3. Buğdayda kabuk soyma süresi ile tanede ağırlık azalması arasındaki ilişki (Hata çubukları ± standart sapma değerlerini vermektedir.)

Şekil 4.3'te kabuk soyma süresi ile buğdayın tane ağırlığında meydana gelen azalma arasındaki ilişkinin lineer olduğu görülmektedir. Başka bir çalışmada farklı bir kabuk soyma aleti ile makarnalık buğdayda yapılan 30 dakikalık kabuk soyma işleminde soyma süresi ile tane ağırlığındaki azalma arasındaki ilişkinin polinomik bir eşitlik ile ifade edilebileceği bulunmuştur (Rios et al., 2009). Ancak bu cihazda yaklaşık aynı miktardaki kabuk soyma için Strong-Scott aletine göre çok daha uzun sürelerle ihtiyaç duyulmaktadır.

Tez kapsamında kullanılan buğday örneğinin soyma sayısı değerinin 34.1 olduğu bulunmuş olup bu değer buğdayın yumuşak bir tekstüre sahip olduğunu göstermektedir. Farklı sertlikteki buğdaylara aynı sürelerde kabuk soyma işlemi uygulandığında tane ağırlığındaki azalmaların farklı miktarda olması beklenmektedir. Ayrıca, bu çalışmada belirlenen standart sapma değerlerinin düşük ve bağıl standart sapmaların %10'un altında olması uygulanan kabuk soyma işleminin tekrar edilebilir olduğunu ve sonuçların kesinliğinin iyi olduğunu göstermektedir.

Farklı sürelerde kabuk soyma işlemi uygulanan buğdayda DON ve ZEA mikotoksinlerinin kepek ve soyulmuş tanedeki konsantrasyonları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Çizelge 4.5'e göre kabuk soyma işleminde kullanılan buğday örneğinin DON içeriğinin ZEA içeriğinden daha fazla olduğu görülmektedir. Kabuk soyma süresinin arttırılmasıyla kepekteki DON ve ZEA konsantrasyonlarında artış görülürken tanede kalan DON ve ZEA konsantrasyonlarında ise azalma meydana gelmiştir.

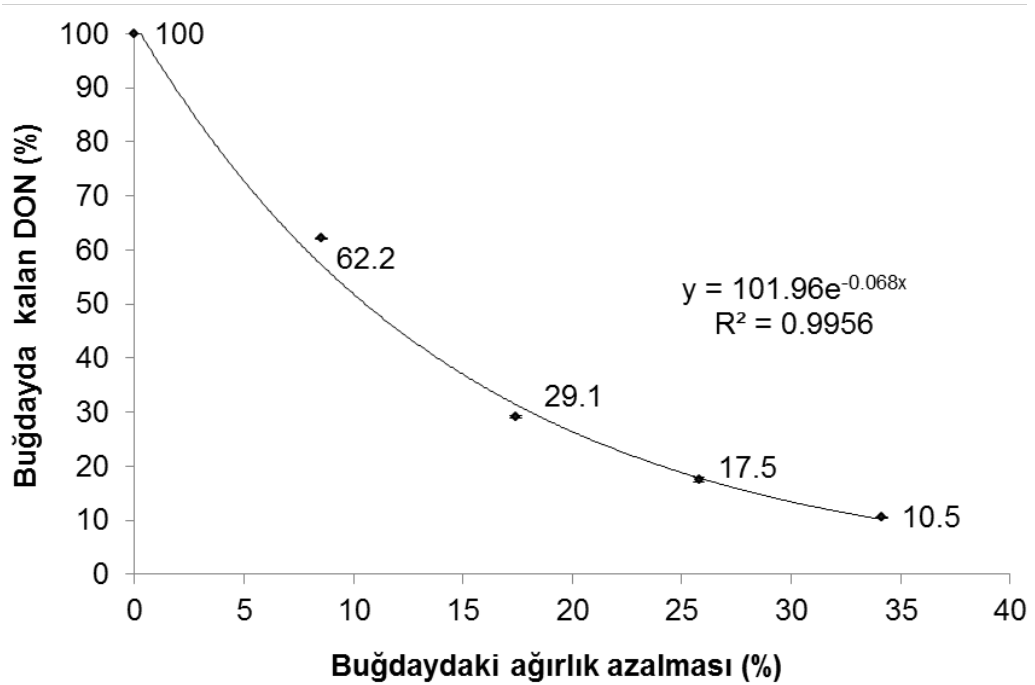
Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te farklı kabuk soyma süreleri sonucu tanede meydana gelen ağırlık azalmasının ve kabuk soyma süresinin buğdayda kalan DON oranına (%) etkisi görülmektedir.

Şekil 4.6 ve Şekil 4.7'de ise farklı kabuk soyma süreleri sonucu buğdayda meydana gelen ağırlık azalmasının ve kabuk soyma süresinin tanede kalan ZEA oranına (%) etkisi gösterilmiştir. Elde edilen verilere uygun regresyon modelleri denenmiş ve en uygun regresyon modellerinin üssel olduğu belirlenmiştir.

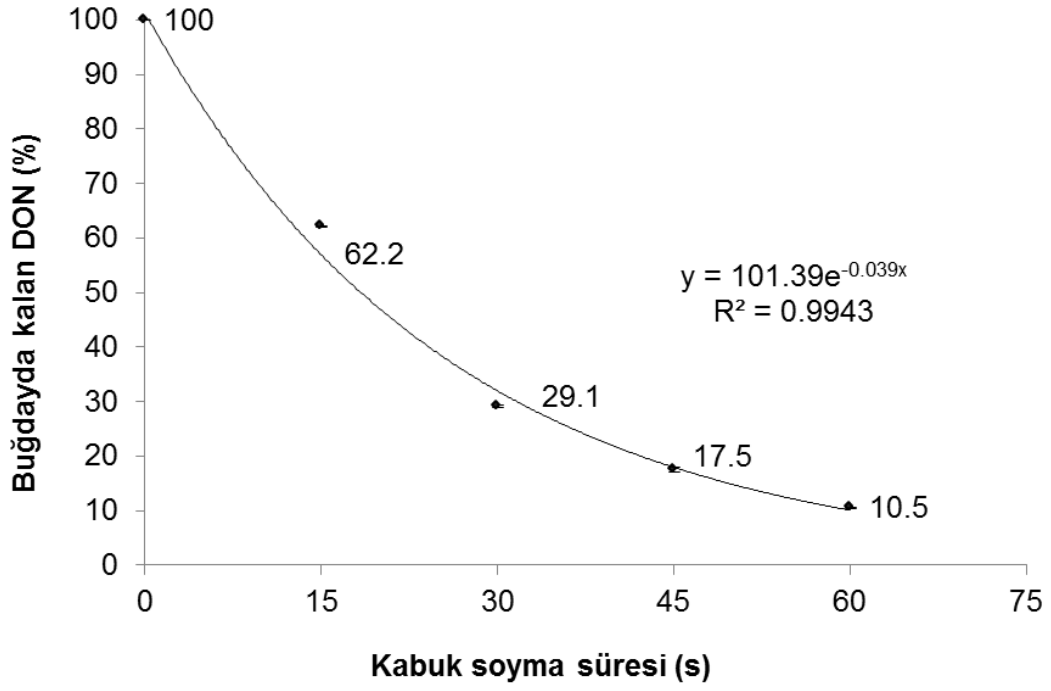
Çizelge 4.5. Farklı sürelerde kabuk soyma işlemi uygulanan buğday örneğinde soyulmuş tane ve kepekteki DON ve ZEA miktarları ve % dağılımları

Kabuk soyma süresi (s)		Mikotoksin konsantrasyonu (ng/g)		Mikotoksinlerin dağılımı (%)	
		DON	ZEA	DON	ZEA
15	Soyulmuş Tane	1840 ± 13.1	116 ± 2.1	62.2 ± 0.13	56.4 ± 0.79
	Kepek	11978 ± 150.4	962 ± 13.4	37.8 ± 0.13	43.6 ± 0.79
30	Soyulmuş Tane	1265 ± 1.0	95 ± 0.1	29.1 ± 0.26	21.6 ± 0.09
	Kepek	14603 ± 174.6	1644 ± 7.0	70.9 ± 0.26	78.4 ± 0.09
45	Soyulmuş Tane	1299 ± 44.0	101 ± 0.2	17.5 ± 0.46	12.6 ± 0.45
	Kepek	17634 ± 40.9	2033 ± 87.9	82.5 ± 0.46	87.4 ± 0.45
60	Soyulmuş Tane	1003 ± 14.3	87 ± 1.2	10.5 ± 0.16	4.2 ± 0.13
	Kepek	17139 ± 53.6	3872 ± 74.2	89.5 ± 0.16	95.8 ± 0.13

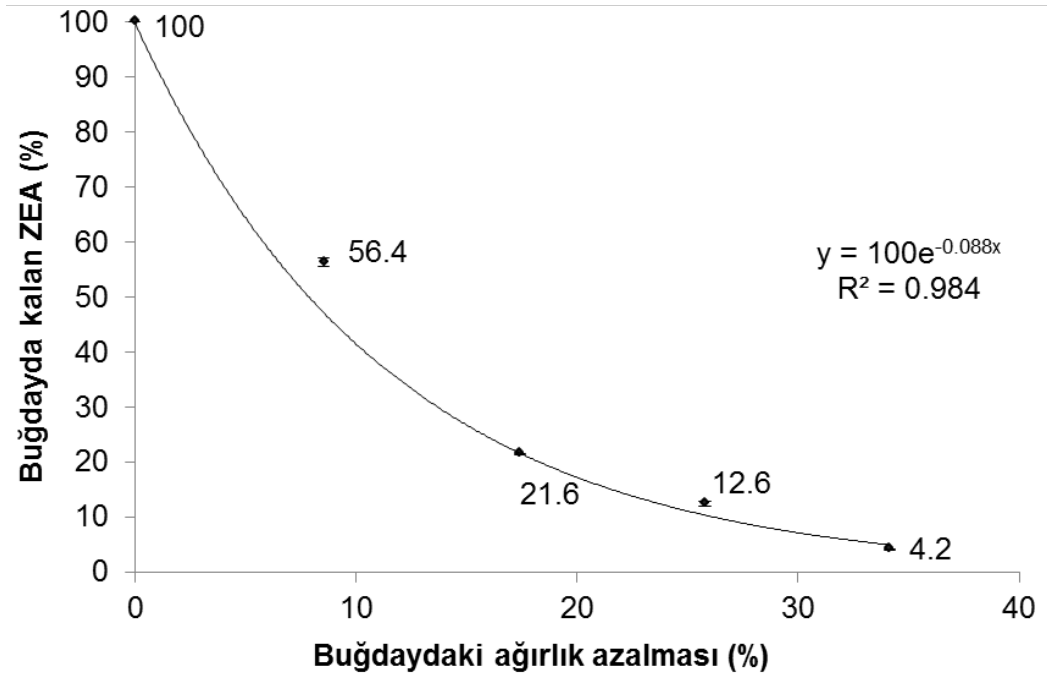
Çizelgedeki değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



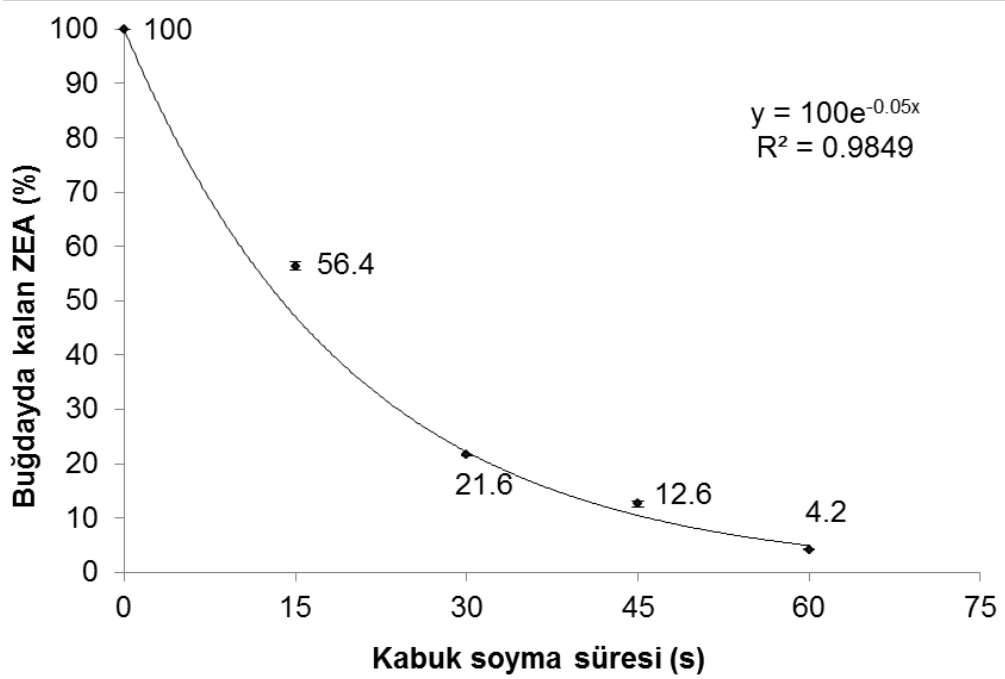
Şekil 4.4. Farklı kabuk soyma süreleri sonucu buğdayda meydana gelen ağırlık azalmasının buğdayda kalan DON oranına (%) etkisi (Hata çubukları ± standart sapma değerlerini vermektedir.)



Şekil 4.5. Kabuk soyma süresinin buğdayda kalan DON oranı (%) üzerine etkisi
(Hata çubukları $\pm$ standart sapma değerlerini vermektedir.)



Şekil 4.6. Farklı kabuk soyma süreleri sonucu buğdayda meydana gelen ağırlık azalmasının tanede kalan ZEA (%) miktarına etkisi
(Hata çubukları $\pm$ standart sapma değerlerini vermektedir.)



Şekil 4.7. Kabuk soyma süresinin buğdayda kalan ZEA (%) üzerine etkisi
(Hata çubukları $\pm$ standart sapma değerlerini vermektedir.)

15 saniye süreyle uygulanan kabuk soyma işlemi buğdayın tane ağırlığında %8.5'lik bir azalma meydana getirirken taneden yaklaşık %44 oranında ZEA; ve %38 oranında DON'un uzaklaştırılmasını sağlamıştır. Diğer bir ifade ile ilk 15 saniyelik kabuk soyma işleminde tane ağırlığında %8.5'lik bir azalma oluşurken ZEA konsantrasyonundaki azalma DON konsantrasyonundaki azalmadan %6 oranında daha fazla olmuştur.

30 saniye sonunda ise ZEA miktarındaki azalma %78'e ve DON miktarındaki azalma yaklaşık %71'e çıkmıştır. Kabuk soyma süresine bağlı olarak tane ağırlığındaki azalmanın artmasıyla 30 saniyeden sonra her iki mikotoksinin taneden uzaklaşma hızı azalmış; 60 saniye sonunda ZEA ve DON için sırasıyla yaklaşık %96 ve 90 azalma değerlerine ulaşmıştır. 60 saniye boyunca uygulanan kabuk soyma işleminin her iki mikotoksinin taneden uzaklaştırılmasında etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Farklı kabuk soyma sürelerinde DON ve ZEA'nın taneden farklı miktarlarda uzaklaştırılabilmesi bu mikotoksinlerin tanenin farklı dış katmanlarında yoğunlaşmış olduğunu göstermektedir.

Mikotoksinlerin tahıllarda genellikle kepek gibi dış katmanlarda ve karın çizgisinde yoğunlaştığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Küf enfeksiyonunun artması ile endosperm gibi iç kısımlardaki mikotoksin konsantrasyonu da artmaktadır (Young et al., 1984; Skadsen and Hohn, 2004; Jacowiak et al., 2005). Bu nedenle ilk 15 saniyelik kabuk soyma ile tane ağırlığı %8.5 azalırken buğdaydaki ZEA konsantrasyonun daha fazla azalması bu mikotoksinin DON'a göre tane yüzeyine daha yakın konumda bulunduğunu göstermektedir. Oktanol/su ayrılım katsayısı (partition coefficient: K_{ow}), bir bileşiğin oktanol-su karışımında denge durumundaki konsantrasyonunu gösteren bir terimdir. K_{ow} ile bir bileşiğin sudaki çözünürlüğü arasında ters bir ilişki söz konusudur. K_{ow} , genellikle Log K_{ow} olarak kullanılmaktadır (Anonymous, 2011b). Deoksinivalenol için Log K_{ow} değeri -0.71 (Anonymous, 2011a) ve zearalenon için Log K_{ow} değeri 3.58 (Anonymous, 2011c) olarak bildirilmiştir. Bu bilgiler ışığında DON'un sudaki çözünürlüğünün ZEA'ya göre daha çok olduğu görülmektedir. DON'un ZEA'ya göre daha polar özellikte olması (EMAN, 2011) ve daha küçük molekül ağırlığına sahip olması (SCF, 1999; Krska and Josephs, 2001) muhtemelen onun tane içlerine doğru daha kolay ilerlemesini ve iç kısımlarda daha çok bulunmasını sağlamaktadır.

Trenholm ve ark. (1991) 2.45 ppm DON ve 80 ppb ZEA ile kontamine olmuş buğday örneğinde Strong-Scott kabuk soyma aleti ile 25 s boyunca kabuk soyma işlemi uygulamış ve tane ağırlığının %18.6 azaldığını belirlemişlerdir. Bu işlemle %52.5 oranında DON ve %97.7 oranında ZEA'nın uzaklaştırıldığını bildirmişlerdir. Rios ve ark. (2009) tarafından bildirilen sonuçlara göre ise tanede yaklaşık %37'lik ağırlık azalması buğdayda DON miktarında %78 azalma sağlamıştır. Bu tez kapsamında elde edilen regresyon denkleminde (Şekil 4.3) hesaplanan sonuçlara göre ise aynı miktarda (%18.6) ağırlık azalması 32.5 saniyede gerçekleşmekte ve %71.5 oranında DON ve %80.3 oranında ZEA kepeklerle beraber uzaklaşmaktadır. Daha önceki çalışmalar ve bu tez kapsamında bulunan sonuçlar kabuk soyma işleminin DON ve ZEA üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. Ancak azalma değerlerinde bazı farklılıklar görülmesi nedeniyle kabuk soyma işleminin etkinliğinin buğdayın tane yumuşaklığına ve başlangıç toksin konsantrasyonuna bağlı olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.6'da farklı sürelerde kabuk soyma işleminin buğdayda toplam besinsel lif, protein ve kül içeriklerine etkisi verilmiştir.

Çizelge 4.6. Farklı sürelerde kabuk soyma işlemi uygulanan buğdayda soyulmuş tane ve kepekteki toplam besinsel lif, kül ve protein içerikleri

Kabuk soyma süresi (s)	Tane ağırlığındaki azalma (%)		Toplam Besinsel Lif (%)	Kül (%)	Protein (%)
0	0 ± 0	Kontrol	16.2 ± 1.58	2.28 ± 0.004	13.4 ± 0.39
15	8.5 ± 0.44	Soyulmuş Tane	13.8 ± 0.52	1.60 ± 0.034	12.2 ± 0.10
		Kepek	48.1 ± 0.36	3.25 ± 0.095	14.5 ± 0.15
30	17.4 ± 0.29	Soyulmuş Tane	13.4 ± 0.93	1.48 ± 0.012	11.4 ± 0.28
		Kepek	35.1 ± 0.93	3.03 ± 0.142	14.5 ± 0.25
45	25.8 ± 0.67	Soyulmuş Tane	13.2 ± 0.33	1.37 ± 0.005	11.4 ± 0.28
		Kepek	34.5 ± 1.94	2.93 ± 0.118	13.7 ± 0.09
60	34.1 ± 0.74	Soyulmuş Tane	12.1 ± 0.76	1.30 ± 0.042	11.0 ± 0.09
		Kepek	29.2 ± 0.03	2.76 ± 0.059	14.3 ± 0.09

Çizelgedeki değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Çizelge 4.6'ya göre tane ağırlığının azalmasıyla soyulmuş tanedeki toplam besinsel lif oranı azalmıştır. Buğdayda kepekte daha yüksek oranda bulunan kül içeriği toplam besinsel lif içeriği ile benzer eğilim göstererek kabuğu soyulan tanelerde azalmıştır. Kabuğu soyulan tanelerdeki protein miktarlarında kabuk soyma süresi arttıkça kontrol örneğine göre azalma gözlenmiştir. Kabuk soyma süresi arttıkça buğday tanesinde daha iç kısımlar soyulmaya başlamış, bu nedenle kepekten ayrılan endosperm miktarı artmış ve soyulan tanedeki toplam besinsel lif, protein ve kül içeriği giderek azalmıştır.

Çizelge 4.7’de farklı sürelerde gerçekleştirilen kabuk soyma işleminin buğdayda toplam besinsel lif, protein ve külün soyulan tanede kalma oranı üzerine etkisi görülmektedir.

Çizelge 4.7. Buğdayda farklı sürelerde kabuk soyma işlemi ile gerçekleşen ağırlık azalmasının buğdayın toplam besinsel lif, kül ve protein içeriğine etkisi

Tane ağırlığındaki azalma (%)	Toplam besinsel lifin buğdayda kalma oranı (%)	Toplam külün buğdayda kalma oranı (%)	Toplam proteinin buğdayda kalma oranı (%)
8.5 ± 0.44	75.3 ± 1.46	90.9 ± 1.22	90.0 ± 0.17
17.4 ± 0.29	64.1 ± 2.04	81.8 ± 0.18	78.8 ± 0.13
25.8 ± 0.67	55.7 ± 2.19	68.4 ± 4.39	70.5 ± 0.94
34.1 ± 0.74	39.9 ± 0.82	61.7 ± 2.50	59.9 ± 0.05

Çizelgedeki değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Kabuk soyma süresinin arttırılmasıyla kül ve protein içerikleri benzer şekilde azalırken toplam besinsel lif miktarında daha hızlı bir düşüş görülmüştür. 60 saniyelik kabuk soyma işlemi sonunda toplam besinsel lifin yaklaşık %60’ı, kül içeriğinin yaklaşık %38’i ve toplam protein miktarının ise yaklaşık %40’ı taneden uzaklaştırılmıştır. Aynı süre ile kabuk soyma işlemi sonunda DON ve ZEA konsantrasyonlarında sağlanan azalmalar çok daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla %90 ve 96).

Son yıllarda sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle lif içeriği yüksek gıdalara olan ilginin arttığı bilinmektedir. Bu amaçla tam tahıl unları kullanılarak veya una belli oranlarda kepek ilavesi yapılarak çeşitli hububat ürünleri üretilmektedir. Bu tez kapsamında ve daha önceki çalışmalarla elde edilen sonuçlar mikotoksinlerin tahıllarda daha çok lif içeriği yüksek kepek gibi kısımlarda bulunduğunu göstermiştir. Dolayısıyla gıdalara besinsel lif ilave etmek amacıyla kullanılan kepeğin yüksek oranda mikotoksin içermeye ihtimali bu ürünlerdeki gıda güvenliği riskini arttırmaktadır. Bu nedenle kepek üretiminde kullanılacak tahılların mikotoksin içeriklerinin belirlenmesi ve mikotoksin içermeyen tahıllardan elde edilen kepeğin ürünlerde yüksek lifli ürünlerde kullanılması oldukça önemli hale gelmektedir.

4.3.2. Mısırdaki kabuk soyma işleminin ZEA üzerine etkisi

ZEA içeren mısır örneğine iki tekrarlı olarak alkali kabuk soyma işlemi uygulanmış, kabuğu soyulan taneler ve mısır kepeğinde ZEA analizleri gerçekleştirilmiştir.

Mistry ve Eckhoff (1992) mısırdaki kabuk soyma işlemi sırasında farklı sıcaklık ve NaOH konsantrasyonlarının kepek verimi üzerine etkisini incelemiş ve 57°C'de 8 dakika %6'lık NaOH (a/h) uygulaması ile maksimum kepek verimi (%4.64) elde etmişlerdir. Bu tez çalışmasında da ZEA içeren mısır örneğinde mikotoksin seviyesini azaltacak maksimum kepek verimini elde etmek için Mistry ve Eckhoff (1992) tarafından optimize edilen koşullar kullanılmıştır. Kabuğu soyulan mısır için kepek verimi 4.94 ± 0.04 (n=2) olarak bulunmuştur.

Mısır örneklerine uygulanan alkali kabuk soyma işlemi sonrasında mısır kepeği ve soyulmuş tanelerde iki tekrarlı olarak ZEA analizi gerçekleştirilmiş ve analiz edilen kepek ile soyulmuş tane örneklerinde ZEA varlığı saptanamamıştır.

Alkali uygulamasının bazı mikotoksinlerin yapısında bulunan lakton halkasının açılmasına neden olduğu ve böylece toksin konsantrasyonunda azalma sağlandığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (King and Prudente, 2006). %2'lik Ca(OH)_2 kullanılarak öğütülmüş mısır örneklerinde ZEA'nın %100 oranında parçalandığı bildirilmiştir (Abbas et al., 1988). Elde edilen sonuçların alkali kabuk soyma uygulanan mısırlarda literatürde belirtilen çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir. ZEA molekül yapısındaki lakton halkasının alkali kabuk soyma işlemi sonucu parçalandığı düşünülmektedir.

Alkali uygulaması ile kabuğu soyulmamış mısır örneği (kontrol), kabuğu soyulmuş tane ve mısır kepeğinde toplam besinsel lif, protein ve kül içerikleri belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8'e göre alkali kabuk soyma işlemi uygulanmamış olan mısırdaki %12.5, kabuğu soyulmuş tanelerde %10.4 ve mısır kepeğinde %79.0 oranında toplam besinsel lif bulunmuştur. Soyulmuş tanelerdeki besinsel lif miktarının kontrole göre %2.1 oranında azaldığı görülmektedir. Alkali uygulaması ile kabuğu soyulan mısır örneğindeki kepek verimi hesaba katılarak yapılan hesaplama ile tanedeki toplam besinsel lifin %30.9'unun kepekle ayrıldığı ve %69.1'inin soyulmuş tanede kaldığı sonucuna varılmıştır. Kabuk soyma işlemi ile kabuk soyma işlemi uygulanmamış

mısır örneğindeki proteinin yaklaşık %98'inin soyulmuş tanede kaldığı ve %2 gibi çok küçük bir kısmın kepekle birlikte uzaklaştırıldığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçların literatürde belirtilen bilgilerle uyumlu olduğu bulunmuştur (Kent, 1975). Kontrol, soyulmuş tane ve kepekteki kül miktarı sırasıyla %1.49, 1.72 ve 12.14 olarak bulunmuştur. Soyulmuş tanede kül içeriğinin kontrole göre artmasının mısır örneğinin kabuk soyma sırasında kullanılan baz çözeltisini absorblanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu sonuçlar daha önceki çalışmalarla da paralellik göstermektedir (Mistry and Eckhoff, 1992).

Çizelge 4.8. Alkali kabuk soyma işlemi uygulanan mısır, soyulmuş tane ve mısır kepeğinde toplam besinsel lif, kül ve protein içerikleri

	Toplam Besinsel Lif (%)	Kül (%)	Protein (%)
Kontrol	12.5 ± 0.5	1.49 ± 0.002	9.84 ± 0.636
Soyulmuş Tane	10.4 ± 0.4	1.72 ± 0.019	9.35 ± 0.453
Kepek	79.0 ± 1.4	12.14 ± 0.030	3.53 ± 0.182

Çizelgedeki değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

4.4. Yıkama İşlemlerinin Mikotoksin Konsantrasyonları Üzerine Etkisi

4.4.1. Buğdayda yıkama işleminin DON ve ZEA üzerine etkisi

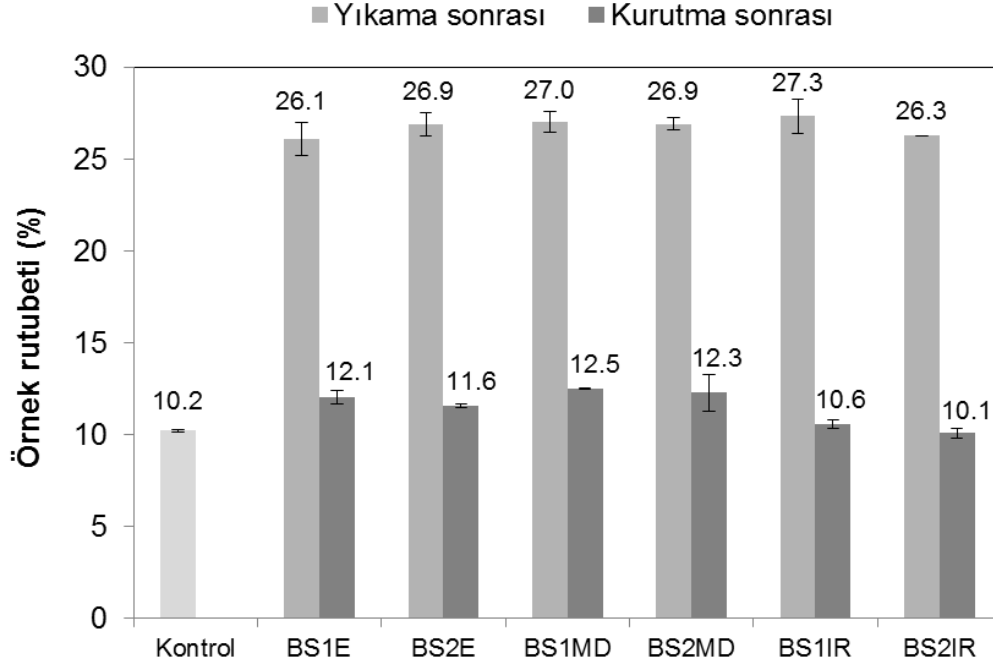
Yıkama işleminin DON ve ZEA üzerindeki etkisini incelemek için buğday örneği farklı süreler ve farklı çözeltilerle yıkanarak değişik yöntemlerle kurutulmuştur. Yıkama süresi olarak 1 ve 2 dakika seçilmiş; örnekler su, klorlu su ve 1 M sodyum karbonat çözeltileriyle yıkanmıştır. Su ile 1 ve 2 dakika boyunca yıkanan örnekler etüvde, kızılötesi kurutucuda ve mikrodalga fırında kurutulmuştur. Hazırlanan örneklerle ait kısaltmalar ve açıklamaları Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Farklı sürelerde su, klorlu su ve sodyum karbonat çözeltisi ile yıkanan ve etüvde, kızılötesi kurutucu ve mikrodalga fırında kurutulan buğday örneklerine ait kısaltmalar ve açıklamaları

Örnek Kodu	Açıklama
BS1E	Su ile 1 dakika süreyle yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan kurutulan buğday örneği
BS2E	Su ile 2 dakika süreyle yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan kurutulan buğday örneği
BCI1E	2 ppm klorlu su ile 1 dakika süreyle yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan buğday örneği
BCI2E	2 ppm klorlu su ile 2 dakika süreyle yıkanan ve etüvde 30°C'de 14-16 saat kurutulan kurutulan buğday örneği
BS1IR	Su ile 1 dakika süreyle yıkanan ve kızılötesi kurutucuda 525 W'ta 30 dakika kurutulan buğday örneği
BS2IR	Su ile 2 dakika süreyle yıkanan ve kızılötesi kurutucuda 525 W'ta 30 dakika kurutulan buğday örneği
BS1MD	Su ile 1 dakika süreyle yıkanan ve mikrodalga fırında %100 güçte 1 dakika kurutulan buğday örneği
BS2MD	Su ile 2 dakika süreyle yıkanan ve mikrodalga fırında %100 güçte 1 dakika kurutulan buğday örneği
BSK1E	1 M sodyum karbonat çözeltisi ile 1 dakika süreyle çalkalama yöntemiyle yıkanan, ardından 1 dakika basınçlı su yıkanan ve etüvde kurutulan buğday örneği
BSK2E	1 M sodyum karbonat ile 2 dakika süreyle ile çalkalama yöntemiyle yıkanan, ardından 1 dakika basınçlı su yıkanan ve etüvde kurutulan buğday örneği

DON ve ZEA içeren buğday örneği su ile 1 ve 2 dakika boyunca yıkanmış ve etüvde, mikrodalga fırında ve kızılötesi kurutucuda kurutulmuştur. Yıkama öncesi ve sonrası ve ayrıca kurutma sonrasında örneklerin rutubet içerikleri belirlenmiş, elde edilen sonuçlar Şekil 4.8'de verilmiştir. Şekil 4.8'de görüldüğü gibi tüm örneklerde 1 ve 2 dakikalık yıkama işlemleri sonucu tane rutubeti 26.7 ± 0.6 aralığında değişmiştir ve sonuçlar birbirine yakındır. Ancak kurutma işlemleri sonucu tane rutubeti 11.3 ± 1.2 aralığında değişmiş olup tane rutubeti kurutma işlemlerinden farklı oranlarda etkilenmiştir. Örneklerin tümünde son rutubetin %14'ün altında olması örneklerin sağlıklı depolama için uygun rutubet içeriğine

sahip olduklarını göstermektedir. Uygulanan kurutma işlemlerinden rutubet miktarı üzerinde en etkili olanın kızılötesi kurutma olduğu görülmektedir.



Şekil 4.8. Farklı sürelerde yıkama işlemi ile kurutma işlemlerinin (etüv, mikrodalga ve kızılötesi) buğdayın tane rutubeti üzerine etkisi
(Hata çubukları $\pm$ standart sapma değerlerini vermektedir. Örnek isimlerine ait kısaltmalar Çizelge 4.9'da verilmiştir.)

Çizelge 4.10'da yıkama işlemi sonucunda örneklerde bulunan DON ve ZEA konsantrasyonları ile başlangıç toksin konsantrasyonuna göre hesaplanan mikotoksin konsantrasyonlarındaki azalma değerleri (%) verilmiştir. Çizelge 4.10'a göre basınçlı yıkama ve kurutma işlemlerinin mikotoksin konsantrasyonu üzerine etkisinin gözlenebilmesi için farklı uygulamalarla hazırlanan örneklerdeki DON konsantrasyonları arasındaki farklar ve bunlarla kontrol örneğindeki DON konsantrasyonu arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Ayrıca farklı uygulamalarla hazırlanan örneklerin ZEA konsantrasyonları arasındaki farklar ve bu örnekler ile kontrol örneğinin ZEA konsantrasyonu arasında da önemli farklılıklar saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre DON içerikleri arasında önemli fark olsa da BS2IR, BS2MD, BSK1E ve BSK2E örneklerinde %80'in üzerinde azalma sağlanmıştır. Bu örnekler ZEA içeriği

açısından karşılaştırıldığında benzer şekilde ZEA içerikleri arasında da önemli farklılıklar bulunmuş ancak bu örneklerde %50'nin üzerinde azalma sağlanmıştır. En düşük DON konsantrasyonları BS2MD ve BSK2E örneklerinde ve en düşük ZEA konsantrasyonu ise BSK1E ve BSK2E örneklerinde bulunmuştur.

Çizelge 4.10. Su, klorlu su ve 1 M sodyum karbonat çözeltisi ile farklı sürelerde yıkanan ve kurutulan (etüv, mikrodalga ve kızılötesi) örneklerdeki DON ve ZEA konsantrasyonları ve toksin miktarındaki azalma değerleri (%)

Örnek Adı *	Yıkanan örneklerdeki mikotoksin konsantrasyonları		Yıkanan örneklerde mikotoksin konsantrasyonlarında görülen azalmalar (%)	
	DON (ng/g)	ZEA (ng/g)	DON	ZEA
Kontrol	11624 a	848 a	-	-
BS1E	8105 b	644 b	30.0	24.1
BS2E	7688 c	625 c	33.9	26.2
BCI1E	7302 cd	582 d	37.2	31.9
BCI2E	6518 e	510 f	43.9	42.3
BS1IR	7378 cd	522 e	36.5	38.2
BS2IR	2103 f	425 g	81.9	51.8
BS1MD	7168 d	493 f	38.3	41.8
BS2MD	1275 gh	328 h	89.0	61.3
BSK1E	1434 g	92 i	87.7	89.1
BSK2E	1020 h	87 i	91.2	89.9

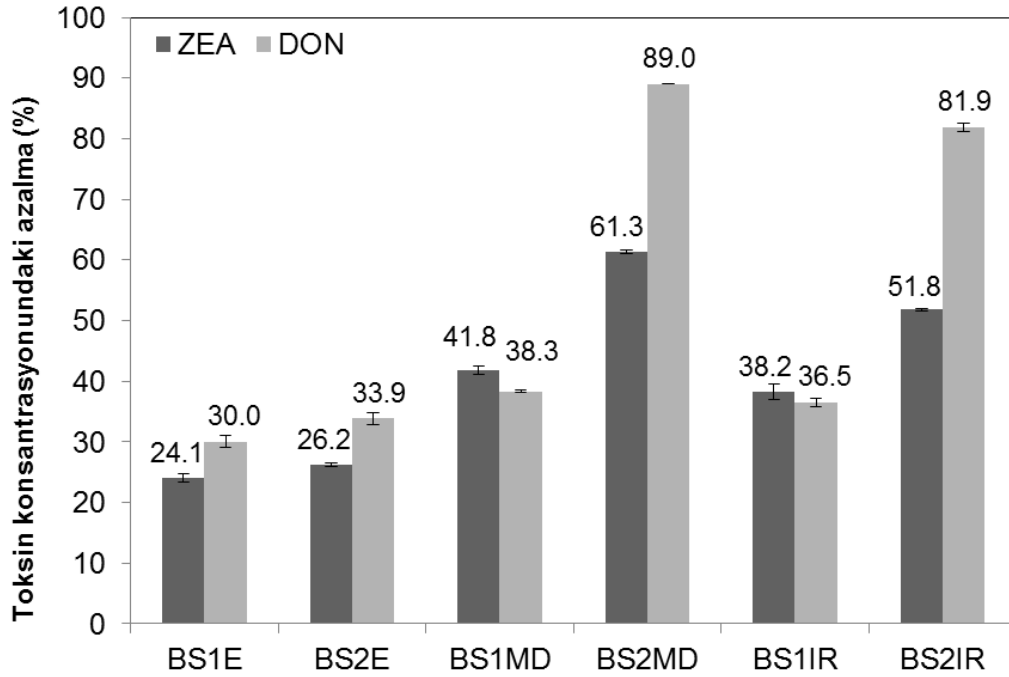
* Örnek isimlerine ait kısaltmalar Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05).

Avrupa Komisyonu tarafından bildirilen 1126/2007 no'lu yönetmeliğe göre buğdayda izin verilen yasal sınırlar DON ve ZEA için sırasıyla 1250 ve 100 ppb olarak verilmektedir. DON konsantrasyonu yasal sınırın yaklaşık 10 katı olarak bulunan örnekte 2 dakika 1 M sodyum karbonat çözeltisi ile yıkama işleminin ve ZEA konsantrasyonu yasal sınırının yaklaşık 8 katı olarak bulunan örnekte 1 ve 2 dakika 1 M sodyum karbonat çözeltisi ile yıkama işleminin mikotoksin

konsantrasyonlarını yasal sınırların altına düşürdüğü görülmektedir. Bu çalışmada kullanılan buğday örneğinin mikotoksin içerikleri oldukça yüksektir. Mikotoksin seviyesi daha düşük olan örneklerde uygulanan diğer yıkama işlemlerinin de toksin konsantrasyonlarının azaltılmasında daha etkili olacağı düşünülmektedir.

Şekil 4.9'da 1 ve 2 dakika süreyle su ile yıkanan buğday örneklerinin farklı yöntemlerle kurutulmasının DON ve ZEA konsantrasyonu üzerindeki etkileri verilmiştir.



Şekil 4.9. Farklı kurutma parametrelerinin 1 ve 2 dakika süresince yıkanan buğdaylarda ZEA ve DON konsantrasyonu üzerine etkisi
(Hata çubukları $\pm$ standart sapma değerlerini vermektedir.)

Yıkama işlemi sonrası etüvde kurutma sırasında düşük sıcaklık (30°C) kullanılmıştır. Bu uygulamanın amacı sıcaklık etkisi ile mikotoksin seviyesinde değişim yaratmadan sadece yıkama etkisi sonucu mikotoksin seviyesindeki azalmayı tespit etmektir.

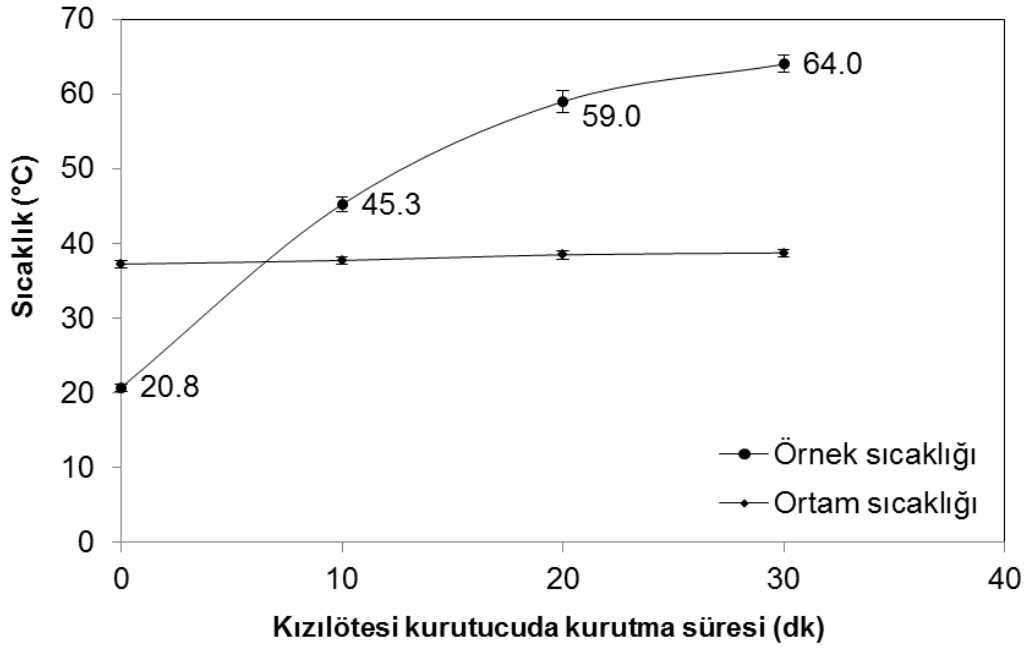
Şekil 4.9'a göre 1 dakikalık yıkama işlemi ZEA ve DON konsantrasyonlarında sırasıyla yaklaşık %24 ve %30'luk azalma sağlamıştır. 2 dakikalık yıkama işlemi ile toksin konsantrasyonunda sağlanan azalma ise ZEA için yaklaşık %26 ve DON

için %34'tür. 2 dakikalık yıkama işlemi, 1 dakikalık yıkama işlemine göre DON konsantrasyonunda yaklaşık %4'lük bir fark meydana getirmiştir. Bu farkın ZEA için %2 olduğu görülmektedir.

Şekil 4.9'da 1 ve 2 dakikalık yıkama sürelerinde DON ve ZEA konsantrasyonlarındaki azalmalara ait hata çubukları üst üste çakışmadıkları için yıkama süresinin 1 dakikadan 2 dakikaya çıkarılmasının toksin konsantrasyonunun azaltılmasında etkili olduğu söylenebilir. DON konsantrasyonunda meydana gelen azalmanın her iki yıkama süresinde de ZEA'da meydana gelen azalmadan daha yüksek olduğu görülmekle beraber yıkama işleminin her iki mikotoksin üzerinde de etkili olduğu bulunmuştur. Su ile yıkama işlemiyle DON'un taneden ZEA'ya göre daha fazla uzaklaştırılmasının DON'un, ZEA'ya göre daha polar özellikte olması ve sudaki çözünürlüğünün ZEA'dan daha fazla olmasından (EMAN, 2011) kaynaklandığı düşünülmektedir.

Şekil 4.9 ve Çizelge 4.10'a göre sadece yıkama, yıkama sonrası uygulanan kızılötesi (525 W) ve mikrodalga kurutma işlemlerinin ZEA ve DON konsantrasyonu üzerinde azaltıcı etkisinin önemli olduğu görülmektedir. 1 dakikalık yıkama işlemi sonrası etüvde, mikrodalga fırında ve kızılötesi kurutucuda kurutma işlemlerinin azaltıcı etkisi ZEA için sırasıyla %24.1, 41.8 ve 38.2 ve DON için sırasıyla %30.0, 38.3 ve 36.5 olarak bulunmuştur. 1 dakika süresince basınçlı su ile yıkama ve mikrodalga kurutma ile ZEA konsantrasyonunda sağlanan azalmanın DON konsantrasyonunda sağlanan azalmayla yaklaşık aynı olduğu ancak 2 dakikalık yıkama ve mikrodalga kurutma işleminin DON konsantrasyonu üzerinde daha etkili olduğu görülmektedir. Toksin konsantrasyonlarında meydana gelen azalmalar değerlendirildiğinde uygulanan kurutma işlemlerinden ZEA ve DON konsantrasyonu üzerinde en etkili olanın mikrodalga kurutma olduğu bulunmuştur. İnfrared kurutma işleminin etkisinin mikrodalga kurutmadan daha az olduğu belirlenmiştir. DON ve ZEA konsantrasyonlarının azaltılmasındaki etkileri bakımından 525 W'ta kızılötesi kurutmanın sadece yıkama işlemine göre önemli düzeyde fark yarattığı görülmektedir.

Şekil 4.10'da kızılötesi kurutucuda gerçekleştirilen kurutma işlemi sırasında ortam sıcaklığındaki ve örneklerin yüzey sıcaklıklarındaki değişiklikler verilmiştir.



Şekil 4.10. Kızılötesi kurutucuda kurutulan buğday örneklerinin yüzey sıcaklıkları ve kızılötesi kurutucunun ortam sıcaklığındaki değişiklikler

Şekil 4.10'a göre kızılötesi kurutucuda gerçekleştirilen kurutma işlemi sırasında ortam sıcaklığı ortalama $31.8 \pm 0.52^{\circ}\text{C}$ düzeyinde kalmıştır. Yıkanmış örneklerin başlangıç yüzey sıcaklıkları yaklaşık 20°C civarında ölçülmüş ve 30 dakika sonunda örneklerin yüzey sıcaklığı yaklaşık 65°C 'ye ulaştığı belirlenmiştir.

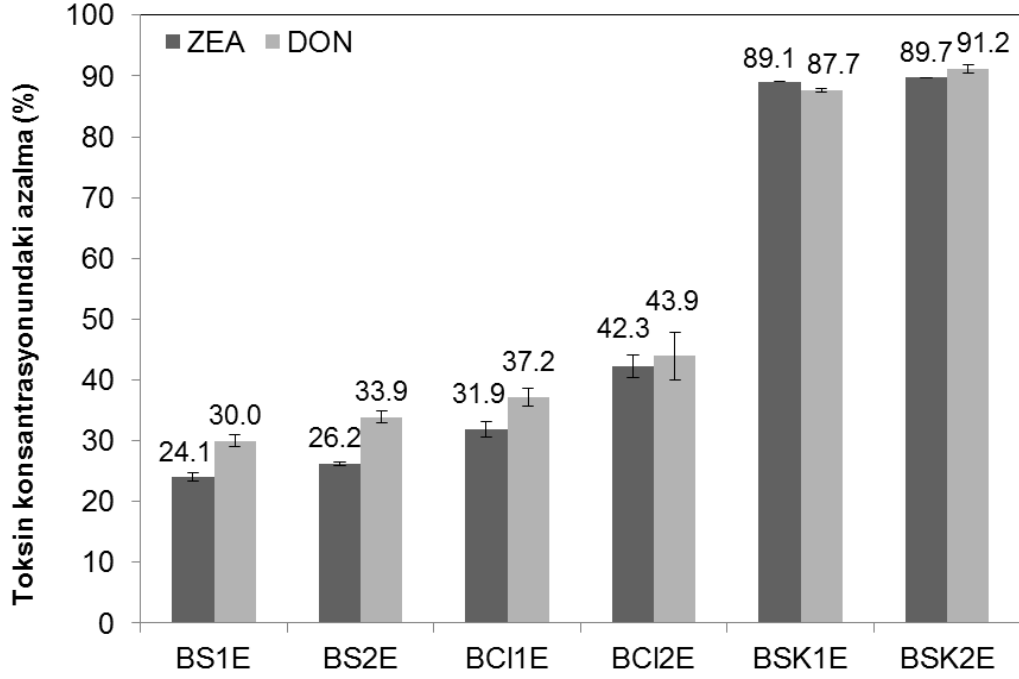
Literatürde kızılötesi ve mikrodalga kurutmanın mikotoksinler üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmalar sınırlı sayıdadır. Yılmaz ve Tuncel (2010) farklı kurutma yöntemlerinin mısırdaki fumonisin B₁ ve fumonisin B₂ üzerine etkisini araştırmışlar ancak kızılötesi kurutmanın toksin seviyeleri üzerinde önemli bir azalma sağlamadığını kaydetmişlerdir. Aflatoksin içeren mısır unlarının alkali ortamda mikrodalga fırında pişirilmesiyle %84'e varan azalma sağlandığı (Pérez-Flores et al., 2011), mikrodalga destekli plazma uygulanması ile aflatoksin, DON ve NIV'in tamamen uzaklaştırıldığı (Park et al., 2007) çalışmalar bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde yukarıda belirtilen çalışmalarla uyum içerisindedir. Bu sonuçlar yıkanan buğdaylara uygulanan kızılötesi (525 W'ta 30 dakika) ve mikrodalga (%100 güçte 1 dakika) kurutma işlemlerinin DON ve ZEA konsantrasyonu üzerinde önemli azalma sağladığının gösterilmesi açısından dikkat çekicidir.

Mikrodalga kurutma ve kızılötesi kurutmanın etki mekanizmaları birbirinden farklıdır. Mikrodalga kurutmada örneğe 500 Mhz ile 10 GHz frekans aralığında ışın yollanmakta ve su molekülleri elektrik alanında yön değiştirerek moleküller arası sürtünme artmakta ve ısı açığa çıkmaktadır. Mikrodalga ışınları, mikotoksinlerin molekül yapılarında iyon değişimlerine neden olarak etki göstermektedirler (Shapira, 2004). Kızılötesi kurutmada ise 120-400 THz frekansa sahip ışınlar (dalga boyu 0.78-3.00 μm) kullanılmaktadır. Kurutma amaçlı kullanılan kızılötesi ışınlarının dalga boyu genellikle 2.5 ile 200 μm arasındadır. Kızılötesi kurutmada örnekteki suyun O-H bağları enerji absorblar ve gönderilen ışınla aynı frekansta dönmeye başlar. Bu yolla sağlanan enerji ise örnekteki suyun buharlaşmasına neden olur (Caleb and Mwithiga, 2011). Mikrodalga ve kızılötesi kurutma işlemlerinin etki mekanizmalarının birbirlerinden farklı olması nedeniyle DON ve ZEA konsantrasyonlarında sağlanan azalmaların birbirine eşit olmaması beklenen bir durumdur. Ayrıca DON ve ZEA'nın molekül yapılarının değişik olması ve kurutma yöntemlerinden aynı şekilde etkilenmemeleri de azalmaların farklı olmasının nedenleri arasında sayılabilir.

Şekil 4.11'de su, klorlu su ve sodyum karbonat çözeltisi ile 1 ve 2 dakika boyunca yıkanan buğday örneklerindeki DON ve ZEA konsantrasyonlarında meydana gelen azalmalar verilmiştir.

Şekil 4.11'e göre klorlu su ve sodyum karbonat çözeltisi ile gerçekleştirilen yıkama işlemlerinin, ZEA ve DON konsantrasyonlarının azaltılmasında sadece su ile yapılan yıkama işlemine göre genellikle daha etkili olduğu ve sağlanan azalmaların kontrole göre tüm yıkama uygulamaları için önemli olduğu görülmektedir.

Klorlu su ile gerçekleştirilen 1 ve 2 dakikalık yıkama işlemlerinin DON konsantrasyonu üzerinde ZEA'ya göre daha etkili olduğu görülmekte ve yıkama süresinin 2 katına çıkarılmasıyla DON konsantrasyonunda %6.7'lik fark oluşmaktadır. Klorlu su ile yapılan yıkama süresinin 2 kat artırılması ise ZEA konsantrasyonundaki azalmada daha büyük bir fark (%10.4) meydana getirmektedir.



Şekil 4.11. Su ve farklı yıkama çözeltilerinin buğdayda DON ve ZEA konsantrasyonu üzerine etkisi

(Hata çubukları $\pm$ standart sapma değerlerini vermektedir.)

1 M sodyum karbonat çözeltisi ile yıkamanın DON ve ZEA üzerindeki azaltıcı etkisinin su ile yıkamaya göre daha etkin olduğu, 1 dakikalık yıkama işleminin ZEA ve DON konsantrasyonlarında sırasıyla %65.0 ve 57.7 oranında daha fazla; 2 dakikalık yıkama işleminin ise %63.5 ve 57.3 oranında daha fazla azalma sağladığı görülmektedir. Bu tez kapsamında kullanılan yıkama çözeltileri arasından DON ve ZEA düzeylerinin azaltılmasında kullanılabilecek en etkili yıkama yönteminin 1 M sodyum karbonat çözeltisi ile yıkama olduğu ve sodyum karbonat çözeltisi ve basınçlı su ile yıkamanın beraber yapıldığı örneklerin tümünde DON ve ZEA konsantrasyonundaki azalmanın %90'a yakın ve üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Sodyum karbonat çözeltisi ile temas süresinin artırılmasının ZEA konsantrasyonunun azaltılmasında önemli etkisi olmadığı buna karşın DON konsantrasyonunun azaltılmasında önemli etkisi olduğu görülmüştür. Bu tez kapsamında DON ve ZEA konsantrasyonunda 1 dakika gibi kısa süreli yıkama ile sağlanan azalmanın daha önceki çalışmalarda (Trenholm et al., 1992) çok daha uzun sürelerde yıkama ile sağlanan azalmalara yakın değerde olduğu

bulunmuştur. Ancak uzun süre suda bekletme ve yıkama işlemleri ile taneler yüksek oranda su absorbe edeceği için bu tez kapsamında kullanılan kısa süreli yıkama işlemlerinin bazı avantajlar sağlayacağı açıktır.

Basıncı su ile yıkama işleminin etkisini belirlemek için 1 ve 2 dakika basınçlı su ile yıkanan ve aynı sürelerde suda çalkalanarak yıkanan buğday örneklerinde DON ve ZEA konsantrasyonlarındaki azalmalar Çizelge 4.11’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. Basıncı su ile yıkama ile suda çalkalanarak yıkama işlemlerinin buğdayda DON ve ZEA konsantrasyonları üzerine etkisi

Toksin konsantrasyonundaki azalma (%)				
DON			ZEA	
Yıkama süresi (dk)	Basıncı yıkama	Çalkalama ile yıkama	Basıncı yıkama	Çalkalama ile yıkama
1	30.0 ± 0.9	11.6 ± 0.48	24.1 ± 0.69	17.7 ± 0.89
2	33.9 ± 1.0	13.1 ± 1.20	26.2 ± 0.26	21.8 ± 0.12

Çizelgedeki değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

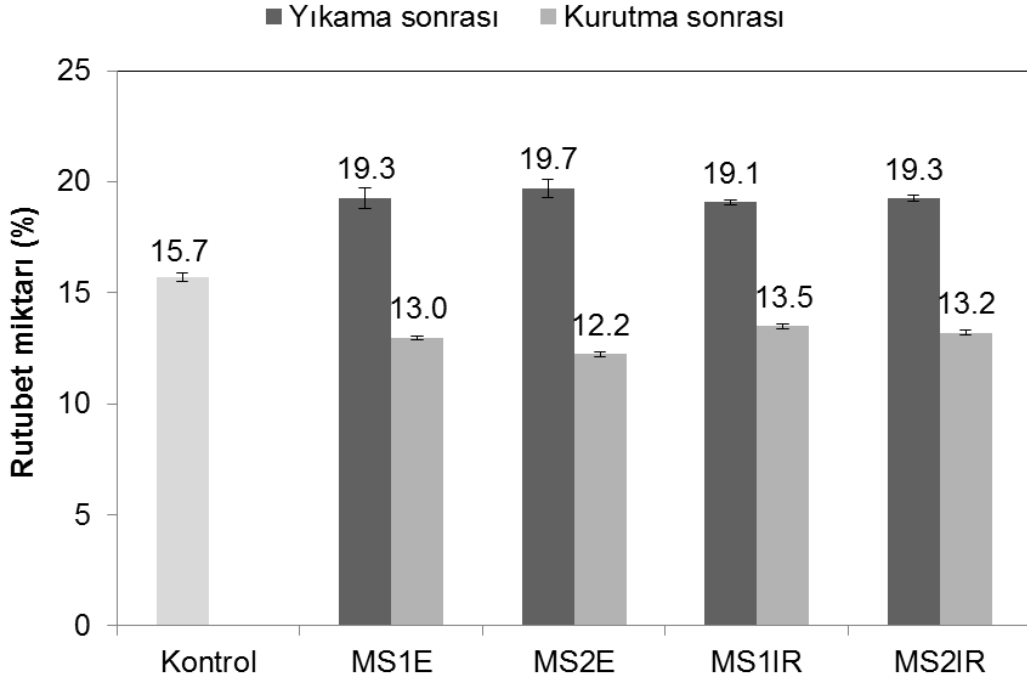
Çizelge 4.11’deki verilere göre 1 ve 2 dakika boyunca gerçekleştirilen suda çalkalama ile yıkama işlemleri DON konsantrasyonunda sırasıyla %11.6 ve 13.1 azalma sağlamıştır. Aynı işlemin ZEA üzerindeki azaltıcı etkisi %17.7 ve 21.8 olarak bulunmuştur. Aynı sürelerde gerçekleştirilen basınçlı yıkamanın çalkalama ile yıkamaya göre buğdaydan daha fazla mikotoksinin uzaklaşmasını sağladığı görülmektedir. 1 dakikalık basınçlı yıkama işleminin çalkalama ile yıkamaya göre DON ve ZEA için sırasıyla %18.4 ve 6.1 oranında daha fazla azalma sağladığı bulunurken 2 dakikalık yıkama süresi için bu oranlar %20.8 ve 4.4 olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, yıkama işleminin basınçlı olarak gerçekleştirilmesinin buğdaydan DON ve ZEA’nın uzaklaştırılmasında önemli etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

4.4.2. Mısırdaki yıkama işleminin ZEA üzerine etkisi

ZEA içeren mısır örneği su ile 1 ve 2 dakika boyunca yıkanmış, etüvde ve kızılötesi kurutucuda kurutulmuştur. Hazırlanan örnekler için kısaltmalar ve açıklamaları Çizelge 4.12’te gösterilmiştir. Su ile yıkanan mısır örneklerinin mikrodalgada kurutulması sırasında örnekler patladığı için yıkanan mısırlara bu yöntemle kurutma uygulanamamıştır. Yıkama öncesi ve sonrası ile kurutma sonrasında örnekler için rutubet içerikleri belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Farklı sürelerde su ve sodyum karbonat çözeltisi ile yıkanarak etüvde ve kızılötesi fırında kurutulan mısır örneklerine ait kısaltmalar ve açıklamaları

Örnek Kodu	Açıklama
MS1E	Su ile 1 dakika süreyle yıkanan ve etüvde 30°C’de 14-16 saat kurutulan kurutulan mısır örneği düzelt
MS2E	Su ile 2 dakika süreyle yıkanan ve etüvde 30°C’de 14-16 saat kurutulan kurutulan mısır örneği düzelt
MS1IR	Su ile 1 dakika süreyle yıkanan ve kızılötesi kurutucuda 525 W’ta 30 dakika kurutulan mısır örneği
MS2IR	Su ile 2 dakika süreyle yıkanan ve kızılötesi kurutucuda 525 W’ta 30 dakika kurutulan mısır örneği
MSK1E	1 M sodyum karbonat çözeltisi ile 1 dakika süreyle çalkalama yöntemiyle yıkanan, ardından 1 dakika basınçlı su yıkanan ve etüvde kurutulan mısır örneği
MSK2E	1 M sodyum karbonat çözeltisi ile 2 dakika süreyle çalkalama yöntemiyle yıkanan, ardından 1 dakika basınçlı su yıkanan ve etüvde kurutulan buğday örneği



Şekil 4.12. 1 ve 2 dakika süreyle su ile yıkanan mısır örneklerinde yıkama sonrası tane rutubeti ve etüvde kurutma ve kızılötesi kurutmanın tane rutubeti üzerine etkisi

(Hata çubukları $\pm$ standart sapma değerlerini vermektedir.)

Şekil 4.12'ye göre 1 ve 2 dakikalık yıkama işlemlerinin tane rutubetindeki artışa etkilerinin birbirlerine yakın olduğu ve kontrole göre tane rutubetini yaklaşık %4 oranında arttırdığı görülmektedir. Etüvde ve kızılötesi kurutucuda (525 W, 30 dakika) kurutma işlemlerinin örneğin son rutubetine olan etkilerinin yaklaşık aynı olduğu ve etüvde kurutmanın kızılötesi kurutmaya göre daha etkili olduğu sonucu çıkarılabilir. kızılötesi kurutmanın buğdayda tane rutubetini daha çok düşürmesi kurutmanın daha çok tane yüzeyinde gerçekleşmesi ve mısır kabuğunun su geçirgenliğinin daha az olmasının tanedeki rutubetin uzaklaşmasına karşı direnç oluşturması ile açıklanabilir (Hoseney, 1994).

Mısır örneğinde gerçekleştirilen yıkama işlemi sonucunda örneklerdeki ZEA konsantrasyonları ile başlangıç toksin konsantrasyonuna göre hesaplanan ZEA konsantrasyonlarındaki azalma değerleri (%) Çizelge 4.13'te verilmiştir.

Çizelge 4.13. Mısır örneğinin 1 ve 2 dakika boyunca su ve 1 M sodyum karbonat çözeltisi ile yıkanıp etüvde ve kızılötesi kurutucuda kurutulan örneklerdeki ZEA konsantrasyonları ve ZEA konsantrasyonunda görülen azalmalar (%)

Örnek adı	Toksin konsantrasyonu (ng/g)	Toksin konsantrasyonundaki azalma (%)
Kontrol	752 ± 7.5	0
MS1E	<LOQ	Hesaplanamadı
MS2E	127 ± 0.6	83.1 ± 0.09
MS1IR	269 ± 8.7	64.1 ± 1.16
MS2IR	186 ± 8.6	75.2 ± 1.16
MSK1E	0.0 ± 0.0	100
MSK2E	0.0 ± 0.0	100

Çizelgedeki değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Çizelge 4.13'teki sonuçlara göre MS1E örneğinde ZEA konsantrasyonu tayin sınırının altında bulunmuş, MS2E örneğinde ise 2 dakikalık yıkama ile %83.1'lik azalma sağlanmıştır. 1 ve 2 dakika boyunca yıkanan ve kızılötesi kurutucuda 525 W'ta 30 dakika kurutulan MS1IR ve MS2IR örneklerinde sırasıyla %64.1 ve %75.2'lik azalma sağlanmıştır. 1 M sodyum karbonat çözeltisi ile 1 ve 2 dakika boyunca yıkanan MSK1E ve MSK2E örneklerinde ise ZEA varlığı saptanamamıştır.

Mısır örneklerinin başlangıçtaki ZEA konsantrasyonun belirlenmesinde mısır örneğinde farklı bölgelerden örnek alınarak 5 tekrarlı olarak analiz yapılmış ve azalmalar belirlenen ortalama değere göre hesaplanmıştır. Yıkama işlemi sonrası etüvde kurutma sırasında düşük sıcaklık (30°C) kullanılmıştır. Bu uygulamanın amacı sıcaklık etkisi ile mikotoksin seviyesinde değişim yaratmadan sadece yıkama etkisi sonucu mikotoksin seviyesindeki azalmayı tespit etmektir.

Elde edilen sonuçlar 1 ve 2 dakikalık yıkama işlemlerinin mısırdaki ZEA konsantrasyonu üzerindeki azaltıcı etkisini açıklaması bakımından yetersiz kalmıştır çünkü 1 dakika yıkama ile elde edilen azalmanın 2 dakika yıkama sonuçlarına göre daha fazla olduğu görülmektedir. Daha önce belirtildiği gibi,

sadece yıkama ve yıkama sonrasında kızılötesi kurutma işlemlerinin buğdayda ZEA üzerindeki etkisi 1 ve 2 dakikalık yıkama için sırasıyla %24.1, 38.2 ve %26.2 ve 51.8 olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar buğdayda yıkama sonrası kızılötesi kurutmanın sadece yıkamaya göre daha etkin olduğunu ve 2 dakikalık yıkama ile ZEA konsantrasyonundaki azalmanın daha fazla olduğunu göstermektedir. Ancak aynı azaltıcı etki mısır örnekleri için gözlenememiştir. Mısır tanelerinin buğdaya göre daha iri yapıda olması örnek homojenliğinin yeteri kadar iyi olmaması ve mısır örneklerinin farklı bölgelerindeki ZEA konsantrasyonlarının birbirinden farklı olmasına neden olabilmektedir. Sonuçların bu şekilde çıkması başlangıç örneklerindeki ZEA konsantrasyonlarının birbirinden farklı olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

MSK1E ve MSK2E örneklerinde ZEA varlığının bulunamamasının sodyum karbonatın ZEA üzerindeki etkisinden kaynaklandığı sonucu çıkarılabilir. Bu etki bazik ortamda mikotoksinin parçalanması ve yıkama çözeltisi ile yıkanarak uzaklaşması ile açıklanabilir. Daha önce bazik koşulların mikotoksinin üzerine etkisi bölüm 4.3.2'de tartışılmıştır.

Buğday örneğinde sodyum karbonat çözeltisi ile yapılan 1 ve 2 dakikalık yıkama işlemlerinin ZEA konsantrasyonunda sırasıyla %89.1 ve %89.9 azalma sağladığı belirlenmiştir. Buğday örneğindeki 848 ppb'lik ZEA konsantrasyonu üzerinde %90'a varan azalma sağlayan yıkama işleminin daha düşük konsantrasyon düzeyinde daha etkili olması beklenen bir durumdur.

5. YORUM ve ÖNERİLER

Gıdaların mikotoksinlerle kontaminasyonu genel bir gıda güvenliği sorunudur. Küflerin doğada yaygın olarak bulunmaları nedeniyle küf üremesinin engellenmesi zorlaşmakta ve dünyada üretilen tahılların büyük bir kısmında bir ya da birden çok mikotoksin bulunmaktadır. Bu nedenle gıdalarda mikotoksin varlığının saptanması ve mikotoksin konsantrasyonlarının azaltılması üzerine yapılan çalışmalar önem kazanmaktadır. Bu tez kapsamında *Fusarium* toksinlerinden DON ve ZEA ile kontamine olmuş buğday örneğinde farklı sürelerde kabuk soyma, mısırdaki alkali uygulayarak kabuk soyma, mısır ve buğdayda su ve çeşitli kimyasal madde çözeltileriyle yıkama işlemlerinin mikotoksinler üzerinde azaltıcı etkileri araştırılmıştır. Mısır ve buğdayda yıkama sonrası uygulanabilecek alternatif kurutma yöntemlerinin mikotoksinler üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Ayrıca mısır ve buğdayda DON ve ZEA analizleri için kullanılan analitik metotların validasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Buğdayda kabuk soyma işlemi kabuk soyucu ile gerçekleştirilmiş ve buğday örneğine 15, 30, 45 ve 60 saniye boyunca kabuk soyma işlemi uygulanmıştır. Kabuk soyma süresinin tane ağırlığında meydana getirdiği azalma belirlenmiş, 1 dakika sonunda tane ağırlığının yaklaşık %34'ünün uzaklaştığı bulunmuştur. Farklı kabuk soyma sürelerinde DON ve ZEA'nın belli oranlarda taneden uzaklaştırılabildiği belirlenmiştir. İlk 15 saniye sonunda buğdaydaki DON ve ZEA konsantrasyonunda sırasıyla yaklaşık %38 ve 44 azalma sağlanmıştır. Kabuk soyma süresinin arttırılmasıyla taneden uzaklaşan DON miktarı yaklaşık %90; ZEA miktarı ise yaklaşık %96 seviyesine çıkmıştır. Kabuk soyma işleminin buğdayın toplam besinsel lif, protein ve kül içeriğine etkisi incelenmiş; kabuğu soyulan tanelerde toplam besinsel lif, protein ve kül içeriğinin azaldığı bulunmuştur. Farklı kabuk soyma sürelerinin bu iki mikotoksinin taneden uzaklaştırılması üzerine etkisinin farklı olması, tanedeki konsantrasyonlarının farklı olmasına ve bu mikotoksinlerin tanenin farklı dış katmanlarında lokalize olmalarına bağlı olabileceği sonucuna varılmıştır. Daha uzun süreli uygulanan kabuk soyma işleminin buğdayda DON ve ZEA'nın uzaklaştırılmasında daha etkili olacağı düşünülmektedir. Ancak uzun süreli kabuk soyma işlemi ile tane ağırlığındaki azalma çok fazla olacağından ekonomik açıdan kayıp oluşacaktır. Kabuk soyma

süresinin arttırılması mikotoksinlerle yüksek seviyede kontamine olan tahıllardan bu yöntemle toksinlerin uzaklaştırılmasında daha avantajlı olacaktır. Buna ek olarak, kullanılan kabuk soyma yönteminin kolay uygulanabilir ve düşük maliyetli olması, toksinlerin taneden fiziksel olarak uzaklaştırılmasına imkan vermesi nedeniyle küçük taneli tahıllarda mikotoksinlerin azaltılmasında kullanımının uygun olduğu düşünülmektedir. Kabuk soyma işleminin DON ve ZEA dışındaki mikotoksinler üzerindeki etkisinin belirlenilmesi ve farklı tahıllara uygulanabilirliğinin araştırılması için daha çok çalışma yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Mısırdaki sodyum hidroksit çözeltisi kullanımı ile gerçekleştirilen kabuk soyma işlemi sonunda kabuğu soyulan örneklerde ve mısır kepeğinde ZEA'nın tamamen uzaklaştırıldığı görülmüştür. Kabuk soyma işlemi ile mısırdan yaklaşık %5 oranında kepek uzaklaştırılabilmektedir. Kabuğu soyulan mısır örneklerinde uzaklaştırılan fraksiyonla mısırdaki toplam besinsel lifin %30'unun ayrıldığı, protein içeriğinin yaklaşık %98'inin tanede kaldığı belirlenmiştir. Bazik çözeltilerle kabuk soyma işleminin daha ekonomik olarak yapılabilmesi için daha düşük konsantrasyondaki baz çözeltilerinin denenmesi uygun olacaktır.

Basıncılı su yıkama düzeneği ile gerçekleştirilen 2 dakikalık yıkamanın 1 dakikalık yıkamaya göre buğdayda DON ve ZEA konsantrasyonları üzerindeki azaltıcı etkisinin daha fazla olduğu belirlenmiştir. Buğdayda yıkama işlemi sonrası uygulanan %100 güçte 1 dakika mikrodalga ve 525 W'ta 30 dakika kızılötesi kurutma işlemlerinden DON ve ZEA konsantrasyonları üzerindeki azaltıcı etkilerinin önemli olduğu belirlenmiştir. Mikrodalga kurutmada ile kızılötesi kurutmanın mekanizmalarının birbirinden farklı olmasının nedeniyle mikrodalga kurutmanın mikotoksinler üzerinde daha fazla azaltıcı etkide olduğu sonucuna varılmıştır. DON'un ZEA'ya göre daha polar özellikte olmasının su ile yıkama ile DON konsantrasyonunda sağlanan azalmanın daha fazla olmasını sağladığı düşünülmektedir. Mısırdaki su ile gerçekleştirilen yıkama işleminin ZEA konsantrasyonu üzerinde etkili olduğu görülmüştür.

Buğdayda klorlu su ve sodyum karbonat çözeltileri ile yıkama işleminin DON ve ZEA üzerindeki etkisi araştırılmış ve ikisinin de mikotoksinlerin azaltılmasında suya göre daha etkili olduğu bulunmuştur. Sodyum karbonat çözeltisi ile 1 ve 2 dakikalık

yıkama sonucu toksin konsantrasyonunda %90'a yakın azalma sağlanmıştır. Klorlu su ile yıkama sonucunda ise yıkama süresine bağlı olarak DON ve ZEA konsantrasyonlarında %40'ın üzerinde azalma sağlanmıştır. Mısırdaki sodyum karbonat çözeltisi ile gerçekleştirilen 1 ve 2 dakikalık yıkama işlemleri ile örneklerdeki ZEA'nın tamamen uzaklaştırıldığı belirlenmiştir. Basınçlı yıkama işleminin çalkalayarak yıkama işlemine göre mikotoksinlerin azaltılmasında daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- AACC International, 2000. American Association of Cereal Chemists, Approved methods of the AACC, 10th Edition, The Association, St. Paul, MN., USA.
- Abbas, H. K., Mirocha, C. J., Pawlovsky, R. J. and Pusch, D. J. (1985). "Effect of Cleaning, Milling, and Baking on Deoxynivalenol in Wheat." *Applied and Environmental Microbiology* 50(2): 482-486.
- Abbas, H. K., Mirocha, C. J., Rosiles, R. and Carvajal, M. (1988). "Decomposition of Zearalenone and Deoxynivalenol in the Process of Tortillas from Corn." *Cereal Chem* 65(1).
- Abramson, D., House, J. D. and Nyachoti, M. D. (2005). "Reduction of Deoxynivalenol in Barley by Treatment with Aqueous Sodium Carbonate and Heat." *Mycopathologia* 160: 297-301.
- Alldrick, A. J. (2004). *Mycotoxins in Food: Detection and Control*. Zearalenone. O. M. Magan N. Boca Raton FL 33431, USA, Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC: 351-364.
- Anonymous (2004). "T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı II. Tarım Şurası Gıda Güvenliği Kongresi Çalışma Belgesi."
- Anonymous (2011a). "Deoxynivalenol." from <http://www.chemspider.com/RecordView.aspx?rid=9bfe7ad9-14b3-40f1-870e-8a2a1009cc2e>.
- Anonymous (2011b). "Log Octanol-Water Partitioning Coefficient." from http://www.tiem.utk.edu/~sada/help/TH_479.htm.
- Anonymous (2011c). "Zearalenone." from <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4444897.html>.
- Bata, A. and Lasztity, R. (1999). "Detoxification of Mycotoxin-contaminated Food and Feed by Microorganisms." *Trends in Food Science & Technology* 10: 223-228.
- Bennet, G. A., Peplinski, A. J., Brekke, O. L. and Jackson, L. K. (1976). "Zearalenone Distribution in Dry-milled Fractions of Contaminated Corn." *Cereal Chem* 53(3): 299-307.
- Bennet, G. A., Vandegraft, E. E., Shotwell, O. L., Watson, S. A. and Bocan, B. J. (1978). "Zearalenone Distribution in Wet-milled Fractions from Contaminated Corn." *Cereal Chem* 55(4): 455-461.

- Bennet, J. W. and Rai, M., Eds. (2010). *Mycotoxins in Food, Feed and Bioweapons*. New York, Springer Heidelberg Dordrecht London.
- Bottalico, A. and Perrone, G. (2002). "Toxigenic *Fusarium* Species and Mycotoxins Associated with Head Blight in Small-grain Cereals in Europe." *European Journal of Plant Pathology* 108: 611-624.
- Brera, C., Catano, C., De Santis, B., Debegnach, F., De Giacomo, M., Pannunzi, E. and Miraglia, M. (2006). "Effect of Industrial Processing on the Distribution of Aflatoxins and Zearalenone in Corn-milling Fractions." *J. Agric. Food Chem* 54: 5014-5019.
- Brera, C., De Santis, B., Debegnach, F. and Miraglia, M., Eds. (2008). *Comprehensive Analytical Chemistry* Linacre House, Jordan Hill, Oxford OX2 8DP, Elsevier.
- Bullerman, L. B. and Bianchini, A. (2007). "Stability of Mycotoxins During Food Processing." *International Journal of Food Microbiology* 119: 140-146.
- Caleb, N. and Mwithiga, G. (2011). *Infrared Heating for Food and Agricultural Processing. Infrared Drying*. Z. Pan and G. G. Atungulu. Boca Raton, FL 33487-2742, CRC Press.
- Canady, R. A., Coker, R. D., Egan, S. K., Krska, R., Kuiper-Goodman, T., Olsen, M., Pestka, J., Resnik, S. and Schlatter, J. (2001). "Deoxynivalenol." *WHO Food Additives Series* 47.
- Dakovic, A., Canovic, M., Dondur, V., Rottinghaus, G., Mkdakovic, V. and Zaric, S. (2005). "Adsorption of Mycotoxins by Organozeolites." *Colloids and surfaces B: Biointerfaces* 46: 20-25.
- EC (2006). "Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006, Laying down the Methods of Sampling and Analysis for the Official Control of the Levels of Mycotoxins in Foodstuffs " *Off J Eur Union L* 70: 12-34.
- EC (2007). "Commission Regulation (EC) No 1126/2007, of 28 September 2007 amending Regulation (EC) No. 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards *Fusarium* toxins in maize and maize products." *Off J Eur Union L* 255: 14-17.
- EMAN (2011). "European Mycotoxin Awareness Network, Evaluation and Risk-Training Course 1, Decontamination of mycotoxin contaminated raw materials." from <http://services.leatherheadfood.com/mycotoxins/item.asp?sectionid=5&mytype=expert&number=1&fsid=44>.

- Eriksen, G. S., Pennington, J., Schlatter, J. and (with contrubutions from Alexander, J. T., A.) (2000). "Zearalenone." WHO Food Additives Series, 53rd Meeting of the joint FAO/WHO 44.
- Ertaş, Ö. S. and Kayalı, A. (2005). "Analitik Yöntem Geçerliliğine Genel Bir Bakış." Ankara Ecz. Fak. Derg. 34(1): 41-57.
- Fandohan, P., Zoumenou, D., Hounhouigan, D. J., Marasas, W. F. O., Wingfield, M. J. and Hell, K. (2005). "Fate of Aflatoxins and Fumonisin During the Processing of Maize into Food Products in Benin." Int. J. Food Microbiol. 98: 249-259.
- FSA (2007). "The UK Code of Good Agricultural Practice to Reduce *Fusarium* Mycotoxins in Cereals." Food Standards Agency: 1-15.
- Hoseney, C. R., Ed. (1994). Drying of Cereals. "Principles of Cereal Science and Technology". St. Paul, Minnesota, USA, American Association of Cereal Chemists Publishing.
- House, J. D., Nyachotti, C. M. and Abramson, D. (2003). "Deoxynivalenol Removal from Barley Intended as Swine Feed through the Use of an Abrasive Pearling Procedure." J. Agric. Food Chem. 51: 5172-5175.
- Huwig, A., Freimund, S., Kappeli, O. and H., D. (2001). "Mycotoxin Detoxication of Animal Feed by Different Adsorbents." Toxicology Letters 122: 179-188.
- Jacowiak, H., Packa, D., Wiwart, M. and Perkowski, J. (2005). "Scanning Electron Microscopy of *Fusarium* Damaged Kernels of Spring Wheat." Int. J. Food Microbiol. 98: 113-123.
- Juany, J. P. (2007). "Methods for Preventing, Decontaminating and Minimizing the Toxicity of Mycotoxins in Feeds " Animal Feed Science and Technology 137: 342-362.
- Kabak, B., Dobson, A. D. W. and Var, I. (2006). "Strategies to Prevent Mycotoxin Contamination of Food and Animal Feed: A Review." Critical Reviews in Food Science and Nutrition 46: 593-619.
- Kent, N. L., Ed. (1975). Chemical Composition of Cereals. Technology of Cereals with special reference to wheat. St. Albans, Herts., Great Britain, Pergamon Press.
- King, J. M. and Prudente, A. D. (2006). Aflatoxins and Food Safety. Chemical Detoxification of Aflatoxins in Foods and Feeds. K. H. Abbas. Boca Raton FL 33487-2742, CRC Press: 543–554.

- Köpke, U. and Thiel, B., Eds. (2007). Strategies to Reduce Mycotoxin and Fungal Alkaloid Contamination in Organic and Conventional Cereal Production Systems. Handbook of Organic Food Safety. Published in North America, Boca Raton, CRC Press.
- Krska, R. and Josephs, R. (2001). "The State-of-the-art in the Analysis of Estrogenic Mycotoxins in Cereals." *Fresenius J Anal Chem* 369: 469–476.
- Krska, R., Welzig, E. and Boudra, H. (2007). "Analysis of *Fusarium* Toxins in Feed." *Animal Feed Science and Technology* 137: 241-264.
- Kuiper-Goodman, T., Ed. (2004). Risk Assessment and Risk Management of Mycotoxins in Food. Mycotoxins in food: detection and control. England, Woodhead Publishing Limited, pp. 3-31.
- Larsen, J. C., Hunt, J., Perrin, I. and Ruckebauer, P. (2004). "Workshop on Trichothecenes with a focus on DON: Summary Report." *Toxicology Letters* 153: 1-22.
- Legzdina, L. and Buerstmayr, H. (2004). "Comparison of Infection with *Fusarium* Head Blight and Accumulation of Mycotoxins in Grain of Hulled and Covered Barley." *Journal of Cereal Science* 40: 61–67.
- Lupien, J. R., Randell, A., Malek, Z., Cotter, J. P., Clay, W. D., Orriss, G. and Boutrif, E. (1999). *Food, Nutrition and Agriculture*. Vol. 23: 1-3.
- MacDonald, S. J., Anderson, S., D. and Brereton, P. (2005a). "Determination of Zearalenone in Barley, Maize and Wheat Flour, Polenta, and Maize-Based Baby Food by Immunoaffinity Column Cleanup with Liquid Chromatography: Interlaboratory Study." *Journal of AOAC International* 88(6): 1733-1740.
- MacDonald, S. J., Chan, D. and Brereton, P. (2005b). "Determination of Deoxynivalenol in Cereals and Cereal Products by Immunoaffinity Column Cleanup with Liquid Chromatography: Interlaboratory Study." *Journal of AOAC International* 88(4): 1197-1204.
- Magan, N. and Aldred, D. (2007). "Post-harvest Control Strategies: Minimizing Mycotoxins in the Food Chain." *International Journal of Food Microbiology* 119: 131–139.
- Miller, J. N. and Miller, J. C., Eds. (2005). Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry. Essex, Pearson Education Limited, pp. 107-149.

- Mistry, A. H. and Eckhoff, S. R. (1992). "Alkali Debranning of Corn to Obtain Corn Bran." *Cereal Chem* 69(2): 202-205.
- Murata, H., Mitsumatsua, M. and Shimada, N. (2008). "Reduction of Feed-contaminating Mycotoxins by Ultraviolet Irradiation: An in vitro Study." *Food Additives and Contaminants* 25(9): 1107-1110.
- Murphy, P. A., Hendrich, S., Landgren, C. and Bryant, C. M. (2006). "Food Mycotoxins: An Update." *Journal of Food Science* 71(5): 51-65.
- Neira, M. S., Pacin, A. M., Martínez, E. J., Moltó, G. and Resnik, S. L. (1997). "The Effect of Bakery Processing on Natural Deoxynivalenol Contamination." *Int. J. Food Microbiol.* 37: 21-25.
- Park, B. J., Takatori, K., Sugita-Konishi, Y., Kim, I., Lee, M., Han, D., Chung, K., Hyun, S. O. and Park, J. (2007). "Degradation of Mycotoxins Using Microwave-induced Argon Plasma at Atmospheric Pressure." *Surface & Coatings Technology* 201: 5733-5737.
- Pearson, T. C., Wicklow, D. T. and Pasikatan, M. C. (2004). "Reduction of Aflatoxin and Fumonisin Contamination in Yellow Corn by High-Speed Dual-Wavelength Sorting." *cereal Chem.* 81(4): 490-498.
- Peraica, M., Radić, B., Lucić, A. and Pavlović, M. (1999). "Toxic effects of mycotoxins in humans." *Bulletin of the World Health Organization* 77(9): 754-766.
- Pérez-Flores, G. C., Moreno-Martínez, E. and Méndez-Albores, A. (2011). "Effect of Microwave Heating during Alkaline-Cooking of Aflatoxin Contaminated Maize." *Journal of Food Science* 76(2): 48-52.
- Philips, T. D., Clement, B. A., Kubena, L. F. and Harvey, R. B. (1990). "Detection and Detoxification of Aflatoxins: Prevention of Aflatoxicosis and Aflatoxin Residues with Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicates." *Vet. Human Toxicology* 32: 15-19.
- Richard, J. L. (2007). "Some Major Mycotoxins and Their Mycotoxicoses- An Overview." *International Journal of Food Microbiology* 119: 3-10.
- Rios, G., Pinson-Gadais, L., Abecassis, J., Zakhia-Rozis, N. and Lullien-Pelerin, V. (2009). "Assessment of Dehulling Efficiency to Reduce Deoxynivalenol and *Fusarium* Level in Durum Wheat Grains." *Journal of Cereal Science* 49: 387-392.

- Ryu, D., Hana, A., Eskridge, K. M. and Bullerman, L. D. (2003). "Heat Stability of Zearalenone in an Aqueous Buffered Model System." J. Agric. Food Chem 51: 1746-1748.
- SCF (1999). "(Scientific Committee on Food) Opinion on *Fusarium* Toxins Part 1: Deoxynivalenol (DON) (Annex VI to the minutes of the 119th Plenary meeting)." SCF/CS/CNTM/MYC/19 Final: 1-9.
- SCF (2000). "(Scientific Committee on Food) Opinion on *Fusarium* Toxins Part 2: Zearalenone (ZEA) " SCF/CS/CNTM/MYC/22 Rev 3 Final: 1-12.
- Scott, P. M. (1984). "Effects of Food Processing on Mycotoxins." journal of Food Protection 47(6): 489-499.
- Scudamore, K. A. (2000). "Mycotoxins in Stored Grain." Crop Management into the Millenium, HGCA R&D Conference 18.11-18.19.
- Scudamore, K. A., Guy, R. C. E., Kelleher, B. and MacDonald, S. J. (2008). "Fate of *Fusarium* Mycotoxins in Maize Flour and Grits During Extrusion Cooking." Food Additives and Contaminants 25(11): 1374-1384.
- Shapira, R., Ed. (2004). Mycotoxins in Food: Detection and Control. Control of Mycotoxins in Storage and Techniques for Their Decontamination. Boca Raton FL 33431, USA, Woodhead Publishing LLC and CRC Press LLC.
- Shetty, P. H., Hald, B. and Jespersen, L. (2007). "Surface Binding of Aflatoxin B1 by *Saccharomyces cerevisiae* Strains with Potential Decontaminating Abilities in Indigenous Fermented Foods." International Journal of Food Microbiology 113: 41-46.
- Shetty, P. H. and Jespersen, L. (2006). "*Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents." Trends in Food Science & Technology 17: 48-55.
- Skadsen, R. W. and Hohn, T. M. (2004). "Use of *Fusarium* transformed *gfp* to Follow Infection Patterns in Barley and *Arabidopsis*." Physiological and Molecular Plant Pathology 64(45-53).
- Sobrova, P., Adam, V., Vasatkova, A., Beklova, M., Zeman, L. and Kizek, R. (2010). "Deoxynivalenol and Its Toxicity." Interdisc Toxicol. 3(3): 94-99.
- Speijers, G. J. A. and Speijers, M. H. M. (2004). "Combined Toxic Effects of Mycotoxins." Toxicology Letters 153: 91-98.

- Sweeney, M. J. and Dobson, A. D. W. (1998). "Mycotoxin Production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* Species." International Journal of Food Microbiology 43: 141-158.
- TGK (2009/22). "Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ." Türk Gıda Kodeksi.
- Tiwari, B. K., Brennan, C. S., Curran, T., Gallager, E., Cullen, P. J. and O'Donnel, C. P. (2010). "Application of Ozone in Grain Processing." Journal of Cereal Science 51: 248-255.
- Trenholm, H. L., Charmley, L. L., Prelusky, D. B. and Warber, R. M. (1991). "Two Physical Methods for Decontamination of Four Cereals Contaminated with Deoxynivalenol and Zearalenone." J. Agric. Food Chem 39: 356-360s.
- Trenholm, H. L., Charmley, L. L., Prelusky, D. B. and Warber, R. M. (1992). "Washing Procedures Using Water or Sodium Carbonate Solutions for the Decontamination of Three Cereals Contaminated with Deoxynivalenol and Zearalenone." J. Agric. Food Chem 40: 2147-2151.
- Visconti, A., Haidukowski, E. M., Pascale, M. and Silvestri, M. (2004). "Reduction of Deoxynivalenol During Durum Wheat Processing and Spaghetti Cooking " Toxicology Letters 153(1): 181-189.
- WHO (2002). "WHO Global Strategy for Food Safety." WHO Publications: 1-23.
- Yiannikouris, A., Andre', G., Poughon, L., François, J., Dussap, C., Jeminet, G., Bertin, G. and Jouany, J. P. (2006). "Chemical and Conformational Study of the Interactions Involved in Mycotoxin Complexation with β -D-Glucans." Biomacromolecules 7: 1147-1155.
- Yilmaz, N. and Tuncel, B. N. (2010). "An Alternative Strategy for Corn Drying (*Zea mays*) Resulted in Both Energy Savings and Reduction of Fumonisin B1 and B2 Contamination." international Journal of Food Science and Technology 45: 621-628.
- Young, J. C., Fulcher, G. R., Hayhoe, J. H., Scott, P. M. and Dexter, J. D. (1984). "Effect of Milling and Baking on Deoxynivalenol (Vomitoxin) Content of Eastern Canadian Wheats." J. Agric. Food Chem 32(6): 659-664.
- Young, J. C., Zhu, H. and Zhou, T. (2006). "Degradation of Trichothecene Mycotoxins by Aqueous Ozone." Food and Chemical Toxicology 44: 417-424.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sine YENER

Doğum Yeri : Antakya

Doğum Yılı : 1986

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise (1998-2004) : İsmet-Ayşe Behzatoğlu Anadolu Lisesi

Lisans (2004-2008) : Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil: İngilizce

İş Tecrübesi:

Mayıs 2009- : Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Araştırma
Görevlisi