ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Bazı Rafinasyon İşlem Basamakları ile Yağ Ekstraksiyon Yöntemlerinin Antep Fıstığında Toplam Aflatoksin ve Zeytinde Okratoksin A Düzeylerine Etkisi

Ali TEKİN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Şubat,2023

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZ ONAYI

Bazı Rafinasyon İşlem Basamakları ile Yağ Ekstraksiyon Yöntemlerinin Antep Fıstığında Toplam Aflatoksin ve Zeytinde Okratoksin A Düzeylerine Etkisi

---

Ali TEKİN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Bu Doktora Tezi 20/02/2023 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Değerlendirilmiş ve Oy Birliği ile Kabul Edilmiştir.

Jüri : Prof. Dr. Işıl VAR (Danışman) ……

: Prof. Dr. Bülent KABAK ……

: Prof. Dr. Serkan SELLİ ……

: Doç. Dr. Türkan KEÇELİ MUTLU ……

: Dr. Öğr. Üyesi Bülent ZORLUGENÇ ……

Bu Tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FDK-2017-8955

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

ÖZ I
ABSTRACT II
TEŞEKKÜR III
ÇİZELGELER DİZİNİ IV
ŞEKİLLER DİZİNİ VI
SİMGELER VE KISALTMALAR 1
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 3
2.1. Mikotoksinler 3
2.1.1. Aflatoksinler 3
2.1.2. Okratoksinler 7
2.1.3. Yağlı Tohumlar ve Bitkisel Yağlarda Mikotoksin Varlığı 8
2.2. Bitkisel Yağ Üretimi 11
2.2.1. Antep fıstığı Yağı Üretimi 12
2.2.2. Zeytinyağı Üretimi 15
2.2.3. Yağların Rafinasyonu 18
3. MATERYAL ve METOT 21
3.1. Materyal 21
3.1.1. Antep fıstığı ve Antep fıstığı Yağı ile Zeytin ve Zeytinyağı Örnekleri 21
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler 21
3.1.3. Kullanılan Cihazlar 21
3.2. Metot 22
3.2.1. Nem Tayini 22
3.2.2. Su Aktivitesi Tayini 22
3.2.3. Toplam Küf Sayımı ve Tanımlanması 22
3.2.4. Aflatoksin Analizleri 23
3.2.5. OTA Analizleri 28
3.2.6. Yağ Ekstraksiyonu Metotlarının Antep fıstığında Aflatoksin ve Zeytinde OTA Miktarlarına Etkisi 30
3.2.7. Antep fıstığı Yağında Aflatoksin Analizleri: 33
3.2.8. Antep fıstığı Küspesinde Aflatoksin Analizi: 34
3.2.9. Zeytinyağı Örneklerinde OTA Analizi: 34
3.2.10. Zeytin Pirinasında OTA Analizi: 35
3.2.11. Rafinasyon İşleminin Antep fıstığı Yağında Aflatoksin ile Zeytinyağında OTA Miktarları Üzerine Etkileri 36

3.2.12. İstatistiksel Değerlendirme 38
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 39
4.1. Antep fıstığı ve Zeytin Örneklerinde Nem ve Su Aktivitesi Değerleri 39
4.2. Antep fıstığı ve Zeytin Örneklerinde Küf Sayımı ve Tanımlanması 42
4.3. Aflatoksin ve OTA Analizleri Metot Performanslarının Değerlendirilmesi 45
4.3.1. Aflatoksin Analizleri Metot Performanslarının Değerlendirilmesi 45
4.3.2. OTA Analizleri Metot Performansının Değerlendirilmesi 47
4.4. Piyasadan Toplanan Antep fıstığı Örneklerinde Aflatoksin ve Zeytin Örneklerinde OTA Aranması 48
4.4.1. Antep fıstığı Örneklerinde Aflatoksin Aranması 48
4.4.2. Zeytin Örneklerinde OTA Aranması 50
4.5. Yağ Ekstraksiyonu Metotlarının Antep fıstığında Aflatoksin ve Zeytinde OTA Miktarlarına Etkisi 52
4.5.1. Farklı Ekstraksiyon Metotlarının Antep fıstığından Yağa Geçen Aflatoksin Miktarına Etkisi 52
4.5.2. Farklı Ekstraksiyon Metotlarının Zeytinden Zeytinyağına Geçen OTA Miktarına Etkisi 61
4.6. Rafinasyon İşlemlerinin Antep fıstığı Yağında Aflatoksin ve Zeytinyağında OTA Üzerine Etkisi 66
4.6.1. Antep fıstığı Yağında Rafinasyon Çalışmaları 66
4.6.2. Zeytinyağında Rafinasyon Çalışmaları 71
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 77
KAYNAKLAR 81
ÖZGEÇMİŞ 91

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

Bazı Rafinasyon İşlem Basamakları ile Yağ Ekstraksiyon Yöntemlerinin Antep Fıstığında Toplam Aflatoksin ve Zeytinde Okratoksin A Düzeylerine Etkisi

Ali TEKİN

Danışman: Prof. Dr. Işıl VAR

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

ÖZ

Bu çalışmada farklı ekstraksiyon metotlarının Antep fıstığında aflatoksin ve zeytinde OTA üzerine etkileri ile rafinasyon işlem basamaklarının Antep fıstığı yağında aflatoksin ve zeytinyağında OTA üzerine etkileri araştırılmıştır.

Antep fıstığı örneklerinden yağ ekstraksiyonu için, doğal kontamine örnekler ve 15 µg/kg Toplam Aflatoksin aşılanmış örnekler olmak üzere iki farklı örnek grubu kullanılmıştır. Çalışmada soğuk sıkım, kavrulmuş örneklerden soğuk sıkım, n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu ve petrol eteri ile soxhlet exktraksiyonu metotları kullanılarak yağ ekstraksiyonu yapılmıştır. Yağ ekstraksiyonu metotlarının her iki örnek grubunda da aflatoksinin yağa geçişi üzerine etkili olduğu ve metotlar arasında farklılık bulunduğu belirlenmiştir. Doğal kontamine örneklerde, Antep fıstığı yağına en düşük toplam aflatoksin geçişi %9.04 oranıyla n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonunda gerçekleşmiş, bunu %11.30 oranıyla petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonu takip etmiştir. Yağa en fazla aflatoksin geçişinin %17.18 oranıyla kavrulmuş örneklerden soğuk sıkım metodu ile %18.39 oranıyla soğuk sıkım metotlarında gerçekleştiği tespit edilmiştir. Aflatoksin aşılanmış Antep fıstığı örneklerinde ise yağa en düşük aflatoksin geçişi %10.80 oranıyla n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonunda ile %12.12 oranıyla petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonu metodunda gerçeklemiş, bunları %17.10 oranıyla kavrulmuş örneklerden soğuk sıkım metodu takip etmiş ve yağa en yüksek aflatoksin geçişi %19.20 oranıyla soğuk sıkım metodunda gerçekleşmiştir.

Zeytin örneklerinden yağ ekstraksiyonu için, doğal kontamine örnekler ve 15 µg/kg OTA aşılanmış örnekler olmak üzere iki farklı örnek grubu kullanılmıştır. Çalışmada soğuk sıkım, sıcak sıkım, n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu ve petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonu metotları kullanılmıştır. Her iki örnek grubunda da yağ ekstraksiyonu metotlarının OTA'nın yağa geçişi üzerine etkili olduğu ve metotlar arasında farklılık bulunduğu belirlenmiştir. Doğal kontamine zeytin örneklerinde, zeytinyağına en düşük OTA geçişi % 8.98 oranıyla petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonu ile %14.84 oranıyla n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu metodunda gerçekleşmiş, en yüksek OTA geçişi ise %30.33 oranıyla sıcak pres metodu ve %34.46 oranıyla soğuk pres metodu ile yapılan yağ ekstraksiyonu metodunda gerçekleştiği tespit edilmiştir. OTA aşılanmış örneklerde zeytinyağına en düşük OTA geçişi, % 6.23 oranıyla petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonunda gerçekleşmiş, bunu %17.23 oranıyla n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyon metodu takip etmiş, en yüksek OTA geçişinin ise %36.80 oranıyla sıcak pres metodu ile %39.94 oranıyla soğuk pres metodunda gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Rafinasyon çalışmasında, rafinasyon işlem basamaklarının Antep fıstığı yağında aflatoksin ve zeytinyağında OTA üzerine etkilerini belirlemek için degumming, nötralizasyon ve ağartma prosesleri kullanılmıştır. Antep fıstığı yağı çalışmasında aflatoksin içermeyen Antep fıstığı yağına 15 µg/kg aflatoksin aşılanmış ve bu yağ örneklerine rafinasyon işlemi uygulanmıştır. Antep fıstığı yağında aflatoksinleri azaltmada en etkili işlem basamağı %69.50'lik oranla degumming olmuş, bunu %58.19'luk oran ile nötralizasyon ve % 21.49'lık oranı ile ağartma izlemiştir. Rafinasyon işleminin bitiminde Antep fıstığı yağında aflatoksin miktarının %90.33 oranında azaldığı tespit edilmiştir.

Zeytinyağı çalışmasında ise, zeytinyağı örneklerine 15 µg/kg miktarında OTA aşılanmış ve rafinasyon işleminin OTA üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışma sonucunda zeytinyağında OTA üzerine en etkili yöntemin % 92.37'lik oranla nötralizasyon olduğu, bunu % 39.04 oranı ile ağartma ve % 49.25 oranı ile degumming'in izlediği belirlenmiştir. Rafinasyon işleminin bitiminde zeytinyağındaki OTA miktarının %97.80 oranında azaldığı belirlenmiştir.

Antep fıstığı ve zeytin ile yapılan çalışmalar sonucunda hem aflatoksin, hem de OTA miktarlarının yağ ekstraksiyonu ve rafinasyon işlem basamaklarının kombine uygulanmasıyla son üründe aflatoksin/OTA miktarının oldukça düşük seviyelere düşürülebileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mikotoksin, Antep fıstığı, Zeytin, Yağ Ekstraksiyonu, Rafinasyon

CUKUROVA UNIVERSITY

INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

PhD THESIS

Effects Of Some Refining Process Steps And Oil Extraction Methods On Total Aflatoxin Levels In Pıstachios And Ochratoxin A Levels In Olives

Ali TEKİN

Supervisor : Prof. Dr. Işıl VAR

Department Of Food Engineering

ABSTRACT

In this study, the effects of different extraction methods on aflatoxin in pistachios and OTA in olives and the effects of refining process steps on aflatoxin in pistachio oil and OTA in olive oil were investigated.

Two different sample groups were used for oil extraction from pistachio samples, both naturally contaminated samples and 15 µg/kg total aflatoxin inoculated samples. In the study, oil extraction was carried out using cold pressed, cold pressed from roasted samples, soxhlet extraction with n-hexane and soxhlet extraction with petroleum ether. It was determined that the oil extraction methods were effective on the transfer of aflatoxin to the oil in both sample groups and there were differences between the methods. In the study conducted with naturally contaminated pistachio samples, the lowest Total aflatoxin transfer to pistachio oil occurred in soxhlet extraction with n-hexane with a rate of 9.04%, followed by soxhlet extraction with petroleum ether with a rate of 11.30%. It was determined that the highest amount of aflatoxin transfer to the oil occurred in the cold pressed method from roasted samples with a rate of 17.18% and the cold pressed method with a rate of 18.39%. In the study using pistachio samples spiked with aflatoxin, the lowest aflatoxin transfer to the oil was achieved in the soxhlet extraction with n-hexane with a rate of 10.80% and the soxhlet extraction method with petroleum ether with a rate of 12.12%, followed by the cold pressed method from the roasted samples with a rate of 17.10%. The high aflatoxin transfer rate was 19.20% in the cold pressed method.

Two different sample groups were used for oil extraction from olive samples, both naturally contaminated samples and 15 µg/kg OTA inoculated samples. Cold pressed, hot pressed, soxhlet extraction with n-hexane and soxhlet extraction with petroleum ether were used in the study. In both sample groups, it was determined that the oil extraction methods were effective on the transfer of OTA to the oil and there were differences between the methods. In the study conducted with naturally contaminated olive samples, the lowest OTA transfer to olive oil was obtained by soxhlet extraction with petroleum ether with a rate of 8.98% and with soxhlet extraction with n-hexane with a rate of 14.84%; The highest OTA transfer was detected in the hot press method with a rate of 30.33% and the cold press method with a rate of 34.46%, respectively. The lowest OTA transfer from OTA spiked olive samples to olive oil was achieved in soxhlet extraction with petroleum ether with a rate of 6.23%, followed by the soxhlet extraction method with n-hexane with a rate of 17.23%; It was determined that the highest OTA transfer was realized in the hot press method with a rate of 36.80% and the cold press method with a rate of 39.94%.

In the refining study, degumming, neutralization and bleaching processes were used to determine the effects of refining process steps on aflatoxin in pistachio oil and OTA in olive oil. In the pistachio oil study, 15 µg/kg aflatoxin was spiked into aflatoxin-free pistachio oil and the effects of refining process steps on aflatoxin were investigated. The most effective step in reducing aflatoxins in pistachio oil was degumming with 69.50%, followed by neutralization with 58.19% and bleaching with 21.49%. At the end of the refining process, it was determined that the amount of aflatoxin in pistachio oil decreased by 90.33%.

In the olive oil study, 15 µg/kg OTA was spiked into olive oil samples and the effects of refining process steps on OTA were investigated. As a result of the study, it was determined that the most effective method on OTA in olive oil was neutralization with a rate of 92.37%, followed by bleaching with a rate of 39.04% and degumming with a rate of 49.25%. At the end of the refining process, it was determined that the amount of OTA in olive oil decreased by 97.80%.

As a result of the studies carried out with pistachios and olives, it has been determined that the amount of aflatoxin/OTA in the final product can be reduced to very low levels with the combined application of oil extraction and refining process steps in both aflatoxin and OTA amounts.

Keywords: Mycotoxins, Pistachio, Olive, Oil Extraction, Refining

TEŞEKKÜR

Tüm lisansüstü eğitimim süresince bana yol gösteren, akademik bir çalışmanın nasıl yapılacağını öğreten, bana bu tez konusunu vererek çalışmamı sağlayan ve çalışmamın her aşamasında ilgi ve desteğini benden esirgemeyen, bilgi ve tecrübesiyle bana büyük katkılar sağlayan, bunların yanında hayatımın her alanında yoluma ışık tutan, danışman hocam Prof. Dr. Işıl VAR'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez süreci boyunca, katkılarından dolayı Tez İzleme Komitesi üyeleri Prof. Dr. Bülent KABAK ve Doç. Dr. Türkan KEÇELİ MUTLU'ya teşekkür ederim.

Doktora çalışmam süresince gösterdikleri anlayıştan dolayı ve laboratuvar imkanlarından yararlanmamı sağladıkları için TAGEM Bahçe Bitkileri Daire Başkanı Doç. Dr. Davut KELEŞ'e ve Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürü Dr. Mustafa ÜNLÜ'ye teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarım süresince desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Kimya Yük. Müh. Zeynettin BAYSAL'a, Gıda Yük Müh. Dr. Evren Çağlar EROĞLU'na, Gıda Yük. Müh. Rıdvan ARSLAN'a, Uzm. Biyolog Elif KÖKSALAN'a ve laboratuvar personeli Mehmet ŞAHİN'e teşekkür ederim. Çalışma materyalinin temininde bana katkı sağlayan, Dr. Öğr. Üyesi Nevzat ASLAN'a ve Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü Müdürü Ahmet ŞAHAN'a teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmamın belirli dönemlerinde desteklerini gördüğüm Çakıroğlu Uçucu Yağ Ltd. Şti. Genel Müdürü Oktay ÇAKIROĞLU'na, Gaziantep Gıda Kontrol Laboratuvarı Mikotoksin Laboratuvarı Sorumlusu Vet. Hek. Muhittin KISA ve Mersin Zirai Karantina Müdürlüğü uzman personellerine teşekkür ederim.

Tez çalışmamızı maddi olarak destekleyen Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: FDK-2017-8955) teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca bana her zaman destek olan annem Emine TEKİN'e, babam Akif TEKİN'e ve kardeşim Müzeyyen GÖK'e teşekkürü borç bilirim.

Tez sürecim boyunca gösterdiği sabır ve destek için sevgili eşim Neslihan'a ve canım oğullarım Akif Çağan'a ve Aras'a sonsuz teşekkür ederim.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Aflatoksin Bileşiklerinin Kimyasal Yapıları ve Kapalı Formülleri 4
Çizelge 2.2. Aflatoksin Üreticisi Küfler Tarafından Üretilen Mikotoksinler 5
Çizelge 2.3. Antep Fıstığında Aflatoksin Limitleri (µg/kg) 7
Çizelge 2.4. Kuru İç Antep Fıstığında Bulunan Majör Yağ Asitleri 14
Çizelge 2.5. Zeytin Meyvesinin Besin Bileşenleri 17
Çizelge 2.6. Zeytinyağında Bulunan Majör Yağ Asidi Bileşenleri ve Oranları 18
Çizelge 4.1. Antep fıstığı Örneklerinde % Nem Miktarı ve Su Aktivitesi Değerleri 39
Çizelge 4.2. Zeytin Örneklerinde % Nem ve Su Aktivitesi Değerleri 41
Çizelge 4.3. Antep Fıstığı Örneklerinde Küf Sayımı Sonuçları 42
Çizelge 4.4. Zeytin Örneklerinde Küf Sayımı Sonuçları 44
Çizelge 4.5. Aflatoksin LOD, LOQ, Geri Kazanım ve Tekrarlanabilirlik Değerleri 46
Çizelge 4.6. OTA LOD, LOQ, Geri Kazanım ve Tekrarlanabilirlik Değerleri 48
Çizelge 4.7. Piyasadan Toplanan Antep Fıstığı Örneklerinde Tespit Edilen Aflatoksin Miktarları 49
Çizelge 4.8. Piyasadan Toplanan Zeytin Örneklerinde Tespit Edilen OTA Miktarları 51
Çizelge 4.9. Soğuk Sıkım Yağ Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Antep Fıstığı Örneklerinden Antep Fıstığı Yağına Geçen ve Küspesinde Kalan Aflatoksin Miktarları 53
Çizelge 4.10. Kavrulmuş Örneklerden Soğuk Sıkım Yağ Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Antep Fıstığı Örneklerinden Antep Fıstığı Yağına Geçen ve Küspesinde Kalan Aflatoksin Miktarları 53
Çizelge 4.11. n-hekzan ile Soxhlet Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Antep Fıstığı Örneklerinden Antep Fıstığı Yağına Geçen ve Küspesinde Kalan Aflatoksin Miktarları 54
Çizelge 4.12. Petrol Eteri ile Soxhlet Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Antep Fıstığı Örneklerinden Antep Fıstığı Yağına Geçen ve Küspesinde Kalan Aflatoksin Miktarları 55
Çizelge 4.13. Doğal Kontamine Antep fıstığı Örneklerinden Farklı Ekstraksiyon Metotları ile Yağa Geçen Aflatoksin Oranları (%) 56
Çizelge 4.14. Doğal Kontamine Antep fıstığı Örneklerinden Farklı Ekstraksiyon Metotları ile Proses Sürecinde Küspede Kalan Aflatoksin Oranları 57
Çizelge 4.15. Aflatoksin Aşılanmış Antep fıstığı Örneklerinden Farklı Metotlarla Yağ Ekstraksiyonu Sürecinde Antep Fıstığı Yağına Geçen ve Küspesinde Kalan Aflatoksin Miktarları 59

Çizelge 4.16. Soğuk Sıkım Yağ Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Zeytin Örneklerinden Zeytinyağına Geçen ve Pirinada Kalan OTA Miktarları 61
Çizelge 4.17. Sıcak Sıkım Yağ Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Zeytin Örneklerinden Zeytinyağına Geçen ve Pirinada Kalan OTA Miktarları 62
Çizelge 4.18. n-hekzan ile Soxhlet Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Zeytin Örneklerinden Zeytinyağına Geçen ve Pirinada Kalan OTA Miktarları 62
Çizelge 4.19. Petrol Eteri ile Soxhlet Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Zeytin Örneklerinden Zeytinyağına Geçen ve Pirinada Kalan OTA Miktarları 63
Çizelge 4.20. Farklı Ekstraksiyon Metotlarıyla Doğal Kontamine Zeytin Örneklerinden Zeytinyağına Geçen OTA Oranları (%) 63
Çizelge 4.21. Doğal Kontamine Zeytin Örneklerinden Farklı Ekstraksiyon Metotlarıyla Proses Sürecinde Pirinada Kalan OTA Oranları 64
Çizelge 4.22. OTA Aşılanmış Zeytin Örneklerinden Farklı Metodlarla Yağ Ekstraksiyonunun Zeytinyağına Geçen ve Pirinada Kalan OTA Miktarlarına Etkisi 65
Çizelge 4.23. Rafinasyon Prosesi Boyunca Antep Fıstığı Yağında Bulunan Aflatoksin Miktarlarındaki Değişim 67
Çizelge 4.24. Rafinasyon İşlem Basamaklarının Antep Fıstığı Yağı'nda Bulunan Aflatoksin Miktarları Üzerine Etkileri 70
Çizelge 4.25. Rafinasyon Prosesi Boyunca Zeytinyağında Bulunan OTA Miktarlarındaki Değişim 72
Çizelge 4.26. Rafinasyon İşlem Basamaklarının Zeytinyağında Bulunan OTA Miktarlarına Etkileri 74

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Aflatoksinlerin kimyasal yapısı 4
Şekil 2.2. OTA'nın Kimyasal Yapısı 7
Şekil 2.3. Yağlı Tohumlardan Rafine Yağ Elde Edilmesi 12
Şekil 2.4. 2017-2021 Yılları Arası Dünya Antep Fıstığı Ortalama Üretim Miktarları 13
Şekil 2.5. 2018-2022 Yılları Arası Türkiye Antep Fıstığı Ortalama Üretim Miktarları 13
Şekil 2.6. Vidalı Pres Yağ Ekstraksiyon Cihazı 15
Şekil 2.7. 2021 Yılında Dünyada En Fazla Zeytin Üretimi Yapan Ülkeler 16
Şekil 2.8. 2021 Yılında Türkiye'de Zeytin Üretiminin İllere Göre Dağılımı 16
Şekil 2.9. Zeytin çekirdeğinin anatomik yapısı 17
Şekil 3.1. AFG_2 Kalibrasyon Eğrisi 23
Şekil 3.2. AFG_1 Kalibrasyon Eğrisi 24
Şekil 3.3. AFB_2 Kalibrasyon Eğrisi 24
Şekil 3.4. AFB_1 Kalibrasyon Eğrisi 25
Şekil 3.5. Antep Fıstığı Örneklerine Uygulanan Aflatoksin Analiz Metodu 27
Şekil 3.6. OTA Kalibrasyon Eğrisi 28
Şekil 3.7. Zeytin Örneklerine Uygulanan OTA Analiz Metodu 30
Şekil 3.8. Antep Fıstığı Yağı Örneklerine Uygulanan Aflatoksin Analiz Metodu 34
Şekil 3.9. Zeytinyağı Örneklerine Uygulanan OTA Analiz Metodu 35
Şekil 3.10. Proses Başlangıcında Toksin İlavesi İle Rafinasyon İşlemi 37
Şekil 3.11. Degumming İşleminin Etkisinin Belirlenmesi İçin Uygulanan İşlemler 37
Şekil 3.12. Nötralizasyon İşleminin Etkisinin Belirlenmesi İçin Uygulanan İşlemler 38
Şekil 3.13. Ağartma İşleminin Etkisinin Belirlenmesi İçin Uygulanan İşlemler 38
Şekil 4.1. *Aspergillus niger*'in Tek Koloni Düşürülmüş PDA Besiyerindeki Görüntüsü (25 ^oC'de 72. saat) 43
Şekil 4.2. AFG_2, AFG_1, AFB_2 ve AFB_1 HPLC-FLD Kromatogramı 45
Şekil 4.3. HPLC-FLD'de OTA Kromatogramı 47
Şekil 4.4. Rafinasyon Prosesi Boyunca Antep Fıstığı Yağında Bulunan Aflatoksin Miktarlarındaki Değişim 69
Şekil 4.5. Rafinasyon İşlem Basamaklarının Antep Fıstığı Yağında Bulunan Aflatoksin Miktarları Üzerine Etkisi 71
Şekil 4.6. Rafinasyon Prosesi Boyunca Zeytinyağında Bulunan OTA Miktarlarındaki Değişim 74
Şekil 4.7. Rafinasyon İşlem Basamaklarının Zeytinyağında Bulunan OTA Miktarlarına Etkileri 75

SİMGELER VE KISALTMALAR

AFB_1	: Aflatoksin B_1
AFB_2	: Aflatoksin B_2
AFG_1	: Aflatoksin G_1
AFG_2	: Aflatoksin G_2
OTA	: Okratoksin A
FB_1	: Fumonisin B_1
ZEN	: Zearalenone
DON	: Deoxynivalenol
IAK	: Immuno Afinite Kolonu
FAO	: Food and Agricultural Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
GAP	: İyi Tarım Uygulamaları
HACCP	: Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları Sistemi
ISO	: International Organization for Standardization
HPLC-FLD	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Floresans Dedektörü
kob	: Koloni Oluşturma Birimi
LOD	: Limit of Detection (Tespit Limiti)
LOQ	: Limit of Quantification (Ölçüm Limiti)
Excitation:	: Uyarıcı Dalga Boyu
Emission:	: Yayılan Dalga Boyu
a_w	: Su Aktivitesi
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi

1. GİRİŞ

Mikotoksinler; bazı küfler tarafından üretilen düşük molekül ağırlığına sahip, sekonder metabolitlerdir. Tarımsal ürünlerde küf gelişimi ve mikotoksin oluşumu sıklıkla görülmektedir. Mikotoksinlerin gıdalarla birlikte vücuda alınması, akut ve kronik birçok hastalığa sebep olmaktadır. Aflatoksinler ve Okratoksinler başta olmak üzere Siklopiazonik Asit, Zearalenon, Patulin, Deoksinivalenol, Trikotesenler ve Fumonisin gibi mikotoksinler gıdalarda yaygın olarak tespit edilmektedir. Mikotoksin üreticisi olduğu tespit edilen yaklaşık 400 küf türü olmasına rağmen, başlıca mikotoksin üreticisi küfler *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* ve *Alternaria* türleridir.(Magan ve Olsen, 2004; Kabak ve Var, 2008; Bhat ve Reddy, 2017; Abdolmaleki ve ark., 2021).

Mikotoksinler arasında en yüksek toksik etkiyi aflatoksinler göstermektedir. Aflatoksinler; *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* tarafından üretilen başta sert kabuklu meyveler, yağlı tohumlar, hububat ürünleri ve bazı kuru meyveler olmak üzere birçok gıdada tespit edilen, karsinojen etkiye sahip bir mikotoksin grubudur. Kimyasal olarak bifuran halkası ve lakton bağı içeren kumarin derivatları yapısında olan aflatoksinlerin 4 çeşidi (AFB_1, AFB_2, AFG_1 ve AFG_2) gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır (Boutrif, 1998; Veršilovskis ve Mi, 2006).

Yine önemli bir mikotoksin grubu olan Okratoksinler ise klorlu bir izokumarin bileşiği yapısında olup, bazı *Aspergillus* ve *Penicillium* küf türleri tarafından üretilen ve başta tahıllar olmak üzere, kahve çekirdeği, şarap, kuru üzüm, kakao, kurutulmuş meyveler, karma yemler ve zeytinde sıklıkla tespit edilen mikotoksinlerdir. Okratoksin grubuna ait 10'dan fazla bileşik mevcut olmasına rağmen, insanlarda toksik etkiyi sadece Okratoksin A (OTA) göstermektedir. Günlük diyette düşük dozlarda OTA maruziyetinin, Balkan Endemik Nefropatisi adlı kronik böbrek hastalığına yol açtığı bilinmektedir (Magan ve Olsen, 2004; Gil-Serna ve ark., 2018).

Gıda ve yem maddelerinde mikotoksin oluşumu, neden olduğu sağlık risklerinin yanı sıra, büyük ekonomik kayıpları da beraberinde getirmektedir. Mikotoksin ile kontamine olmuş gıdaların ticareti dünya genelinde kısıtlanmakta ve yasal limitlerin üzerinde mikotoksin tespit edilen ürünler çoğunlukla imha edilmektedir (Asim ve ark., 2011). Mikotoksinler genellikle küf miselinden gıdaya doğru salgılandıkları için, miseller uzaklaştırılsa bile gıdada mikotoksin varlığı devam etmektedir, bu sebeple mikotoksin ile mücadelenin en önemli unsuru mikotoksin oluşumun engellenmesi olarak görülmektedir. Mikotoksin oluşumu engellenemediğinde ise, gıdalardan mikotoksinleri uzaklaştırmak için fiziksel, kimyasal ve biyolojik birçok detoksifikasyon metodunun uygulanabilirliği uzun yıllardır araştırılmalara konu olmaktadır. Fiziksel detoksifikasyon için pişirme, mikrodalga ile ısıl işlem, kavurma, ışınlama ve UV ışık altında ayırma prosesleri, kimyasal detoksifikasyon için adsorban maddeler (bentonit ve aktif karbon) ve hidrolize edici maddelerin (amonyak) kullanımı ile biyolojik metot olarak laktik asit bakterileri, bifidobakterler ve flavobakterlerin kullanıldığı işlemlerin etkinliği araştırmalara konu olmuştur. Bu metotlardan

bazılarında büyük başarı sağlanmış ve sanayide kullanımı rutin metot olarak yerleşmiştir (Heperkan ve ark., 1994; Fooladi ve Farahnaky, 2003; Öztekin ve ark., 2005; Zorlugenç ve ark., 2008; Kabak, 2009; Méndez-Albores ve ark., 2009; Var ve ark., 2011; Chen ve ark., 2014; Hojnik ve ark., 2021).

Yerfıstığı, ayçiçeği, mısır, pamuk tohumu, susam, zeytin, Antep fıstığı ve badem gibi yağlı tohum ve meyvelerde mikotoksin oluşumu sıklıkla görülmektedir. Bu ürünlerde bulunan lipid molekülleri, küf gelişimi ve mikotoksin oluşumu için önemli bir karbon kaynağı görevi görmektedir, bu da mikotoksin biyosentezini artırıcı bir etki sağlamaktadır. Bu ürünlerin mikotoksijenik küflerle kontaminasyonu genellikle hasat öncesi dönemde gerçekleşmektedir. Yüksek sıcaklık, yoğun yağış ve bağıl nem gibi çevresel koşulların oluşmasıyla hızlı bir küf üremesi ve dolayısıyla mikotoksin oluşumu gerçekleşmektedir. Ayrıca hasat sonrasında kurutma ve depolama işlemlerinin uygun olmayan şartlarda yapılması da mikotoksin oluşumuna neden olmaktadır (Abalaka ve Elegbede, 1982; Elangovan ve Kalyanasundaram, 2000; Banu ve JohnPaul Muthumary, 2010; Mahoney ve Molyneux, 2010; Bordin ve ark., 2014; Battilani ve ark., 2016; Mimoune ve ark., 2016).

Bitkisel yağlar, mekanik basınç veya organik çözücüler aracılığıyla tohum veya meyveden ayrılarak elde edilmektedir. Yağ eldesi için kullanılan metotlar elde edilecek olan yağın hammaddesine ve kullanım şekline göre değişkenlik göstermektedir. Ekstraksiyondan elde edilen yağlara ham yağ denilmektedir. Bazı yağlar ham olarak tüketilebilmekte, ham olarak tüketilemeyen yağlar ise rafine edildikten sonra tüketilebilir hale gelmektedir.

Bu çalışmada farklı yağ ekstraksiyonu metotlarının Antep fıstığından aflatoksin ve zeytinden OTA'nın yağa geçişleri üzerine etkileri ile Antep fıstığı küspesinde kalan aflatoksin ve zeytinyağı pirinasında kalan OTA miktarları incelenmiştir. Bunun yanı sıra rafinasyon işlem basamaklarının Antep fıstığı yağındaki aflatoksin ve zeytinyağındaki OTA miktarları üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Mikotoksinler

Mikotoksinler, bazı küfler tarafından gıda ve yemlerde sekonder metabolit olarak üretilen, bir grup toksik kimyasal bileşiktir. Mikotoksinlerin vücuda alınması, insan ve hayvanlarda akut ve kronik birçok sağlık problemine neden olmaktadır. (Heperkan ve ark., 1994; Cserháti ve ark., 2013).

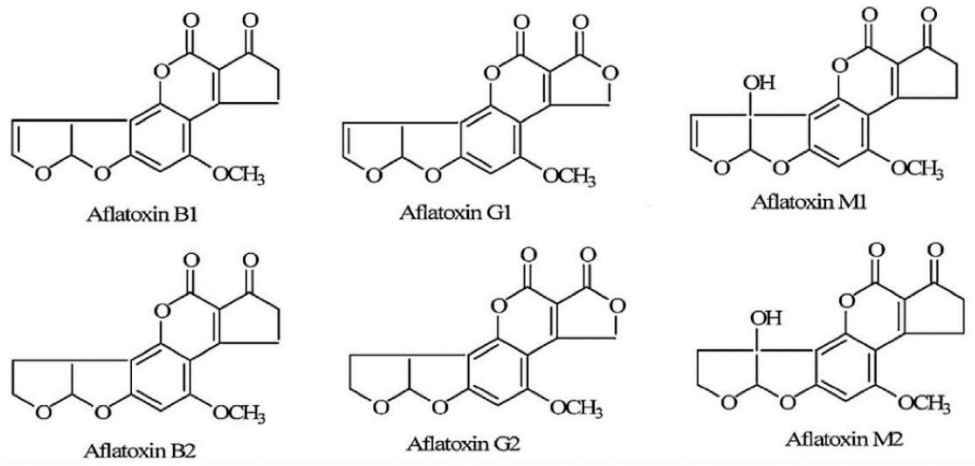
Mikotoksinler ile ilgili araştırmalar 1960 yılında İngiltere'de yaklaşık 100.000 hindinin ölümüne neden olan bir hastalığın kaynağının bulunması ile başlamıştır. Söz konusu olayda hastalık etmeninin *A. flavus*'un ürettiği bir toksinden (aflatoksin) kaynaklandığı anlaşılmıştır. Sonrasında mikotoksin çalışmaları artarak devam etmiştir. Günümüzde yaklaşık 400 farklı mikotoksin tanımlamıştır, ancak bunlardan aflatoksinler, fumonisinler, sitrinin, patulin, OTA, zearalenon, deoksinivalenol ve trikotesenler gıda güvenliği ve insan sağlığı açısından öne çıkmaktadır (Zijden ve ark., 1962; Var, 1988).

Doğada binlerce küf türü var olmasına rağmen, bunların tümü mikotoksin üretme yeteneğine sahip değildir, yaklaşık 350 küf türünün mikotoksin üreticisi olduğu yapılan çalışmalarda belirlenmiştir. En önemli mikotoksin üreticisi küfler ise *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* türleridir (Gianessi, 2009).

2.1.1. Aflatoksinler

Mikotoksinler arasında en bilineni aflatoksinlerdir. Aflatoksinler, bazı *Aspergillus* türleri tarafından sentezlenen ve birçok gıdada sıklıkla tespit edilen bileşiklerdir. Aflatoksinlerin 18 farklı türü tespit edilmiştir ancak toksik etki bakımından 4 ana bileşiği (AFB_1, AFB_2, AFG_1 ve AFG_2) bulunmaktadır Aflatoksin türlerinin isimlendirilmesi ultraviyole ışık altında verdiği floresans renkler baz alınarak yapılmıştır. Mavi floresans verenler Blue (Mavi) kelimesinin baş harfi kullanılarak AFB_1 ve AFB_2, yeşil floresans verenler ise Green (Yeşil) kelimesinin baş harfi kullanılarak AFG_1 ve AFG_2 olarak adlandırılmıştır. Aflatoksin M_1 ve Aflatoksin M_2 ise Milk(Süt) kelimesinin baş harfinden türetilmiştir. AFM_1 ve AFM_2, AFB_1 ve AFB2'nin hidroksillenmiş metabolitleridir ve aflatoksinler ile kontamine yem tüketmiş olan çiftlik hayvanlarından elde edilen süt ve süt ürünlerinde tespit edilmektedir (Gürbay ve ark., 2006; Klich, 2007).

Aflatoksinler kimyasal olarak bifuran halkası ve lakton bağı içeren kumarin derivatlarıdır. AFB_2 bileşiği AFB_1' in, AFG_2 bileşiği ise AFG_1' in dihidro formlarıdır. Şekil 2.1.'de aflatoksinlerin kimyasal formülleri görülmektedir.



Şekil 2.1. Aflatoksinlerin kimyasal yapısı (Kłosowski ve ark., 2010)

Aflatoksinler, normal pişirme sıcaklıklarına ve pastörizasyon sıcaklıklarına karşı dayanıklı yapıdadırlar, dolayısıyla moleküllerinin bozunabilmesi için çok daha yüksek ısıl işlem uygulanması gerekmektedir. Çizelge 2.1.'de aflatoksin bileşiklerinin kimyasal yapıları, erime sıcaklıkları ve kapalı formülleri verilmiştir.

Çizelge 2.1. Aflatoksin Bileşiklerinin Kimyasal Yapıları ve Kapalı Formülleri (Anonymus,1; Vijaya-Kumar, 2018)

Aflatoksin	Kimyasal Formülü	Erime Noktası (^oC)
AFB_1	$C_{17}\ H_{12}\ O_6$	268
AFB_2	$C_{17}\ H_{14}\ O_6$	287.5
AFG_1	$C_{17}\ H_{12}\ O_7$	245
AFG_2	$C_{17}\ H_{14}O_7$	238.5
AFM_1	$C_{17}H_{12}O_7$	299
AFM_2	$C_{17}H_{14}O_7$	293

Aflatoksinlerin Sağlığa Etkisi

Aflatoksinler yüksek seviyede toksik özellik gösteren bileşiklerdir. İnsanların aflatoksinlerle etkileşimi gıdalar vasıtası ile gerçekleşmektedir. Aflatoksinli gıdaların tüketilmesiyle ortaya çıkan hastalık aflatoksikoz olarak adlandırılmıştır. Aflatoksikoz vakaları hem akut hem de kronik olarak görülebilmektedir (Naieni ve ark., 2020).

Gıdaların tüketiminden kısa bir süre içinde ortaya çıkan ve yüksek düzeyde aflatoksin maruziyetinin olduğu durumlarda akut aflatoksikoz vakaları görülmektedir. Akut aflatoksikoz vaka bazında aralıklı olarak ortaya çıksa da, dünyanın birçok ülkesini büyük salgınlarla etkilemiştir. Akut vakalarda toplu ölümler görülebildiği gibi; sarılık, ateş ve diyare, gibi semptomatik rahatsızlıklar da görülebilmektedir. 1974 yılında Hindistan'da mısır unu tüketimi sonucunda ortaya çıkan akut aflatoksikoz salgınında hastalarda sarılık, ateş, kusma ve anoreksi semptomları görülmüş ve

hastaların yaklaşık %30'unun öldüğü raporlanmıştır. 1981 yılında Kenya'da mısır ve mısır ürünü kaynaklı 20 hastada benzer klinik belirtilerle aflatoksikoz teşhisi konulmuş ve bu salgın sonucunda 12 kişi ölmüştür. Yine Kenya'da 2004 yılında, mısır ve mısır ürünü kaynaklı yaşanan aflatoksikoz salgınında 317 hastanın 125'inin öldüğü bildirilmiştir (Ngindu ve ark., 1982; Méndez-Albores ve ark., 2009; Domijan ve Peraica, 2010; Clavel ve Brabet, 2013; Gupta ve ark., 2017).

Aflatoksinlerin ölümcül olmayan dozları ise kronik bir toksisiteye neden olabilmektedir. Uzun süre düşük doz aflatoksin maruziyeti sonucunda ortaya çıkan kronik aflatoksikoz, akut aflatoksikozdan daha yaygındır. Vücut üzerine etkileri doza, maruz kalma süresine, aflatoksinin türüne, kişinin bağışıklık kuvvetine ve diyet veya beslenme durumuna göre değişebilmekle beraber kronik maruziyetin en çok bilinen sağlık etkisinin karaciğer kanseri olduğu tespit edilmiştir. Diğer kronik toksik sağlık etkileri ise teratojenik ve mutajenik etkileridir (Sinnhuber ve ark., 1977; Asim ve ark., 2011).

Aflatoksinlerin hepatotoksisitesi ve karsinojen etkileri yapılan birçok çalışma ile kesinlik kazanmıştır, bu nedenle Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından uzun bir süredir 1. grup insan karsinojeni olarak sınıflandırılmışlardır (IARC, 2002). Bu hastalık, AFB_1'in vücutta tümör baskılama görevini yapan p53 genine bağlanarak yapısını bozması neticesinde gerçekleşmektedir. p53 geninin insan kanserlerinde en sık mutasyona uğrayan gen olduğu ve tüm insan kanserlerinin yaklaşık %50'sinde bu mutasyon görüldüğü belirlenmiştir. Diyetle AFB_1 alımının, p53 geninin 249 kodonundaki G→T transversiyonları sonucunda karaciğer kanseri hastalığının oluşmasına neden olduğu tespit edilmiştir. (Bressac ve ark., 1991; Lunn ve ark., 1997; Van Vleet ve ark., 2006)

Aflatoksin Üreticisi Küfler

Üç farklı *Aspergillus* türünün *(A. flavus*, *A. parasiticus* ve *A. nomius)* aflatoksin oluşturma yeteneklerinin olduğu bilinmektedir. Aflatoksin çalışmaları ilk başladığında sadece *A. flavus*'un aflatoksin ürettiği düşünülmekteydi, ancak sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda diğer türlerin de aflatoksin üreticisi olduğu belirlenmiştir. (Özkaya ve Temiz, 2003; Doster ve ark., 2009). Çizelge 2.2'de aflatoksin üretici küfler tarafından üretilen mikotoksinler görülmektedir.

Çizelge 2.2. Aflatoksin Üreticisi Küfler Tarafından Üretilen Mikotoksinler (Feddern, 2013)

Tür	**Ürettiği Mikotoksinler**
A. flavus	AFB_1, AFB_2 ve Siklopiazonik Asit
A. parasiticus	AFB_1, AFB_2, AFG_1 ve AFG_2
A. nomius	AFB_1, AFB_2, AFG_1 ve AFG_2

Aspergillus türleri toprak kökenli olup, doğada yaygın bir şekilde bulunduğu için birçok iklim koşulunda kolayca üreyebilmektedir. Mısır, yerfıstığı, badem, Antep fıstığı, pamuk, incir, kayısı ve biber gibi birçok tarımsal üründe sıklıkla aflatoksin varlığı tespit edilmektedir. Bu ürünlerde aflatoksin oluşumu çoğunlukla hasat öncesinde, kurutma sırasında veya depolama sırasında gerçekleşebilmektedir (Lavkor ve ark., 2018; Clavel ve Brabet, 2013; Gürhayta ve Çağındı, 2016).

Hasat öncesinde aflatoksin oluşumu, çevresel koşullarla bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Aflatoksin oluşumu için en önemli koşullar sıcaklık, nem, pH, ortamın gaz kompozisyonu ve koloni büyüklüğüdür. *A. flavus*, geniş bir sıcaklık aralığında (12-48°C) gelişebilmesine karşın, optimum gelişme sıcaklığı 37 °C'dir. Maksimum toksin üretimini ise 25 °C'de yapmaktadır (Pitt, 1993; Rustom, 1997).

A. flavus ve *A. parasiticus* diğer bazı *Aspergillus* türleri ile birlikte kserofilik küfler içinde yer alır. *Aspergillus*'ların optimum gelişmeleri için gereken su aktivitesi değeri 0.97-0.99 olmakla birlikte, gelişimlerini 0.80 su aktivitesi değerinin altında da sürdürebilirler. Aflatoksin oluşumu için gereken su aktivitesi değerleri *A. parasiticus* için 0.87; *A. flavus* için 0.83'tür. Aflatoksin oluşturan küflerin en yüksek düzeyde aflatoksin oluşturmaları pH 5.0-6.0' da gerçekleşir (Tunail, 2000; Özkaya ve Temiz, 2003).

Antep fıstığında Aflatoksin Limitleri

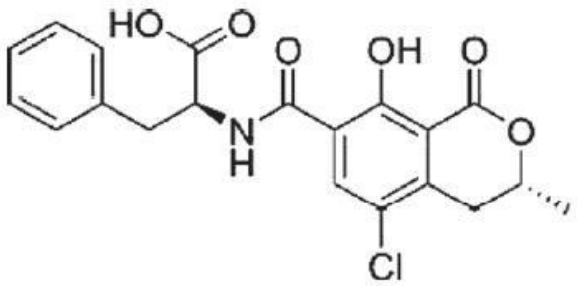
Aflatoksinlerin çok düşük miktarlarının bile akut durumlarda kansere neden olduğunun tespit edilmesinden sonra, bütün ülkeler aflatoksin riski taşıyan gıdalara özgü yasal limitler belirlemiştir. Ülkemizde aflatoksinlerin gıdalarda maksimum bulunma limitleri "Türk Gıda Kodeksi (TGK) Bulaşanlar Yönetmeliği"nde belirlenmiştir. Ülkemiz Gıda Mevzuatı Avrupa Birliği (AB) yönetmelikleriyle uyumlu olarak yürürlüğe girmektedir. AB, 2006 yılından beri (2006/1881) yürürlükte olan "Gıdalar İçin Maksimum Bulaşanlar Yönetmeliği"ni 2023 yılında (2023/915) güncellemiştir. Güncellenen yönetmelikte Antep fıstığında aflatoksin için belirlenen limitlerde (AFB1:8 µg/kg; Toplam Aflatoksin:10 µg/kg) bir değişiklik yapılmadığı için, bu konuda ülkemiz yönetmeliği ile AB yönetmeliği uyum halindedir. (Anonim 1; Anonymus 2). TGK ve AB yönetmeliklerinde belirlenmiş olan, Antep fıstığı için maksimum aflatoksin limitleri Çizelge 2.3'de verilmiştir.

Çizelge 2.3. Antep Fıstığında Aflatoksin Limitleri (µg/kg) (Anonim 1)

No	GIDA MADDELERİ	Maksimum Limit (µg/kg)	
	AFLATOKSİN	B_1	Toplam ($B_1+B_2+G_1+G_2$)
1	Badem, Antep fıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	12	15
2	Badem, Antep fıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8	10

2.1.2. Okratoksinler

Okratoksinler, çeşitli *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri tarafından sekonder metabolit olarak üretilen mikotoksinlerdir. Okratoksin grubuna dahil on farklı molekül mevcuttur, bunlar arasında en yaygın ve toksik olanı Okratoksin A (OTA)' dır. OTA'nın kimyasal yapısı Şekil 2.2'de görülmektedir.



Şekil 2.2. OTA'nın Kimyasal Yapısı (Zöllner ve Mayer-Helm, 2006)

OTA üreten küfler farklı iklimlerde ve farklı bitkilerde büyüyebildiği için tarım ürünlerinin OTA ile kontaminasyonu dünyanın her bölgesinde meydana gelebilir. OTA, tahıllar ve tahıl ürünleri (ekmek, bira vs.), üzüm ve üzüm ürünleri (şarap, kuru üzüm vs.) kakao, kahve, zeytin ve zeytinyağı gibi çok çeşitli gıdalarda tespit edilebilmektedir (Bayman ve ark., 2002; Var ve ark., 2009).

OTA'nın Sağlık Üzerine Etkileri

OTA insanlar ve hayvanlar için toksik etkiye sahip bir metabolittir. Başlıca etkisi ise nefrotoksisite hastalığıdır. OTA içeren gıdaların düzenli tüketimi sonucunda böbreklerde OTA

birikmekte ve bunun sonucunda Balkan Endemik Nefropatisi (BEN) adlı böbrek bozukluğu hastalığı meydana gelmektedir. Ayrıca, OTA'nın sağlık üzerine immunosupresif, teratojenik, genotoksik ve karsinojenik etkileri de bulunmaktadır. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) OTA'yı olası karsinojen (Grup 2B) olarak sınıflandırmıştır (IARC, 2002).

OTA Üreticisi Küfler

OTA üreten üç ana küf türü *P. verrucosum, A. ochraceus* ve *A. carbonarius'*tur. Bu küflerin her biri fizyoloji ve ekoloji açısından farklılık gösterdiği için, kontamine ettikleri gıdalar da farklılık göstermektedir (Gupta, 2011).

P. verrucosum'un ana habitatı Kuzey Avrupa ve Kanada'nın serin ve ılıman iklimlerindeki tahıl bitkileri olduğu için, tahıl ürünlerinde sıklıkla OTA tespit edilebilmektedir. Bu tahılları tüketen hayvanlardan elde edilen peynir ve et ürünleri gibi ürünlerde de OTA bulunabilmektedir. Buna karşılık, *A. ochraceus* üzüm, nohut, fındık, biber ve kuru meyve gibi kurutulmuş ve depolanmış gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu nedenle üzüm ve şarapta OTA kontaminasyonuna sıklıkla rastlanmaktadır. *A. niger* çoğunlukla *A. carbonarius* ile birlikte bulunur ve genellikle sıcak iklimlerde fındık, taze meyve ve bazı sebzelerden izole edilir. Ancak, *A. niger* izolatlarının sadece %1-2'sinin OTA ürettiği rapor edilmiştir (Var ve ark., 2007; Magan ve Olsen, 2004; Zulfiqar ve ark., 2015).

Zeytinde OTA Limitleri

OTA, olası karsinojen olarak sınıflandırılan bir mikotoksin olduğundan, dünya çapında gıda otoriteleri OTA'nın gıdalarda maksimum bulunma limitleri için yasal düzenlemeler yapmışlardır. Türk Gıda Kodeksi (TGK) Bulaşanlar Yönetmeliğinde OTA'nın, bebek gıdaları, üzüm ve üzümden üretilen ürünler, baharatlar, tahıllar ve kahve ürünleri için maksimum bulunma yasal limitleri belirlenmiştir. Bu limitler gıdaya göre farlılık göstermekte olup 0.5-15 µg/kg aralığında değişmektedir. AB'nin 2023 yılında güncellenen "Gıdalar İçin Maksimum Bulaşanlar Yönetmeliği"nde (2023/915), birçok yeni gıda (hurma şurubu, Antep fıstığı, kurutulmuş otlar, bitkisel infüzyonlarda kullanım için zencefil kurutulmuş kökleri, bitkisel infüzyonlarda yeya kahve ikamelerinde kullanım için kurutulmuş hatmi kökleri, kurutulmuş karahindiba kökleri, portakal çiçekleri, ayçekirdeği, kabak çekirdeği, karpuz çekirdeği, kenevir tohumu ve soya fasulyesi) için maksimum OTA bulunma üst limiti belirlenmiştir, ancak yurtiçi ve yurtdışı birçok çalışmada zeytin ve zeytin ürünlerinde OTA tespit edilmiş olmasına rağmen, TGK, AB ve diğer yurtdışı kodekslerde bu ürünler ile ilgili henüz yasal bir üst limit belirlenmemiştir (Anonim 1, Anonymus 2).

2.1.3. Yağlı Tohumlar ve Bitkisel Yağlarda Mikotoksin Varlığı

Yağlı tohumlar ve meyveler, çevresel koşulların etkisiyle kolayca mikotoksinlerle kontamine olabilmektedir. Yüksek sıcaklıklar, yoğun yağış ve bağıl nem, küf üremesi ve mikotoksin üretimi

için son derece elverişli koşullardır. Başta aflatoksinler, olmak üzere zearalenon, OTA, deoksinivalenol ve sitrinin gibi mikotoksinler yağlı tohumlarda sıkça görülmektedir (Samarajeewa ve ark., 1983; Bordin ve ark., 2014; Mahmoudi ve ark., 2014).

Yağlı tohumlarda mikotoksin üretimi, ham maddenin cinsine ve bileşimine bağlı olarak farklılık göstermektedir. Örneğin yer fıstığı aflatoksin üretimi için uygun bir besin bileşimine sahipken, soya fasulyesi bileşiminde çok az çinko (fitik asit ile kompleks halinde) bulunması nedeniyle aflatoksin üretimi için iyi bir substrat olmadığı belirlenmiştir (Banu ve Muthumary, 2010).

Karbon, azot, amino asitler ve eser elementler gibi besin maddeleri küflerin mikotoksin sentezi üzerine etki etmektedir. Bunlara ek olarak, yağlı tohumun bileşimindeki serbest ve esterleşmiş yağ asidi moleküllerindeki çift bağların sayısının yüksek olması, aflatoksin üretimini artırmaktadır (Fanelli ve Fabbri, 1989; Cuero ve ark., 2003).

Yağlı tohumların yanı sıra yenilebilir yağlarda da mikotoksin varlığı tespit edilebilmektedir. Bu durum hammaddede oluşan mikotoksinin proses sırasında yağa geçişiyle gerçekleşmektedir (Bordin ve ark., 2014). Yapılan tarama çalışmalarında birçok bitkisel yağda mikotoksin bulanabileceği gösterilmiştir.

Bitkisel Yağlarda Aflatoksin Varlığı ile İlgili Yapılmış Olan Çalışmalar

Samarajeewa ve ark., (1983), Sri Lanka'da yaptıkları bir çalışmada yerel üreticilerden topladıkları 115 hindistan cevizi yağı örneğinde ortalama 186 µg/kg AFB_1 tespit etmişlerdir.

Banu ve Muthumary, (2010) Karnataka'da bulunan ayçiçek yağı rafinerisinden üretilen ayçiçek yağlarında AFB_1 kontaminasyonunu araştırdıkları çalışmada, toplamda 23 ham yağ örneğinin 10'unda AFB_1 tespit ederken, rafinasyon sonucunda yağ örneklerinde AFB_1 tespit edememişlerdir.

Elzupir ve ark., (2010) Sudan'da küçük ölçekli fabrikalardan, marketlerden topladıkları 21 adet yer fıstığı yağı ve 19 adet ayçiçeği yağı örneğinde aflatoksin varlığını araştırdıkları çalışmada, yer fıstığı yağında 5.7-100 µg/kg aralığında Toplam Aflatoksin tespit etmişler, ayçiçek yağında ise 0.6-175.7 µg/kg aralığında Toplam Aflatoksin tespit etmişlerdir.

Idris ve ark., (2010) Sudan'ın Kordofan, Gezira ve Hartum eyaletlerinden 28'i yerfıstığı yağı, 16'sı susam yağı ve 8'i pamuk yağı olmak üzere 56 yemeklik yağ örneğinde AFB_1 varlığını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda susam yağı örneklerinin 7'sinde (% 43.75) 0.2-.08 µg/kg aralığında ve yerfıstığı yağı örneklerinin 1'inde (% 3.57) 0.6 µg/kg AFB_1 tespit etmişlerdir. Pamuk yağı örneklerinin hiçbirinde AFB_1 tespit edememişlerdir.

Yang ve ark., (2011) Çin Halk Cumhuriyeti'nin Hebei eyaletinde 76 yemeklik yağ örneğinde LC-MS/MS yöntemini kullanarak aflatoksin varlığını araştırmışlardır. Analize aldıkları 76 örneğin 31'i yerfıstığı yağı, 31'i karışım yağı, 7'si soya yağı, 5'i mısırözü yağı, 1'i ayçiçek yağı ve 1'i balık yağından oluşmaktadır. Çalışma sonucunda yerfıstığı yağı örneklerinin %48.4'ünde 0.15–2.72 µg/kg

aralığında, karışım yağı örneklerinin ise %19.4'ünde 0.14-0.24 µg/kg aralığında Toplam Aflatoksin bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Deng ve ark., (2018) Çin Halk Cumhuriyeti'nde yerfıstığı yağında AFB_1 ve Bisfenol A'nın UPLC-MS/MS cihazında birlikte analiz edildiği bir metot geliştirmişlerdir. Söz konusu metot uygulanarak yapılan çalışmada yerel marketlerden toplanan 52 yerfıstığı yağının 43'ünde 0.5-69.40 µg/kg aralığında AFB_1 tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Qi ve ark., (2019) Çin Halk Cumhuriyeti'nin Guangdong eyaletinde, 209'u 2016 yılında, 218'i de 2017 yılında olmak üzere, yerel çiftçi marketlerinden topladıkları 427 yerfıstığı yağı örneğinde AFB_1 varlığını araştırmışlardır. 2016 yılında alınan örneklerin 47'sinde (%22.5) ortalama 29.4 µg/kg AFB_1 ve 2017 yılında alınan örneklerin 33'ünde (%15.10) ortalama 17.10 µg/kg AFB_1 bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Chen ve ark., (2019) Çin ve Etiyopa'da satılan 48 yemeklik yağ örneğinde AFB_1 varlığını araştırmışlardır. Örneklerin 27'sini Çin'den alınan örnekleri oluşturmuştur ve bu örneklerin 8'inde 0.03-2.23 µg/kg AFB_1 bulunduğunu tespit etmişlerdir. Etiyopya'dan alınan 21 örneğin ise 12'sinde 0.07-100 µg/kg AFB_1 bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Waqas ve ark., (2021)Pakistan'da 213'ü yerli üretim ve 180'i ithal edilmiş yağlardan olmak üzere toplam 393 yemeklik yağ örneğinde (ayçiçek yağı, soya yağı, kanola yağı, zeytinyağı, mısırözü yağı, hardal yağı) aflatoksin varlığını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda 25 yerli üretim ayçiçek yağı örneğinin 15'inde ortalama 15.10 µg/kg, 20 ithal ayçiçek yağı örneğinin 12'sinde ortalama 11.16 µg/kg, 15 yerli üretim soya yağının 10'unda ortalama 25.61 µg/kg, 18 ithal soya yağının 9'unda ortalama 5.93 µg/kg, 50 yerli üretim kanola yağının 22'sinde ortalama 11.80 µg/kg, 42 ithal kanola yağının 18'inde ortalama 9.25 µg/kg, 18 yerli üretim zeytinyağının 8'inde ortalama 12.78 µg/kg, 20 ithal zeytinyağı örneğinin 8'inde ortalama 7.47 µg/kg, 55 mısırözü yerli üretim mısırözü yağının 20'sinde ortalama 8.83 µg/kg, 45 ithal mısırözü yağının 10'unda 3.98 µg/kg, 50 yerli üretim hardal yağının 28'inde 13.43 µg/kg ve 35 ithal hardal yağının 21'inde 11.56 µg/kg Toplam Aflatoksin bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Poormohammadi ve ark., (2021) İran'ın batısında bulunan Hamadan bölgesindeki yerel marketlerden ve üreticilerden topladığı 18'i yerfıstığı yağı, 15'i susam yağı ve 10'u zeytinyağı olmak üzere toplam 43 yemeklik yağ örneğinde aflatoksin varlığını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda yerfıstığı yağı örneklerinin 15'inde (% 83.13) ortalama 13.81 µg/kg ve susam yağı örneklerinin 9'unda (% 83.13) ortalama 6.08 µg/kg Toplam Aflatoksin ile zeytinyağı örneklerinin 6'sında (%60.19) 5.15 µg/kg Toplam Aflatoksin bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Ji ve ark., (2022) Çin Halk Cumhuriyeti'nde marketlerden ve yağ fabrikalarından topladığı 63 yağ örneğinde aflatoksin varlığını araştırmışlardır. Çalışmada marketlerden toplanan örneklerin 6'sı soya yağı, 9'u susam yağı, 5'i kanola yağı, 17'si yerfıstığı yağı, 4'ü ayçiçek yağı, 7'si mısırözü yağı, 8'i zeytinyağı, 3'ü pirinç kepeği yağı, 2'si pamuk yağı, 1'i kamelya yağı ve 1'i de palm yağıdır.

Çalışma sonucunda örneklerin 25'inde (%39.7) 1.10-88.3 µg/kg aralığında Toplam Aflatoksin tespit etmişlerdir.

Var ve Tekin (2022), Adana piyasasından topladıkları 50 rafine ayçiçek yağı ve 44 rafine mısırözü yağında aflatoksin varlığını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda ayçiçek yağı örneklernin 16 (%32)'sında 0.06-0.198 µg/kg aralığında, mısır özü yağı örneklernin ise 28 (%63.63)'inde 0.03-0.144 µg/kg aralığında Toplam Aflatoksin varlığını tespit etmişlerdir.

Bitkisel Yağlarda OTA Varlığı ile İlgili Yapılmış Olan Çalışmalar

Papachristou ve Markaki, (2004), Yunanistan'da 1998-2001 yılları arasında piyasadan topladıkları 50 zeytinyağı örneğinin 44'ünde ortalama 0.267 µg/kg düzeyinde OTA varlığı tespit etmişlerdir. Örneklerin 9'unda OTA miktarının 0.06-0.10 µg/kg aralığında olduğu, 15'inde 0.10-0.20 µg/kg aralığında olduğu, 10'unda 0.20-0.50 µg/kg aralığında olduğu ve 10'unda 0.50 µg/kg 'dan daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Finoli ve ark. (2006), Sicilya'da üretilen 28 sızma zeytinyağı ile yeşil ve siyah zeytinden oluşan toplam 45 adet örnekte OTA varlığını inceledikleri çalışmada; zeytinyağlarının 13'ünde 0.052-0.244 µg/kg aralığında, zeytinlerin ise 30'unda 0.101-8.391 µg/kg aralığında OTA varlığını tespit etmişlerdir.

Ferracane ve ark. (2007), İtalya ve Kuzey Afrika'dan topladıkları 30 zeytinyağı örneğinin AFB_1 ve OTA içeriğini tespit etmek için yaptıkları çalışmada; örneklerin 24'ünde ortalama 2.01 µg/kg OTA, 3'ünde ise ortalama 1.3 µg/kg AFB_1 bulunduğunu tespit etmişlerdir.

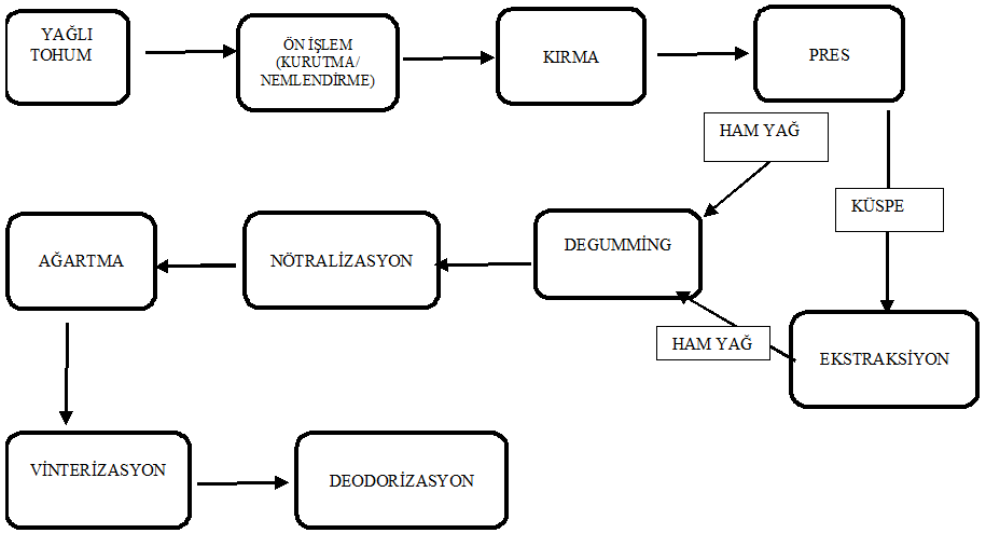
Dazkır, (2010) İstanbul piyasasından topladığı 30 zeytin ve 30 zeytinyağı örneğinde aflatoksin varlığını araştırmıştır. Araştırma sonucunda zeytin örneklerinin 22'sinde 0.54-2.99 µg/kg aralığında, zeytinyağı örneklerinin ise 25'inde 0.36-2.10 µg/kg aralığında OTA tespit etmiştir. Ayrıca 1 zeytin ve 1 zeytinyağı örneğinde 0.03 µg/kg miktarında aflatoksin tespit etmiştir.

Var ve Tekin (2022) Adana piyasasından 39'u natürel sızma zeytinyağı ve 14'ü riviera zeytinyağı olmak üzere toplam 53 zeytinyağı örneğinde OTA varlığını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda natürel sızma zeytinyağı örneklerinin 24 (%61.54)'ünde 0.12-9.15 µg/kg aralığında, riviera zeytinyağı örneklerinin ise 2 (%14.29)'sinde 0.12-0.15 µg/kg aralığında OTA varlığı tespit etmişlerdir.

2.2. Bitkisel Yağ Üretimi

Yağ endüstrisinde üretilen bitkisel yağlar, yaklaşık 22 farklı hammaddeden temin edilmektedir. Ayçiçeği, mısır, pamuk tohumu (çiğit), soya, yerfıstığı, susam, kanola ve aspir gibi tek yıllık bitkiler yağ sanayisinin en önemli hammaddeleridir. Çok yıllık bitkilerden ise zeytin, hindistan cevizi ve palm (hurma) yağ endüstrisinde yüksek miktarlarda kullanımı olan ürünlerdir. Yağ üretimi genellikle tohuma bir ön işlem uygulandıktan sonra, önce kırma devamında ise presleme etkisi ile yağ ve küspenin ayrılması ilkesine dayanmaktadır. Presleme işlemi ile yağ tam olarak elde

edilememekte, bir miktar yağ küspede kalmaktadır. Küspede kalan yağ kimyasal ekstraksiyon ile geri kazanılarak küspe yağsız hale getirilmektedir. Elde edilen ham yağın durumuna göre rafinasyon işlemi gerçekleştirilmektedir. Rafinasyon işlemi genellikle degumming, nötralizasyon, ağartma, deodorizasyon ve vinterizasyon basamaklarından oluşmaktadır (Shahidi, 2005; Matthäus, 2007). Yağlı tohumlardan rafine yağ elde edilme prosesi Şekil 2.3.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Yağlı Tohumlardan Rafine Yağ Elde Edilmesi (Shahidi, 2005; Matthäus, 2007)

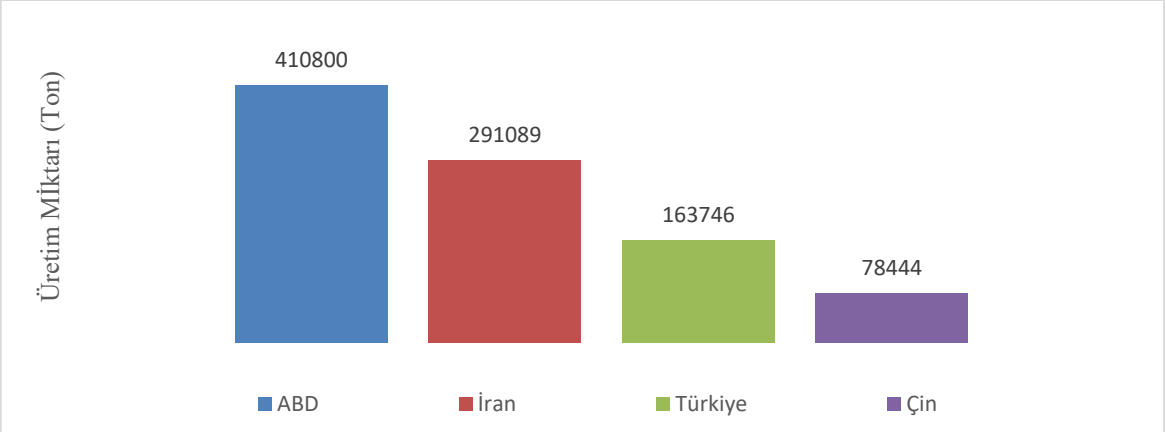
2.2.1. Antep fıstığı Yağı Üretimi

Antep fıstığı, sakızağacıgiller (*Anacardiaceae*) familyasından *Pistacia* cinsine ait sert kabuklu bir meyve türüdür. *Pistacia* cinsine ait 11 tür vardır ve bu türler arasında ticari bir değeri olan ve tarımı yapılan tek tür Antep fıstığı (*Pistacia vera* L.)'dır (Bozorgi ve ark., 2013).

Pistacia türlerinin kökenine yönelik yapılan araştırmalarda, Türkmenistan, Afganistan ve İran üçgeni arasında kalan Batı Asya Bölgesi ile Gaziantep, Suriye ve Filistin hattı üzerindeki Ortadoğu Bölgesinin bu türlerin anavatanı olduğu kabul edilmiştir (Woodroof, 1994; Xie ve ark., 2014; Özbek ve ark., 2020). Antep fıstığının (*Pistacia vera* L.) kültüre alınması ise Hitit Uygarlığı tarafından Anadolu topraklarında gerçekleşmiştir. Üstün lezzet özellikleri sayesinde, kral sofralarında önemli bir yere sahip olan Antep fıstığının diğer bölgelere yayılması ise MS 1. yüzyıl civarlarında Roma Uygarlığı'nın seferleri ile gerçekleşmiştir. Bu sayede Akdeniz havzasındaki birçok bölgeye yayılmıştır. Kuzey Amerika'ya geçişi ise 19. yy'da gerçekleşmiştir (Kafkas ve Perl, 2001).

Günümüzde Antep fıstığı tarımı, dünyanın subtropik iklim kuşağındaki bölgelerinde yoğun olarak yapılmaktadır. Antep fıstığının yüksek periyodisite eğilimi göstermesi, yani bir yıl yüksek verim alınırken sonraki yıl çok düşük verim alınıyor olması, Antep fıstığı yetiştiricisi olan ülkelerin yıllık üretim miktarlarının ve dünya sıralamasındaki yerlerinin her yıl farklılık göstermesine neden olmaktadır. Periyodisite kaynaklı üretim miktarı dalgalanmalarını elemine etmek için bir

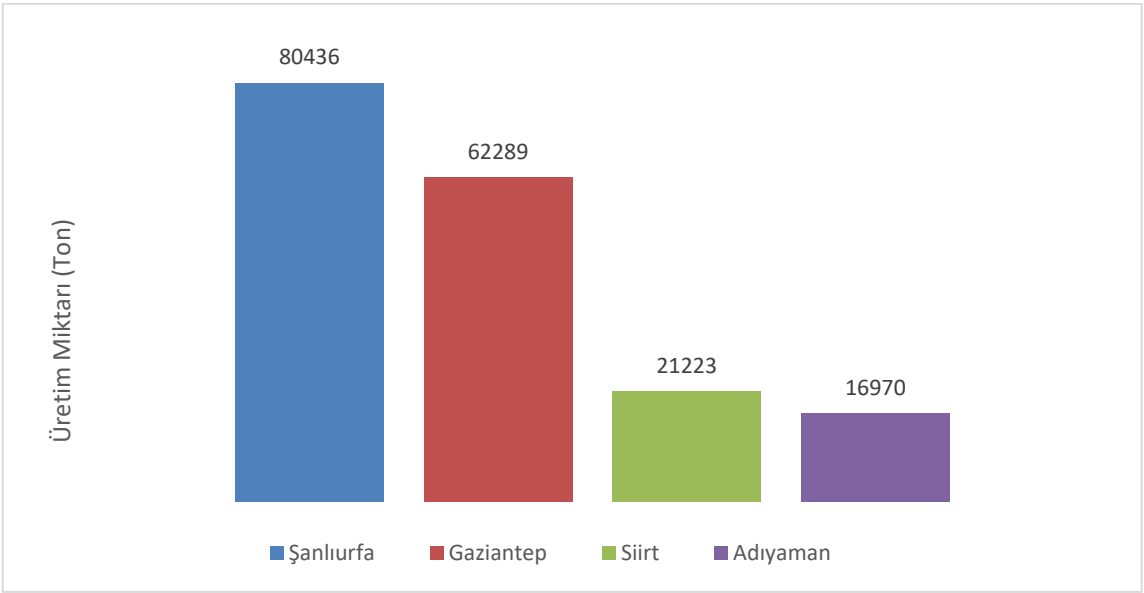
ülkenin/bölgenin üretim miktarı hesaplanırken son beş yılın ortalaması alınmaktadır. Şekil 2.4' te son beş yıla ait Antep fıstığı üretim miktarı görülebilmektedir.



Şekil 2.4. 2017-2021 Yılları Arası Dünya Antep Fıstığı Ortalama Üretim Miktarları (Anonymus 3)

FAO'nun 2017-2021 yılları arasındaki Antep fıstığı üretim verileri incelendiğinde, dünyada en fazla üretimi yaklaşık 411.000 ton ile ABD yapmaktadır. Bunu yaklaşık 292.000 ton üretimiyle İran ve yaklaşık 164.000 ton ortalama üretimi ile Türkiye izlemektedir (Anonymus 3).

Türkiye'de Antep fıstığı yetiştiriciliği, doğal yayılım alanında olması ve ekolojisinin uygun olması gibi nedenlerle Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yoğunlaşmıştır. Ülkemizde bulunan Antep fıstığı ağaç sayısının %90'ı, üretim alanının ise %92' si bu bölge tarafından gerçekleştirilmektedir (Yavuz ve ark., 2016). 2018-2022 yılları arasında iller bazında üretim miktarları Şekil 2.5'de verilmiştir (Anonim 2).



Şekil 2.5. 2018-2022 Yılları Arası Türkiye Antep Fıstığı Ortalama Üretim Miktarları (Anonim 2)

100 gram kurutulmuş iç Antep fıstığının bileşiminde % 51.15 yağ, % 17.64 protein, % 16.56 karbonhidrat, %4.51 su bulunmakta olup yaklaşık 600 kalori içermektedir. (Küçüköner ve Yurt, 2003; Tokuşoğlu, 2011; Anonim 3).

Antep fıstığında bulunan yağ asitlerinin yaklaşık %90'ı doymamış yağ asitlerinden oluşmaktadır. Antep fıstığı yağının yağ asitleri kompozisyonu incelendiğinde, % 68-70 oleik asit, % 17-18 linoleik asit, % 9-10 palmitik asit, % 2 stearik asit, % 0.50-1.50 palmitoleik asit ve % 0.15-0.55 oranında linolenik asit içermektedir. (Küçüköner ve Yurt, 2003; Acar ve ark., 2008; Chahed ve ark., 2008). Kurutulmuş iç Antep fıstığında bulunan majör yağ asitleri ve oranları Çizelge 2.5'de verilmiştir (Ballistreri ve ark., 2011).

Çizelge 2.4. Kuru İç Antep Fıstığında Bulunan Majör Yağ Asitleri (Ballistreri ve ark., 2011)

Yağ Asidi	**Miktarı (%)**
Oleik Asit	66.58
Linoleik Asit	11.32
Palmitik Asit	5.91
Gondoik Asit	5.64
Stearik Asit	4.07
Behenik Asit	1.43
Araşidik Asit	0.91
Palmitoleik Asit	0.26
Miristik Asit	0.04
Lignoserik Asit	0.02
Margarik Asit	0.02

Antep fıstığı meyvesinden yağ ekstraksiyonu mekanik presleme yoluyla yapılabilmektedir. Mekanik presleme işlemi hidrolik pres cihazı ile veya vidalı pres cihazı ile yapılabilmektedir. Hidrolik preste yağ ekstraksiyonu için yaklaşık 15 tonluk bir kuvvet uygulanarak iç Antep fıstığı meyvelerinden yağ elde edilebilmektedir. Vidalı preste ise Şekil 2.6'da görüldüğü gibi üstten besleme yapılarak küspenin ve yağın farklı yerlerden çıkışı sağlanmaktadır. Küspenin çıkıp yağın ayrılmasını sağlamak için cihazın çıkış kısmına ısı verilmektedir. Bu metotla elde edilen yağ 50-55 ^{o}C civarında bir sıcaklık ile cihazdan çıkmaktadır (Al Juhaimi ve ark., 2018).

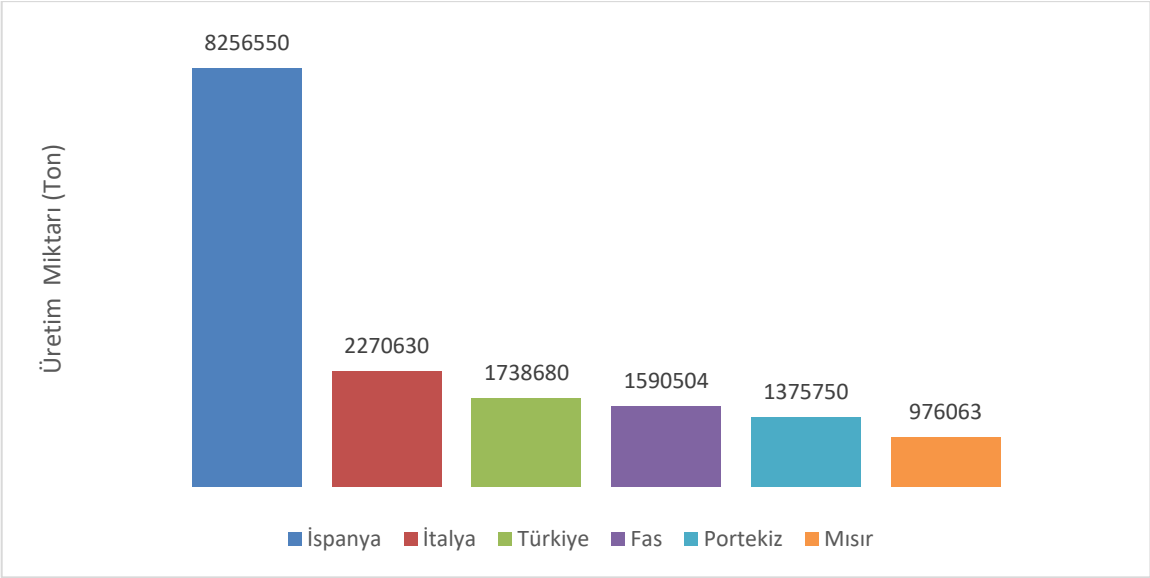


Şekil 2.6. Vidalı Pres Yağ Ekstraksiyon Cihazı

2.2.2. Zeytinyağı Üretimi

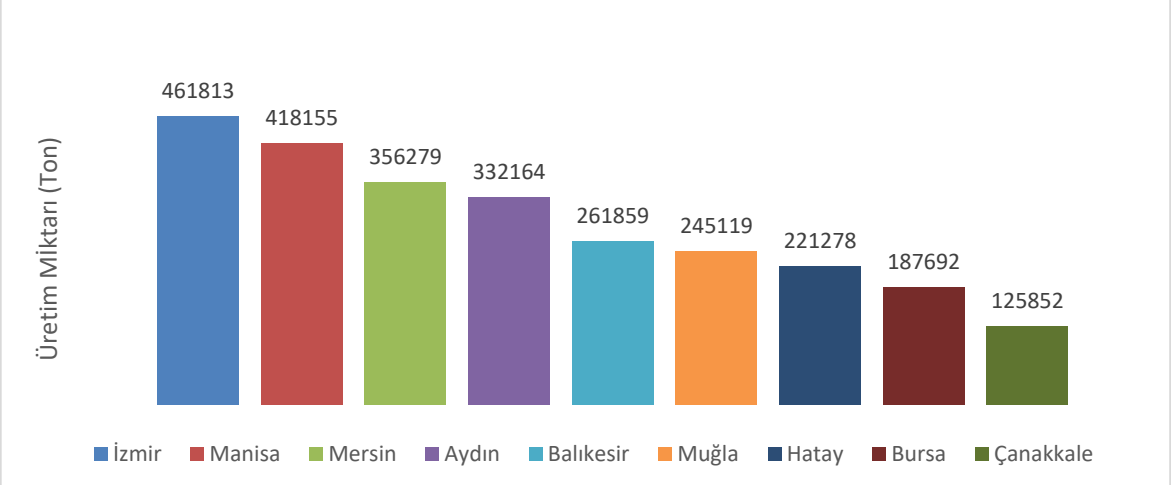
Oleaceae familyasının bir türü olan zeytinin (*Olea europaea* L.) tarihi neredeyse insanlık kadar eskidir. Mitolojide barış ve bilgelik sembolü olarak betimlenen zeytin ağacı ile ilgili yapılan arkeolojik çalışmalarda, yabani çeşitlerin keşfinin 20.000 yıl kadar geriye gittiği, günümüzde kullanılan çeşitlerin ise yaklaşık 4.000 yıl önce kültüre alınarak tarımının yapılmaya başlandığı belirtilmektedir (Kislev ve ark., 1992; Lanza, 2011; Kiritsakis, 2017).

Zeytin ağacının kökenine ilişkin yapılan araştırmalarda, bitkinin anavatanının Hatay, Gaziantep ve Kilis arasında kalan bölge olduğu belirlenmiştir. Tarihsel süreçte diğer bölgelere yayılımı Suriye üzerinden öncelikle Lübnan ve Mısır'a olmuş, sonrasında ise Akdeniz'e kıyısı olan tüm ülkelere yayılmıştır. Halen bu bölgelerde yaygın olarak zeytin yetiştiriciliği yapılmaktadır (Margaritis ve Jones, 2008; Groman-Yaroslavski ve ark., 2016). FAO'nun 2021 yılı üretim verilerine göre dünya zeytin üretiminin % 94.5'i Akdeniz Havzasındaki ülkeler tarafından karşılanmaktadır. Zeytin üretiminde lider konumdaki ülke İspanya olup, onu sırasıyla İtalya, Tunus ve Fas takip etmektedir. Ülkemiz ise % 7.83 oran ile dünya zeytin üretiminde beşinci sırada yer almaktadır. Şekil 2.7'de 2021 yılında en fazla zeytin üreten ülkelerin üretim miktarları verilmiştir (Anonymus 3).



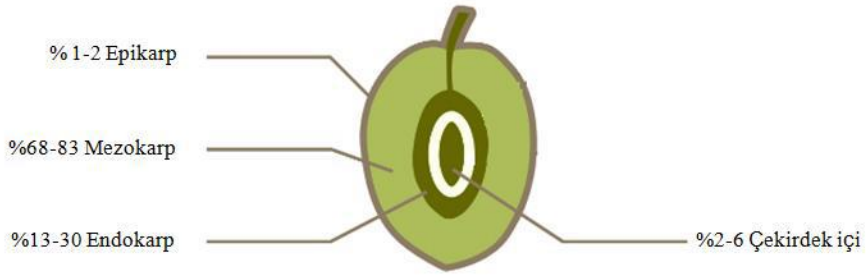
Şekil 2.7. 2021 Yılında Dünyada En Fazla Zeytin Üretimi Yapan Ülkeler (Anonymus 3)

Ülkemizde zeytin üretimi ılıman iklim şartlarının görüldüğü tüm alanlarda yapılabilmektedir. Zeytin üretiminin en yoğun yapıldığı lokasyon Ege Bölgesi'dir. Ege Bölgesini sırasıyla Marmara Bölgesi ve Akdeniz Bölgesi takip etmektedir (Anonim 2). İllere göre zeytin üretim miktarları Şekil 2.8'de verilmiştir.



Şekil 2.8. 2021 Yılında Türkiye'de Zeytin Üretiminin İllere Göre Dağılımı (Anonim 2)

Zeytin danesinin yapısı incelendiğinde, mumlu bir epikarp, besin içeriği yüksek bir mezokarp ve çekirdek tohumunu içeren odunsu bir endokarptan oluştuğu görülmektedir. Şekil 2.9'da zeytin çekirdeğinin anatomik yapısı görülmektedir.



Şekil 2.9. Zeytin çekirdeğinin anatomik yapısı (Bianchi, 2003)

Meyvenin bileşimi ise üretildiği bölgenin ekolojisinden, tarımsal uygulamalara kadar çok sayıda faktöre bağlı olarak farklılık göstermektedir. Çizelge 2.5'de zeytin meyvesinin besin bileşenleri görülmektedir.

Çizelge 2.5. Zeytin Meyvesinin Besin Bileşenleri (Boskou ve ark., 2006)

Adı	**Miktarı (%)**
Yağ	22.00
Protein	1.60
Karbonhidrat	19.10
Diyet Lif	5.80
Su	50.00
Kül	1.50
Enerji	143 kcal

Zeytin meyvesi salamura işleminden geçirilip sofralık bir meyve olarak doğrudan tüketilebildiği gibi, fiziksel işlemler yardımı ile yağı çıkarılarak doğal bir meyve yağı olarak da kullanılmaktadır. Dünyada üretilen zeytinlerin ortalama %90'ı yağlık, %10'u sofralık olarak kullanılırken ülkemizde üretilen zeytinlerin yaklaşık %60-70'i yağlık, %30-40'ı sofralık olarak değerlendirilmektedir (Kiritsakis, 2017).

Ülkemiz, zeytinin anavatanı olduğu için zeytin çeşitliliği bakımından oldukça zengindir. Gemlik, Ayvalık, Memecik, Erkence, Domat, Saurani, Sarıulak, Kilis Yağlık ve Nizip Yağlık gibi çok kaliteli sofralık ve yağlık zeytin çeşitleri yaygın olarak yetiştirilmektedir (Tibet, 2022).

Zeytinde yağ oranı çeşide göre %10-30 aralığında değişmektedir. Zeytinyağı; zeytin ağacının olgun meyvelerinden mekanik yolla elde edilen, oda sıcaklığında sıvı olan, berrak, yeşilden sarıya değişen renkte, kendine özgü tat ve kokuda, doğal olarak tüketilebilen önemli bir bitkisel kaynaklı yağdır. Zeytinyağında bulunan majör yağ asidi bileşenleri ve oranları Çizelge 2.6'da verilmiştir.

Çizelge 2.6. Zeytinyağında Bulunan Majör Yağ Asidi Bileşenleri ve Oranları (Moulodi ve ark., 2015)

Yağ Asidi	Miktarı (%)
Oleik Asit	55-83
Linoleik Asit	3.5-23
Palmitik Asit	7.5-20
Stearik Asit	0.5-50
Linolenik Asit	0.1-1.5
Palmitoleik Asit	0.3-3.5

Zeytinyağı rafine edilmeden tüketilebilen bir üründür. Zeytinyağı ekstraksiyon prosesi kendine özgü metotlarla yapılmaktadır. Proses başlangıcında zeytin öncelikle kırma prosesinde hamur haline getirilir, daha sonra bu hamura yağ moleküllerinin birleşip damlacıklar haline gelmesi amacıyla malaksasyon (30-40 ^{o}C'de 2 saat yoğurma) işlemi uygulanır. Son olarak presleme ve ayırma prosesleri sonrası, zeytinyağı, pirina ve karasu (atık su) elde edilmektedir. Bu işlem sonrası elde edilen zeytinyağı ham olarak tüketilebilir haldedir fakat hammaddede yağa işleme öncesi enzimatik veya mikrobiyolojik bir bozunma gerçekleşmişse yağın kalitesi de bu durumdan etkilenir. Bu durumdaki zeytinyağlarına da rafinasyon işlemi uygulanmaktadır (Kiritsakis, 2017).

2.2.3. Yağların Rafinasyonu

Presleme ya da çözgen ekstraksiyonu ile elde edilen ham yağlar, değişik miktarlarda yağ dışı safsızlıklar içermektedir. Bu maddeler; fosfolipidler, renk maddeleri, serbest yağ asitleri, kısmi gliseridler, oksidasyon ürünleri, hidrokarbonlar, iz metaller, tat ve koku maddeleri, steroller ve tokoferollerdir. Bu bileşenlerin pek çoğu yağın tat ve koku gibi duyusal özellikleri ile raf ömrü üzerinde olumsuz etkiye sahiptir (Boskou, 2006) Rafinasyon işlemi, yağ dışı safsızlıkların yağın trigliserit yapısına, tokoferollere ve sterollere mümkün olduğunca en az zarar verecek şekilde yağdan uzaklaştırılarak yağa tüketilebilir özellikler kazandırmak amacı ile uygulanmaktadır.

Yağlarda rafinasyon işlemi genel olarak; yapışkan maddelerin giderilmesi (degumming), asitlik giderme (nötralizasyon), renk açma (ağartma) ve koku giderme (deodorizasyon) işlem basamakları ile gerçekleştirilmektedir (van Duijn, 2014).

Yağlarda rafinasyonun ilk basamağını oluşturan yapışkan maddelerin giderilmesi işleminde fosfolipidlerin yağdan uzaklaştırılması için su ve zayıf asit çözeltileri (fosforik asit, sitrik asit vb.) kullanılmaktadır. Yapışkan maddeleri giderilen yağ, ikinci aşamada asitliğinin giderilmesi amacıyla Sodyum Hidroksit (NaOH) çözeltisi gibi alkali çözeltiler ile sabunlaşma tepkimesine tabi tutulmaktadır. Serbest yağ asitleri ile alkali çözeltisinin oluşturduğu sabun nötr yağdan uzaklaştırılarak asitlik giderme işlemi tamamlanmaktadır. Bu işlem sırasında yağda iz miktarda olan fosfolipidlerin büyük bir kısmı da yağdan uzaklaştırılmaktadır (Matthäus, 2007; van Duijn, 2014).

Renk açma basamağında ise adsorban olarak doğal ve asitle aktifleştirilmiş ağartma toprakları kullanılarak yağdaki renk maddelerinin, kalan fosfolipidlerin, oksidasyon ürünlerinin, iz metallerin ve sabun kalıntılarının adsorbanlarla tutulup, daha sonra da filtrasyon ile yağdan uzaklaştırılması hedeflenmektedir. Son işlem kademesinde ise yağa istenmeyen tat ve koku veren maddeler (serbest yağ asitleri, kısmi gliseridler, metilik esterler, mumsu maddeler, aldehitler, ketonlar, hidrokarbonlar ve diğer uçucu bileşenler) yüksek sıcaklık ve düşük basınç altında, su buharı distilasyonu ile yağdan uzaklaştırılmaktadır (Matthäus, 2007).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Antep fıstığı ve Antep fıstığı Yağı ile Zeytin ve Zeytinyağı Örnekleri

Yağ ekstraksiyonu işlemleri için materyal olarak kullanılan Antep fıstığı ve zeytin örnekleri piyasadan temin edilmiştir. Örnek alımı farklı satış yerleri ve üreticilerden gerçekleştirilmiş ve her ürün grubu için 20 adet örnek alımı yapılmıştır. Antep fıstığı örnekleri, 1 kg'lık parti büyüklüğü boyutunda, 2019 yılı hasat döneminde Gaziantep ve Mersin piyasasından temin edilmiş olup, örneklerin tümü Uzun (*Pistacia vera* L.) çeşidinden oluşmuştur. Örnekler kabukları çıkarılmış formda, kuru iç Antep fıstığı olarak kullanılmıştır. Zeytin örnekleri ise 1 kg'lık parti büyüklüğü boyutunda, 2019 yılı hasat döneminde Mersin piyasasından temin edilmiş olup, Sarı Ulak ve Gemlik çeşitlerinden oluşmuştur. Örnekler yeşil zeytin formunda kullanılmıştır.

Rafinasyon işlemleri için materyal olarak kullanılan Antep fıstığı yağı örnekleri 500 mL'lik şişelerde, 2019 yılı hasat döneminde Uzun çeşidi Antep fıstığı örneklerinden soğuk sıkım yoluyla elde edilmiş olup, Antepfıstığı Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir. Zeytinyağı örnekleri ise, 500 mL'lik şişelerde, 2019 yılı hasat döneminde, Sarı Ulak zeytin çeşidinden natürel sızma olarak, Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir.

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler

Aflatoksin ve OTA Immunoafinite Kolonları Vicam (Almanya), Aflatoksin ve OTA analitik standartları Supelco (ABD), HPLC Kolonu GL Science (Japan), Methanol, Asetonitril, Nitrik Asit, n-Hekzan, Petrol Eteri, Fosforik Asit ve Sodyum Hidroksit Sigma Aldrich (Almanya), Potato Dekstrose Agar (PDA) ve Czapex Agar Merck (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Ağartma toprağı olarak Clariant (Almanya) firmasının ürettiği Tonsil Optimum 210 FF kullanılmıştır. Tüm kimyasalların mümkün olan en yüksek saflıkta olmasına özen gösterilmiştir.

3.1.3. Kullanılan Cihazlar

HLPC-FLD - Shimadzu RF/20A (Japonya)
Aflatoksin Türevlendirme - Coring Cell (Almanya)
Yağ Tayin Cihazı- Gerhardt SOX-414 (Almanya)
Blender- Waring (ABD)
Vakum Manifold/SPE Ekstraksiyon- Agilent (ABD)
Vakum Pompası- Milliopore (Almanya)
Santrifüj- Hettich Mikro 200R Almanya)
Vorteks karıştırıcı- Velp (İtalya)
Hassas Terazi- Shimadzu AP225 WD (Japonya)
Ultrasonik Su Banyosu- Elma S40 (Almanya)

Su Banyosu-Memmert (Almanya)

Derin Dondurucu Buzdolabı-Vestel (Türkiye)

Etüv- Binder ED 56 (Almanya)

Otoklav- Daihan Maxterile 47 (Güney Kore)

3.2. Metot

Çalışmada piyasadan temin edilen Antep fıstığı ve zeytin örneklerinde nem tayini, su aktivitesi tayini, toplam küf sayımı ve tanımlanması yapılıp bu hammaddelerin mikotoksin durumları değerlendirilmiştir. Mikotoksin olarak, Antep fıstığı ve yağı için Aflatoksin, zeytin ve zeytinyağı için OTA analizleri gerçekleştirilmiştir. Bunların yanı sıra rafinasyon işlem basamaklarının Antep fıstığı yağında aflatoksin ve zeytinyağında OTA üzerine etkileri incelenmiştir.

3.2.1. Nem Tayini

Antep fıstığı ve zeytin örneklerinde nem tayini Gravimetrik yönteme göre yapılmıştır (Tavakolipour ve Kalbasi-Ashtari, 2008). Bu yönteme göre, önceden kurutulmuş alüminyum kaplara 3'er gram öğütülmüş örnekler tartılmıştır. Bu örnekler 65 ºC deki etüvde sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Örnekler sabit tartıma gelince % nem aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$R = 100 - (G_3 - G_1) / (G_2 - G_1)$

R = % Nem

G_3 = Son tartım (örnek ağırlığı+ kap ağırlığı)

G_2 = İlk tartım (örnek ağırlığı+ kap ağırlığı)

G_1 = kabın darası

3.2.2. Su Aktivitesi Tayini

Antep fıstığı ve zeytin örneklerinde su aktivitesi tayini Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümündeki Novasina LabMaster (Lachen, Almanya) marka su aktivitesi cihazında yapılmıştır.

3.2.3. Toplam Küf Sayımı ve Tanımlanması

Antep fıstığı ve zeytin örneklerinde toplam küf sayımı ve tanımlanması, TS ISO 21527-2'ye göre yapılmıştır.

Bir erlenmayer içerisine 39 g PDA tartılmış ve saf su ile 1000 mL'ye tamamlandıktan sonra 121 °C'de 15 dakika otoklavlanmıştır. Otoklavdan sonra besiyerinin üzerine, membran filtreden geçirilerek steril edilmiş %10'luk tartarik asit ilave edilmiş ve besiyeri pH'ı 3.5'e ayarlanmıştır. Son olarak, her bir petride 12.5 mL olacak şekilde petrilere besiyeri dökülmüş ve soğumaya bırakılmıştır.

10 g örnek aseptik koşullar altında tartılarak 90 mL steril peptonlu su ile karıştırılmıştır. Daha sonra seri dilüsyonlar hazırlanmış, her bir dilüsyondan 0,1 mL alınarak petrilere dirigalski spatülü ile yayılmıştır. Petriler 25 ºC'de inkübasyona bırakılmıştır. 3. günde petrilerin kontrolleri yapılmış ve 5. günde de sayım alınmıştır.

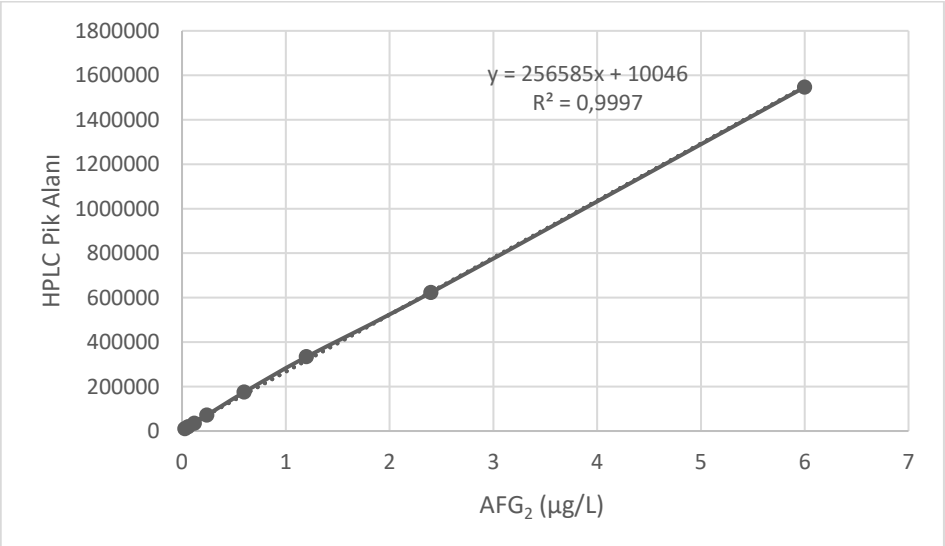
İzole edilen küflerin tür bazında tanımlanması Samson ve ark., (1981)'e göre yapılmıştır Bu amaçla PDA ve Czapek Dox Agar kullanılmıştır. Tanımlaması yapılacak izolatlar besiyerlerine tek koloni düşürme tekniği ile ekilerek 25°C'de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresince her 24 saatte bir küf gelişimi takip edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda petri kabında gelişen küf kolonleri koloni morfolojileri ve hücre morfolojileri bakımından değerlendirilmiştir.

Koloni morfolojilerinin değerlendirilmesi amacıyla koloni boyutu, koloni yüzeyi (pamuksu, keçemsi, kadife vs.), koloni rengi gibi özellikleri incelenmiştir. Hücre morfolojilerinin değerlendirilmesi amacıyla ise kolonilerden basit preperat hazırlanmış mikroskop altında (10x, 40x objektifler kullanılarak) hif yapısı, septa varlığı, spor varlığı, spor yapıları vb. özellikleri incelenmiş ve tanımlamalar yapılmıştır.

3.2.4. Aflatoksin Analizleri

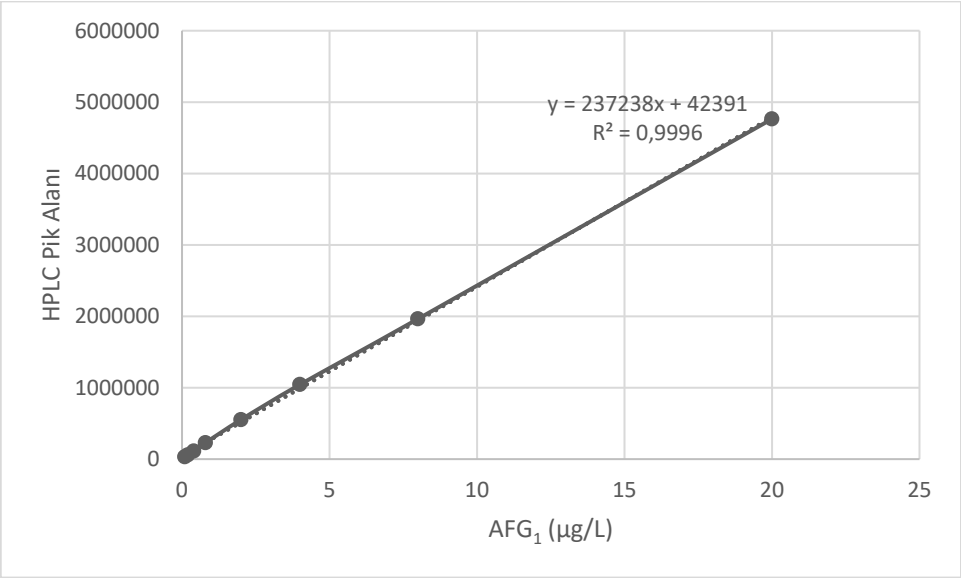
Aflatoksin Kalibrasyon Eğrilerinin Oluşturulması

AFG_2, AFG_1, AFB_2 ve AFB_1 için ayrı ayrı kalibrasyon eğrisinin oluşturulması amacıyla 8 farklı konsantrasyonda standart çözeltiler kullanılmıştır. Bu amaçla, AFB_1 ve AFG_1 için 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 2, 4, 8 ve 20 µg/L konsantrasyonlarda aflatoksin standartları kullanılırken, AFB_2 ve AFG_2 için 0.03, 0.06, 0.12, 0.24, 0.6, 1.2, 2.4 ve 6 µg/L konsantrasyonlarda aflatoksin standart çözeltileri kullanılmıştır. HPLC cihazına enjekte edilen aflatoksin standartlarına karşılık gelen pik alanlarına göre cihazda bulunan yazılım (LabSolutions V_2) kullanılarak 8 farklı noktadan kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. AFG_2'ye ait kalibrasyon eğrisi Şekil 3.1'de verilmiştir.



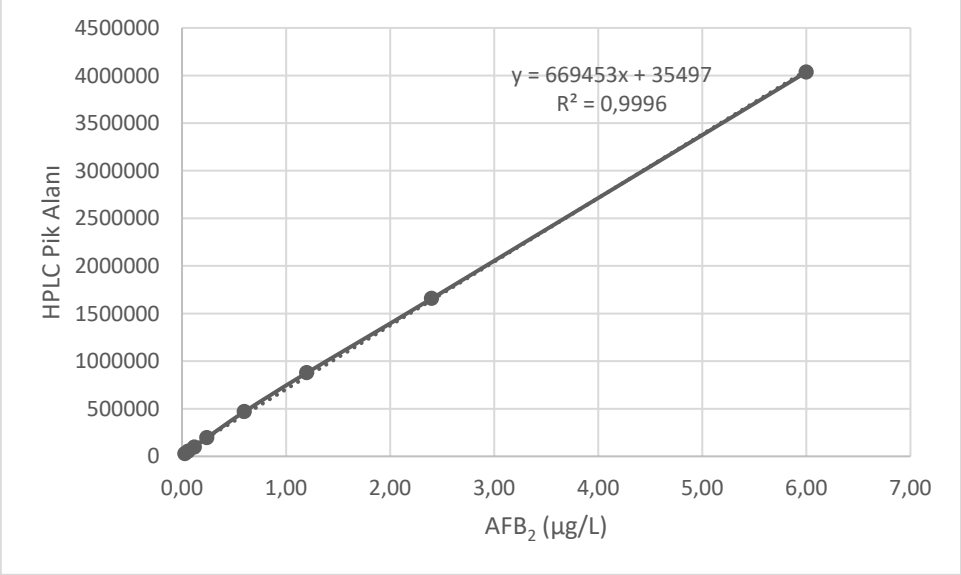
Şekil 3.1. AFG_2 Kalibrasyon Eğrisi

AFG_1,'e ait kalibrasyon eğrisi Şekil 3.2'de verilmiştir.



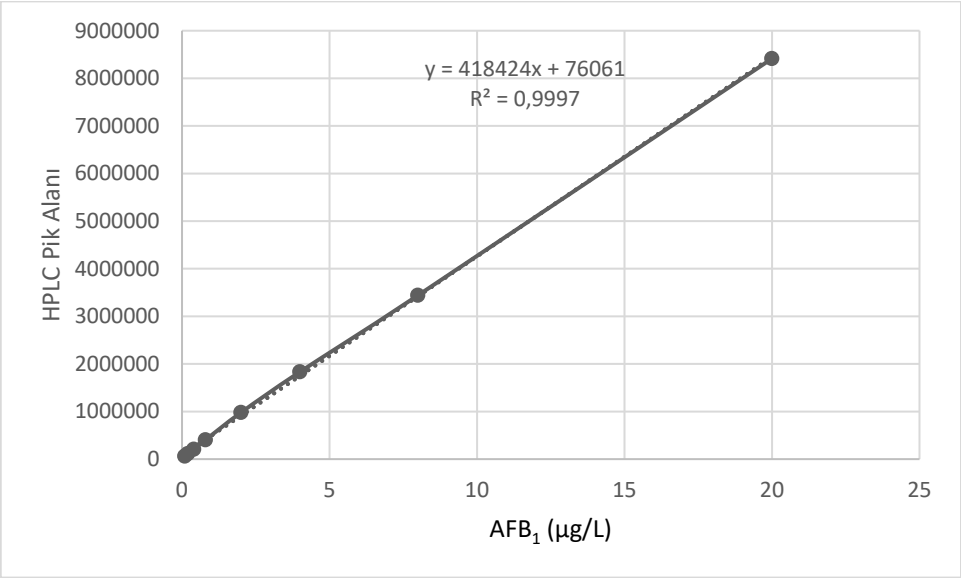
Şekil 3.2. AFG_1 Kalibrasyon Eğrisi

AFB_2 'ye ait kalibrasyon eğrisi Şekil 3.3'de verilmiştir.



Şekil 3.3. AFB_2 Kalibrasyon Eğrisi

AFB_1'e ait ait kalibrasyon eğrisi Şekil 3.4'de verilmiştir.



Şekil 3.4. AFB_1 Kalibrasyon Eğrisi

Aflatoksinlerin Geri Kazanımı

Antep fıstığı meyvesinde, Antep fıstığı yağında ve Antep fıstığı küspesinde aflatoksinlerin geri kazanım oranlarının tespit edilmesi amacıyla, aflatoksin içermediği tespit edilen örneklere 4 µg/L AFB_1, 1.2 µg/L AFB_2, 4 µg/L AFG_1 ve 1.2 µg/L AFG_2 içeren aflatoksin standart çözeltisi ilave eklenmiş, örnekler 3 saat karanlık bir ortamda bekletildikten sonra tek kişi tarafından aynı gün ve ortamda 5'er adet geri kazanım çalışması yapılmıştır.

% Geri Kazanım aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

% Geri Kazanım = (a / b) x100

a = Cihazda okunan aflatoksin konsantrasyonu değeri

b = Numuneye ilave edilen aflatoksin konsantrasyonu

Tekrarlanabilirlik değerleri de bu çalışmanın yüzde bağıl standart sapması (%RSD) olarak hesaplanmıştır.

Tekrarlanabilirlik değeri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

% RSD= (Standart Sapma/Ortalama) x 100

Aflatoksin Tespit ve Ölçüm Limiti Çalışmaları

Tespit limiti (LOD) ve Ölçüm Limiti (LOQ) çalışmaları için aflatoksin içermeyen Antep fıstığı, Antep fıstığı yağı ve Antep fıstığı küspesi örneklerine 0.3 µg/L AFG_2, 1 µg/L AFG_1, 0.3 µg/L AFB_2 ve 1 µg/L AFB_1 düzeyinde standart çözeltileri eklenmiş, örnekler 3 saat karanlık bir ortamda bekletildiken sonra 5'er adet geri kazanım çalışması yapılmıştır.

Tespit limiti ve ölçüm limiti aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

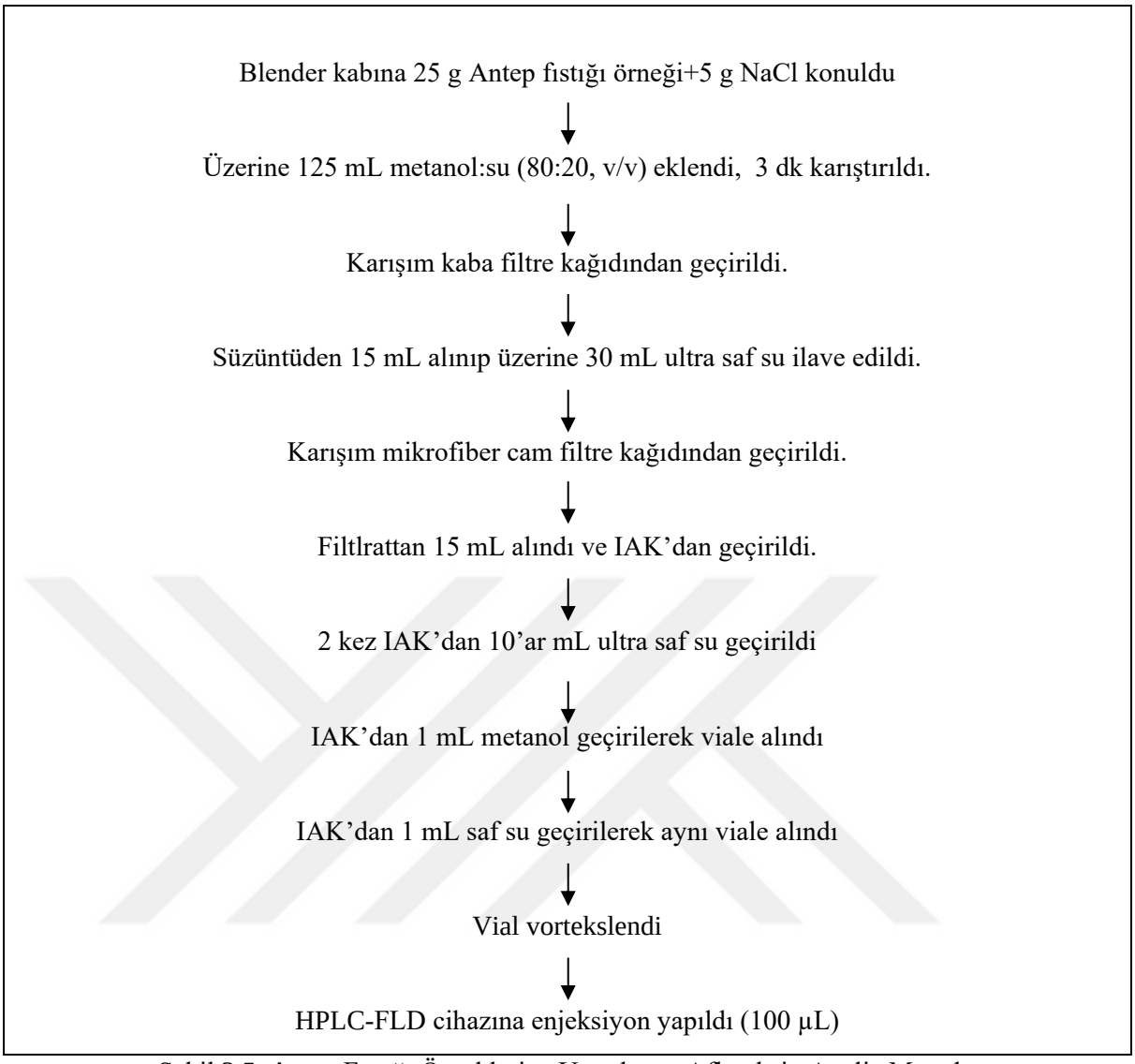
Tespit Limiti= 3 x SD

Ölçüm Limiti= 10 x SD

SD: Standart Sapma

Antep fıstığında Aflatoksin Analizleri

Analizler AOAC 997.07 metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Bu metoda göre 25 g iç Antep fıstığı numunesi blender kabına alınarak, üzerine 5 g NaCl ve 125 mL methanol:su (80: 20, v/v) ilave edilmiş ve 3 dk yüksek devirde karıştırılmıştır. Karışım kaba filtre kağıdından geçirildikten sonra süzüntüden 15 mL alınıp üzerine 30 mL saf su ilave edilerek iyice karıştırılmış ve mikrofiber cam filtreden geçirilmiştir. Süzüntüden 15 mL alınarak, immünoaffinite kolondan (IAK) saniyede 1 damla akacak şekilde geçirilmiştir. Daha sonra akış hızı 5 mL/dk'yı geçmeyecek şekilde 10 mL saf su 2 kez IAK'dan geçirilerek yıkama yapılmıştır. Suyun tamamen uzaklaştırılması için IAK'dan birkaç kez enjektör yardımıyla hava geçirilmiştir. IAK'da tutulan aflatoksini geri kazanım için IAK'dan 1 mL/dk hızla, 1 mL metanol geçirilmiş ve eluat viale alınmıştır. Daha sonra IAK'dan 1 mL ultra saf su geçirilerek aynı vialde toplanmıştır. Böylece vialde toplam hacmi 2 mL olan aflatoksin içeren metanol-su karışımı elde edilmiştir. Bu karışım önce 30 saniye vortekslenmiş ve 0.45 µm gözenek çaplı teflon filtreden geçirdikten sonra HPLC-FLD'ye enjekte edilmiştir. Antep fıstığı örneklerine uygulanan aflatoksin analiz metodu akış şeması halinde Şekil 3.5'de verilmiştir.



Şekil 3.5. Antep Fıstığı Örneklerine Uygulanan Aflatoksin Analiz Metodu

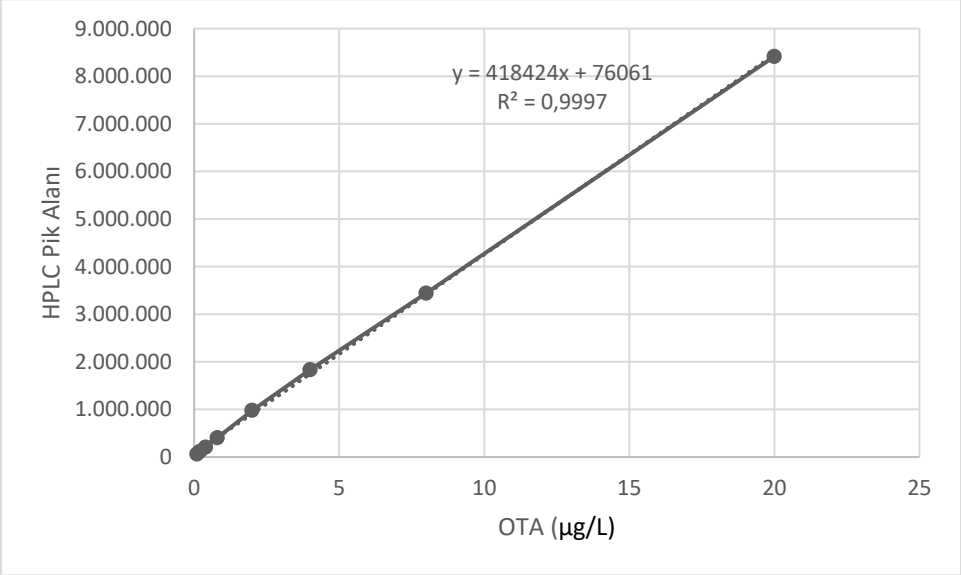
HPLC-FLD Şartları:

Kolon	: C18 ODS-3 Kolon (5 µm- 250x4.5 mm)
Akış Hızı	: 1 mL/dk
Sıcaklık	: 25 ^{o}C
Türevlendirme Cihazı	: Coring Cell
Excitation (Uyarıcı Dalga Boyu)	: 360
Emission (Yayılan Dalga Boyu)	: 430
Mobil Faz	: Ultra Saf Su:Asetonitril:Metanol (600:200:300/v:v:v) (Çözeltinin litresinde 120 mg KBr ve 350 µL 4 Molar Nitrik Asit)
Enjeksiyon Hacmi	: 100 µL

3.2.5. OTA Analizleri

OTA Kalibrasyon Eğrilerinin Oluşturulması

OTA kalibrasyon eğrilerinin oluşturulması amacıyla 7 farklı konsantrasyonda standart çözelti kullanılmıştır. Bu çözeltilerin konsantrasyonu 0.2, 0.4, 0.8, 2, 4, 8 ve 20 µg/L olarak uygulanmıştır. HPLC cihazına enjekte edilen OTA standartlarına karşılık gelen pik alanlarına göre cihazda bulunan yazılım (LabSolutions V2) kullanılarak 7 farklı noktadan kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. OTA'ya ait kalibrasyon grafiği Şekil 3.6'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. OTA Kalibrasyon Eğrisi

OTA'nın Geri Kazanımı

Zeytin meyvesinde, zeytinyağında ve zeytin pirinasında OTA geri kazanım oranlarının tespit edilmesi amacıyla, OTA içermediği tespit edilen örneklere 10 µg/kg içeren OTA standart çözeltisi ilave standart çözeltisi ilave eklenmiş, örnekler 3 saat karanlık bir ortamda bekletildikten sonra tek kişi tarafından aynı gün ve ortamda 5'er adet geri kazanım çalışması yapılmıştır.

% Geri Kazanım aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

% Geri Kazanım = (a / b) x100

a = Cihazda okunan OTA miktarı

b = Numuneye ilave edilen OTA miktarı

Tekrarlanabilirlik değerleri de bu çalışmanın yüzde bağıl standart sapması (%RSD) olarak hesaplanmıştır.

Tekrarlanabilirlik değeri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

% RSD= (Standart Sapma/Ortalama) x 100

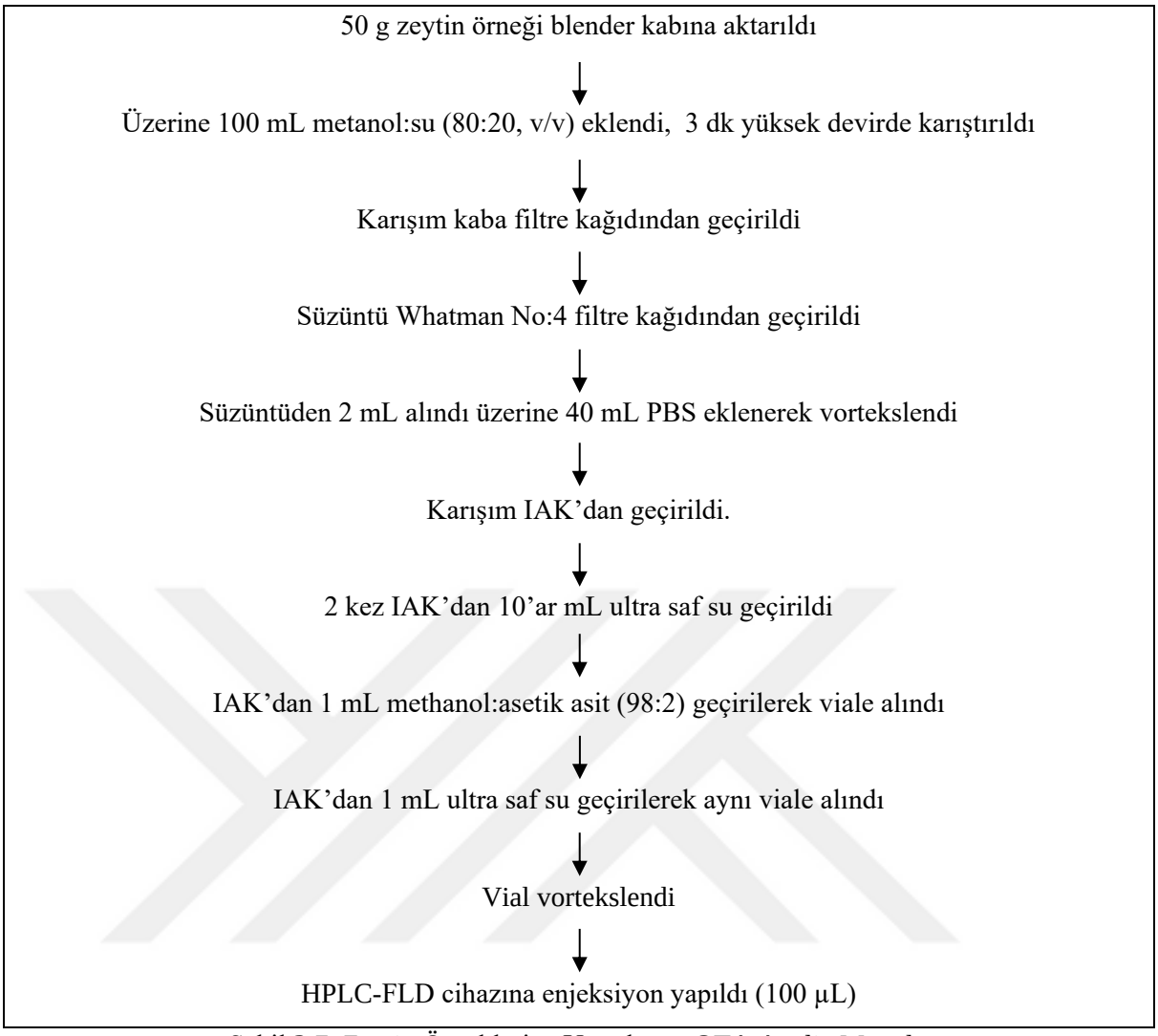
OTA Tespit ve Ölçüm Limiti Çalışmaları

Tespit limiti (LOD) ve Ölçüm Limiti (LOQ) çalışması için OTA açısından temiz örneğe 1 µg/kg miktarında standart çözeltisi eklenmiş, örnekler 3 saat karanlık bir ortamda bekletildikten sonra 5'er adet geri alma çalışması yapılmıştır. Tespit limiti ve ölçüm limiti aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

Tespit Limiti= 3 x SD
Ölçüm Limiti= 10 x SD
SD: Standart Sapma

Zeytinde OTA Analizleri

Ghitaku ve ark. (2006) ve Dazkır (2010)' ın çalıştığı metodlar modifiye edilerek bir ekstaksiyon prosedürü oluşturulmuştur. Buna göre 50 g zeytin örneği 100 mL methanol+su (80:20, v/v) solüsyonu ile karıştırılmış ve blenderda 2 dk yüksek hızda karıştırılmıştır. Elde edilen karışım önce kaba filtreden daha sonra Whatman No:4 filtre kağıdından geçirilmiştir. Bu filtrattan 2 mL alınarak bir tüpe konulmuş, üzerine 40 mL PBS eklenerek 1 dakika boyunca yüksek hızda vortekslenmiştir. Seyreltilmiş filtrat, IAK'dan 2 mL/dak. akış hızı ile geçirildikten sonra kolon 20 mL distile su ile yıkanmış ve en son hava geçirilerek kurutulmuştur. OTA'nın kolondan elusyonu için 1 mL/dk hız ile 1 mL methanol:asetik asit (98:2) ve 1 mL ultra saf su kolondan geçirilerek viale alınmıştır. Bu karışım önce 30 saniye vortekslenmiş ve son olarak 0.45 µm gözenek çaplı teflon filtreden geçirdikten sonra HPLC-FLD'ye enjekte edilmiştir. Zeytin örneklerine uygulanan OTA analiz metodu akış şeması halinde Şekil 3.7'de verilmiştir.



Şekil 3.7. Zeytin Örneklerine Uygulanan OTA Analiz Metodu

HPLC Koşulları:

Kolon	: C18 ODS-3 Kolon (5 µm- 250x4.5 mm)
Akış Hızı	: 1 mL/dk
Sıcaklık	: 30 ^{o}C
Excitation (Uyarıcı Dalga	: 333
Emission (Yayılan Dalga	: 477
Mobil Faz	: (Asetonitril:Su:Asetik Asit) (48:51:1)
Enjeksiyon Hacmi	: 100 µL

3.2.6. Yağ Ekstraksiyonu Metotlarının Antep fıstığında Aflatoksin ve Zeytinde OTA Miktarlarına Etkisi

Bu çalışmada iki farklı örnek grubu kullanılmıştır. Birinci örnek grubunu doğal kontamine örnekler oluştururken, diğer örnek grubunu mikotoksin aşılanmış örnekler oluşturmuştur. Her iki örnek grubundan da farklı metotlarla yağ ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraksiyon bitiminde elde

edilen Antep fıstığı yağı ve küspe örneklerine aflatoksin, zeytinyağı ve pirina örneklerine ise OTA analizi yapılmıştır. Tüm işlemler 3 tekerrür ve 4 paralelli olarak uygulanmıştır.

Aflatoksin Standardının Antep fıstığı ve Antep fıstığı Yağı Örneklerine Aşılanması

Aflatoksin içermeyen Antep fıstığı ve Antep fıstığı yağı örneklerine toksin aşılanması Daradimos ve ark., (2000)'e göre yapılmıştır. 100 g Antep fıstığı örneği bir kaba konularak, üzerine 15 µg/kg miktarında toplam aflatoksin standardı ilave edilmiştir.

Bu işlem için kullanılan aflatoksin standardı 1 mL methanol içerisinde 2.6 µg/mL toplam aflatoksin içermektedir ve aşağıdaki konsantrasyonlardan oluşmaktadır:

AFG_2 : 0.3 µg/mL
AFG_1 : 1 µg/mL
AFB_2 : 0.3 µg/mL
AFB_1 : 1 µg/mL

Aşılama için öncelikle bu standarttan 1 mL alınarak HPLC dereceli methanol ile 10 mL'ye tamamlanmış ve stok çözelti konsantrasyonu 0.26 µg/mL toplam aflatoksin olarak ayarlanmıştır. Daha sonra 100 g nörneğe 1 ppb (µg/kg) toplam aflatoksin aşılamak için stok çözeltiden alınması gereken miktar hesaplandı ve 385 µL olarak bulundu. Çalışmada 100 g numuneye 15 µg/kg toplam aflatoksin aşılaması yapılacağı için,

385 µLx15= 5775 µL olarak hesaplandı.

Aflatoksinin 100 g örneğe aşılanması için 5775 µL stok toplam aflatoksin çözeltisi mikro pipet vasıtası ile alınarak örnek üzerine dökülmüştür. Daha sonra örneğin üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak, standardın örneğe nüfuz etmesi için 3 saat karanlık ortamda beklenmiştir.

OTA Standardının Zeytin ve Zeytinyağı Örneklerine Aşılanması

OTA içermeyen zeytin ve zeytinyağı örneklerine OTA aşılaması Daradimos ve ark., (2000)'e göre yapılmıştır. 100 g zeytin örneği bir kaba konularak 15 µg/kg miktarında OTA standardı ilave edilmiştir.

Bu işlem için kullanılan OTA standardı 1 mL benzen:asetik asit (99:1) içerisinde 50 µg/mL konsantrasyonda bulunmaktadır. Aşılama için öncelikle bu standarttan 40 µL alınarak bir viale konulmuş, üzerine 960 µL HPLC dereceli methanol eklenerek 2 µg/mL konsantrasyonda stok çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra 100 g örneğe 1 ppb (µg/kg) OTA aşılamak için stok çözeltiden alınması gereken miktar hesaplandı ve 50 µL olarak bulundu. Çalışmada 100 g numuneye 15 µg/kg OTA aşılaması yapılacağı için;

50 µLx15= 750 µL olarak hesaplandı.

OTA'nın 100 g örneğe aşılanması için 750 µL stok OTA çözeltisi mikro pipet vasıtası ile alınarak örnek üzerine dökülmüştür. Daha sonra örneğin üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak, standardın örneğe nüfuz etmesi için 3 saat karanlık ortamda beklenmiştir.

Antep fıstığı ve Zeytin Örneklerinden Presleme ile Yağ Eldesi

Presleme işlemleri Antep fıstığı ve zeytin meyvelerinin farklı yapıda olmaları sebebiyle birbirinden farklı prosedürler olarak uygulanmıştır.

Antep fıstığından Presleme Yağ Elde Edilmesi

Doğal kontamine ve aflatoksin aşılanmış antepfısığı örneklerinden yağ elde etmek için soğuk pres ve kavrulmuş antep fıstığından soğuk pres olmak üzere iki farklı ekstraksiyon metodu kullanılmıştır. Presleme işlemi vidalı pres makinesinde yapılmıştır.

Soğuk pres çalışmasında, her tekerrürde 100'er g örnek olacak şekilde vidalı pres makinesinin besleme bölmesinden cihaza konulmuş ve işlem bitiminde elde edilen yağ ve küspelerden örnek alımı yapılmıştır.

Kavrulmuş örneklerden soğuk pres için ise, öncelikle örnekler etüvde 90 °C'de 10 dakika süre ile kavrulmuştur. Sonrasında ise çiğ örneklerde olduğu gibi vidalı pres makinasına 100 g Antep fıstığı konulmuş ve işlem bitiminde yağ ve küspeden örnek alımı gerçekleştirilmiştir.

Zeytinden Presleme ile Yağ Elde Edilmesi

Doğal Kontamine ve OTA aşılanmış zeytin örneklerinde mekanik ekstraksiyon işlemleri zeytine özgü metotlarla yapılmıştır. Soğuk sıkım için, 100 g zeytin örneği öğütücüde yüksek devirde öğütülüp hamur haline getirildikten sonra, oda sıcaklığında 30 dk karıştırılmış ve 6000 rpm'de 20 dk santrifüjlenerek, üst fazda biriken yağ örnekleri elde edilmiştir. Sıcak sıkım için ise yine aynı miktarda zeytin örneği, yüksek devirde öğütülüp hamur haline getirildikten sonra, 40 °C su banyosunda 30 dk karıştırılmış ve 6000 rpm'de 20 dk santrifüjlenerek, üst fazda biriken yağ örnekleri elde edilmiştir.

Son üründeki OTA miktarını belirlemek için elde edilen zeytinyağı ve pirina örneklerinde OTA analizi yapılmıştır.

Antep fıstığı ve Zeytin Örneklerinden Soxhlet ile Yağ Ekstraksiyonu:

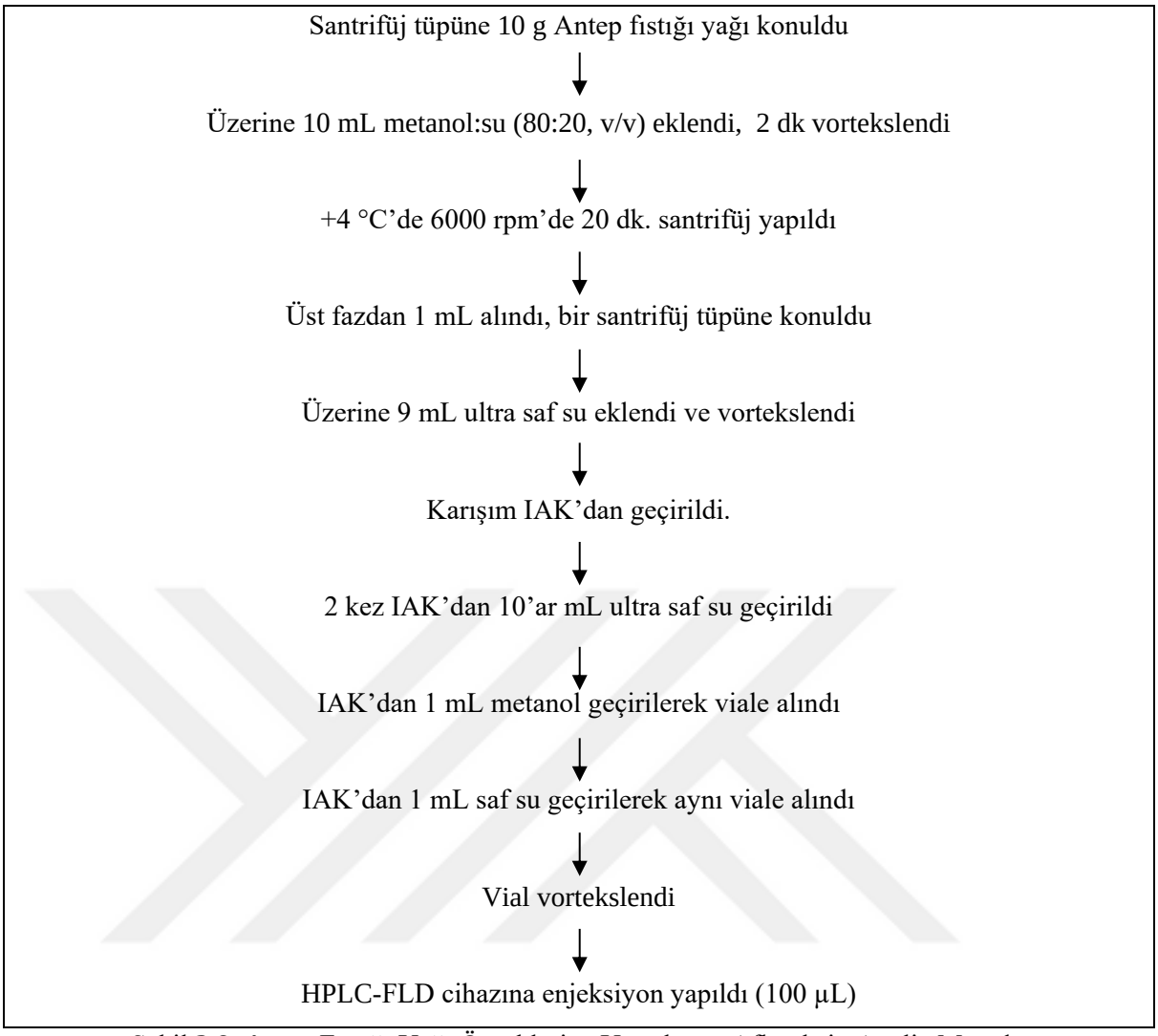
Bu çalışmada da doğal kontamine ve mikotoksin aşılanmış Antep fıstığı ve zeytin örnekleri kullanılmıştır. Çalışmanın başlangıcında 20 g öğütülmüş örnekler soxhlet cihazının kartuşuna konulmuş ve üzerine çözgen ilave edilerek (130 mL) yağ ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Toplam ekstraksiyon süresi 3 saat 50 dk, ekstraksiyon sıcaklığı ise 120 °C olarak belirlenmiştir. Çalışmada

n-hekzan ve petrol eteri olmak üzere iki farklı çözgen kullanılmıştır. İşlem bitiminde yağ ve küspe/pirina örnekleri alınarak aflatoksin/OTA analizi yapılmıştır.

3.2.7. Antep fıstığı Yağında Aflatoksin Analizleri:

Bu çalışmada, Daramidos ve ark., (2000) uyguladığı metot modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu metoda göre 10 g Antep fıstığı yağı santrifüj tüpüne alınmış ve üzerine 10 mL metanol:su (80:20) karışımı eklenmiştir. Bu karışım 2 dakika yüksek hızda vortekslenmiş ve santrifüje hazır hale getirilmiştir. Santrifüj işlemi +4^{o}C sıcaklıkta ve 6000 rpm devirde 20 dakika süre ile gerçekleştirilmiştir. Santrifüj sonrası berrak olan üst fazdan, bir tüp içerisine, 1 mL alınarak üzerine 9 mL ultra saf su eklenmiş ve 20 saniye vortekslenmiştir. Toplam 10 mL olan bu karışım 1 mL/dk hızla IAK'dan geçirilmiştir. Sonrasında kolondan 2 defa 10 ml su geçirilerek kolon yıkanmıştır. IAK'da tutulan aflatoksini geri kazanım için kolondan 1 mL/dk hızla, 1 mL methanol geçirildi ve eluat viale alındı. Daha sonra kolondan 1 mL ultra saf su geçirilerek aynı vialde toplandı. Böylece vialde toplam hacmi 2 mL olan aflatoksin içeren metanol-su karışımı elde edilmiştir. Bu karışım önce 30 saniye vortekslenmiş ve 0.45 µm gözenek çaplı teflon filtreden geçirdikten sonra HPLC-FLD'ye enjekte edilmiştir. HPLC-FLD şartları Bölüm 3.2.4.'deki gibi uygulanmıştır.

Antep fıstığı yağı örneklerine uygulanan aflatoksin analiz metodu akış şeması halinde Şekil 3.8'de gösterilmiştir.



Şekil 3.8. Antep Fıstığı Yağı Örneklerine Uygulanan Aflatoksin Analiz Metodu

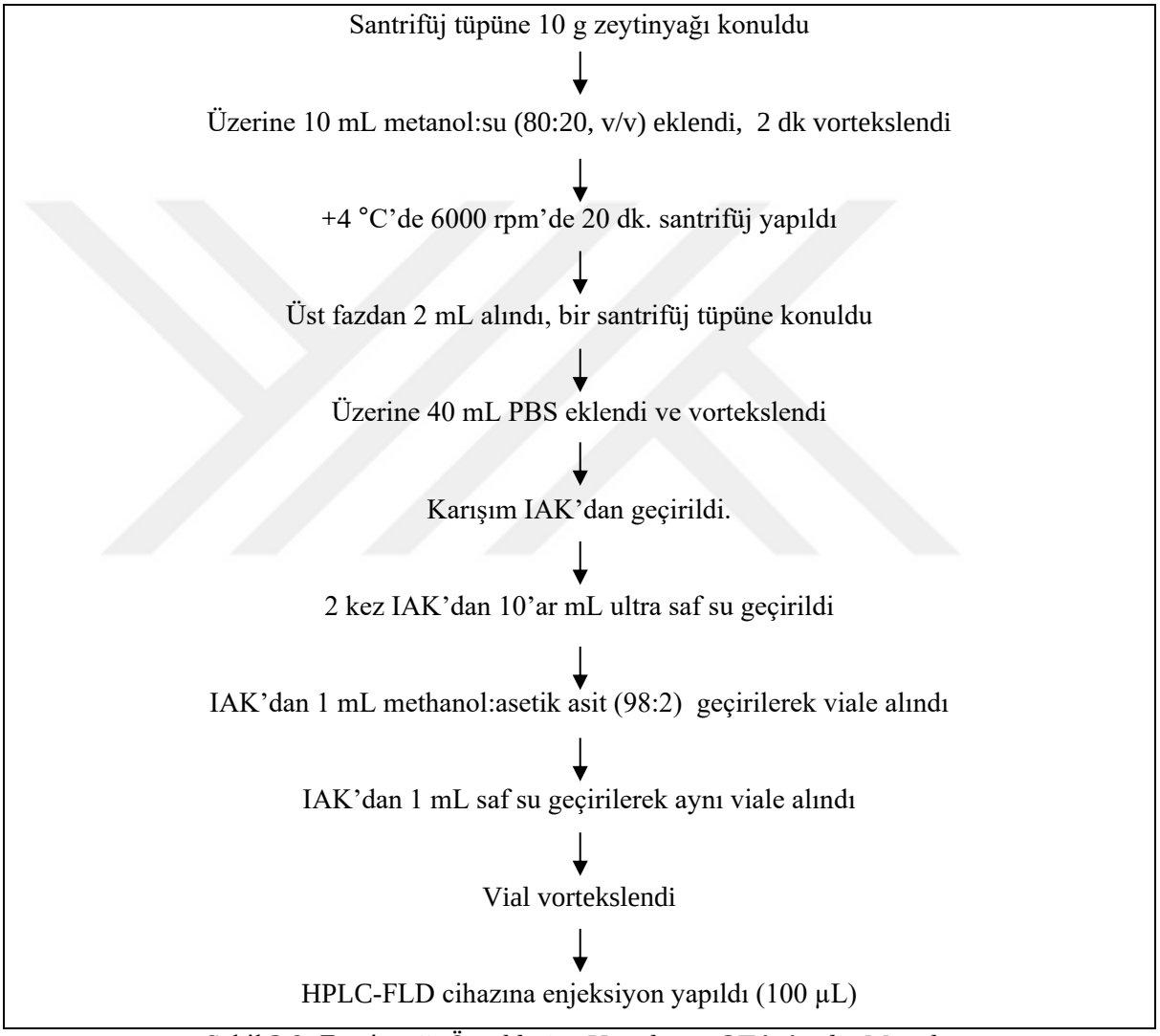
3.2.8. Antep fıstığı Küspesinde Aflatoksin Analizi:

Yağ ekstraksiyon metotlarından elde edilen küspe örneklerine yapılan aflatoksin analizleri Bölüm 3.2.4.'de belirtilen metot uygulanmıştır.

3.2.9. Zeytinyağı Örneklerinde OTA Analizi:

Papachristou ve Markaki (2004)'nin önerdiği metot modifiye edilerek bir ekstraksiyon prosedürü oluşturulmuştur. 50 ml'lik santrifüj tüpü içine 10 g zeytinyağı numunesi tartıldı ve üzerine 10 mL methanol:su karışımı (80:20) eklendi. Bu karışım 2 dakika boyunca yüksek devirde vortekslendi. Zeytinyağında bulunan OTA'yı sıvı fazdan ekstrakte etmek için santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Referans metotta, santrifüj bitiminde supernatantın son derece berrak bir halde olmasının çok önemli olduğu belirtilmiştir. Yapılan ön denemeler sonucunda en iyi faz ayırımının gerçekleştiği optimum koşullar olarak santrifüj şartları, +4 ^{o}C'de 6000 rpm'de 20 dk olarak belirlenmiştir. Santrifüj işlemi sonrası, 50 mL'lik santrifüj tüpü içerisine 2 ml supernatant ve 40 mL PBS eklenerek, karışım yüksek hızda 2 dakika vortekslenmiştir. Bu karışım IAK'dan 2 mL/dk akış

hızı ile geçirildikten sonra kolon 20 mL distile su ile yıkanmış ve en son hava geçirilerek kurutulmuştur. Kolonda tutulan OTA'yı geri kazanmak için 1 mL/dk akış hızı ile 1 mL methanol:asetik asit (98:2) kolondan geçirilmiş, sonrasında ise 1 mL ultra saf su aynı hızla kolondan geçirilerek vialde toplanmıştır. Bu karışım önce 30 saniye vortekslenmiş ve son olarak 0.45 µm gözenek çaplı teflon filtreden geçirdikten sonra HPLC-FLD'ye enjekte edilmiştir. HPLC-FLD şartları 3.2.5.' deki gibi uygulanmıştır. Zeytinyağı örneklerine uygulanan OTA analiz metodu Şekil 3.9'da verilmiştir.



Şekil 3.9. Zeytinyağı Örneklerine Uygulanan OTA Analiz Metodu

3.2.10. Zeytin Pirinasında OTA Analizi:

Yağ ekstraksiyonu metotlarından elde edilen zeytin pirinasında OTA analizi, Bölüm 3.2.5.'de belirtilen metodun aynısı olarak uygulanmıştır.

3.2.11. Rafinasyon İşleminin Antep fıstığı Yağında Aflatoksin ile Zeytinyağında OTA Miktarları Üzerine Etkileri

Rafinasyon işlemlerinin Antep fıstığı yağında aflatoksin, zeytinyağında ise OTA miktarı üzerine etkilerini belirlemek için, yağ örneklerine degumming, nötralizasyon ve ağartma işlemleri uygulanmıştır.

Antep fıstığı Yağı ve Zeytinyağı Örneklerinde Yapışkan Maddeleri Giderme (Degumming)

Çalışmada Antep fıstığı yağı ve zeytinyağı örnekleri için aynı metotlar kullanılmıştır. 20 g yağ örneğinin sıcaklığı 80 ºC ye getirildikten sonra yağın %0.05'i oranında % 85'lik fosforik asit çözeltisi 15-20 dk. manyetik karıştırıcıda sürekli karıştırma eşliğinde ilave edildi. Karıştırma sonrası yağ örnekleri santrifüj tüpüne aktarılarak oda sıcaklığında 6000 rpm'de 20 dk. santrifüj edildi, daha sonra otomatik pipet yardımıyla yağ, dibe çöken yapışkan maddelerden ayrıldı (Shahidi, 2005).

Antep fıstığı Yağı ve Zeytinyağı Örneklerinin Nötralizasyonu:

Çalışmada Antep fıstığı yağı ve zeytinyağı örnekleri için aynı metotlar kullanılmıştır. 20 g yağ örneğinin sıcaklığı 80-90ºC'lere getirildikten sonra yağa %8'lik kostik (NaOH) ilave edilmiştir. İlave edilecek kostik miktarı Serbest Yağ Asitliği değerine göre aşağıdaki formülle belirlenmiştir:

%FFA'ya göre eklenecek kostik miktarı = (%FFA x 40) / 282

Daha sonra 30 dk süresince nötralizasyon tepkimesinin oluşması için manyetik karıştırıcıda karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu süre sonunda oluşan yağ ve sabun karışımına oda sıcaklığında 6000 rpm'de 20 dk santrifüj işlemi uygulanmış ve sabun fazı ayrılmıştır. (Shahidi, 2005).

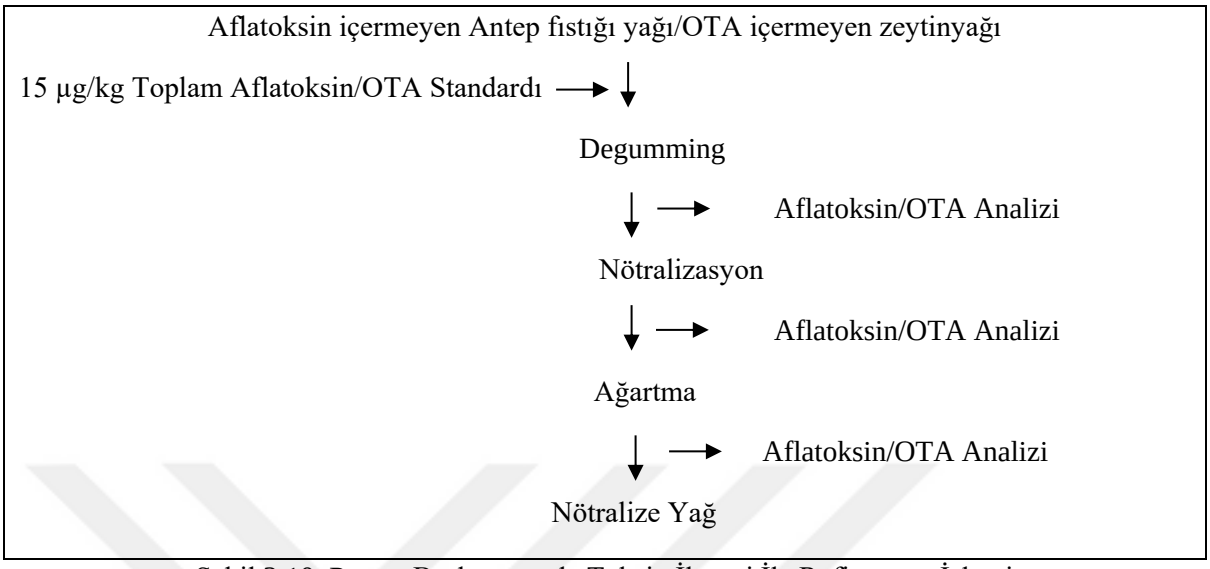
Antep fıstığı Yağı ve Zeytinyağı Örneklerinde Ağartma:

Çalışmada Antep fıstığı yağı ve zeytinyağı örnekleri için aynı metotlar kullanılmıştır. Bu işlemde yağın sıcaklığı 90-100 ºC' lere getirildikten sonra yağ örneğinin %0.7'si oranında ağartma toprağı eklenmiş ve 30 dk. manyetik karıştırıcıda reaksiyona tabi tutulmuştur. Daha sonra dipteki çökeltiyi ayırmak için kaba filtre kağıdı kullanılmış ve elde edilen yağa HPLC'de Aflatoksin/OTA analizleri yapılmıştır (Shahidi, 2005).

Proses Başlangıcında Toksin İlavesi ile Rafinasyon İşlemi

Çalışmanın ilk kısmında rafinasyon işlem basamaklarının Antep fıstığı yağında aflatoksin ve zeytinyağında OTA üzerine etkilerini belirlemek için aflatoksin/OTA açısından temiz olan yağ örneklerine başlangıç miktarı 15 µg/kg aflatoksin/OTA standartları eklenmiş ve degumming, nötralizasyon ve ağartma işlemlerinin aflatoksin/OTA üzerine hangi işlem basamağının daha etkili

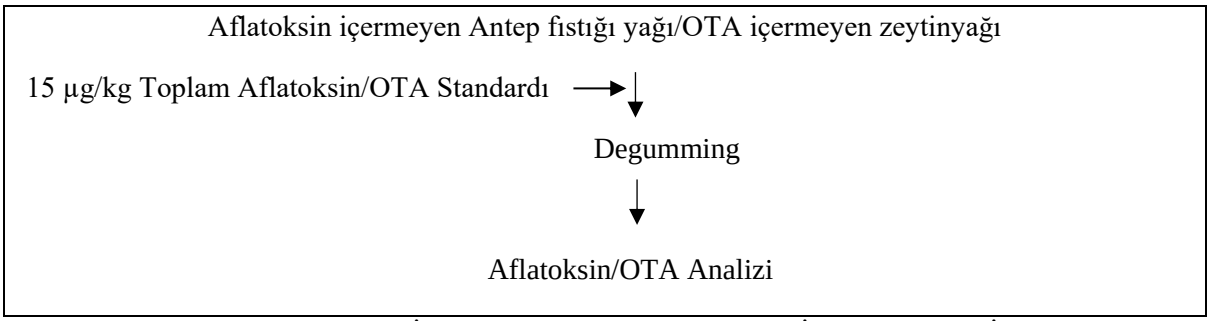
olduğu araştırılmıştır. Tüm çalışmalar 3 tekerrür ve 4 paralelli olarak yürütülmüştür. Proses başlangıcında toksin ilavesi ile rafinasyon işlemi Şekil 3.10'da verilmiştir.



Şekil 3.10. Proses Başlangıcında Toksin İlavesi İle Rafinasyon İşlemi

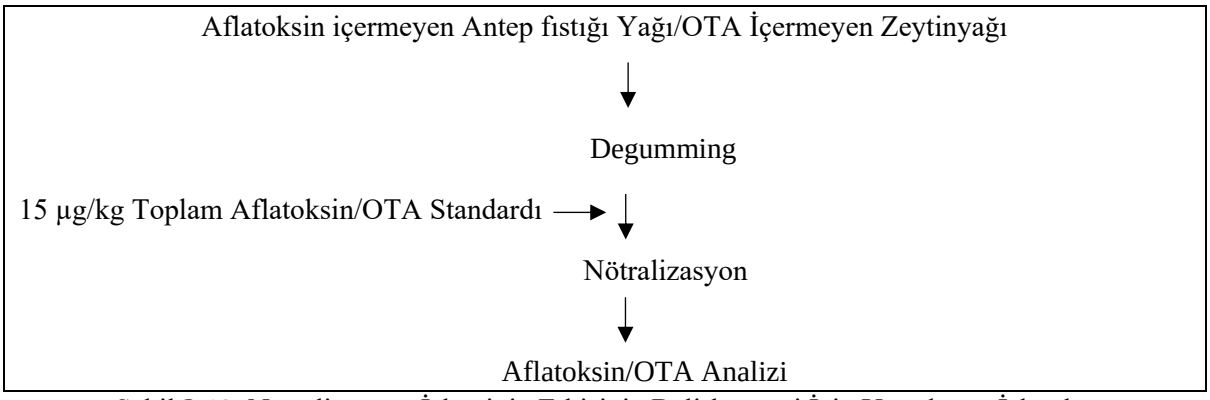
Herbir Rafinasyon Proses Başlangıcında Toksin Aşılaması ile Rafinasyon Sürecinin Değerlendirilmesi

Çalışmanın ikinci kısmında her rafinasyon işlem basamağının etkisi ayrı ayrı ölçülmüştür. Yine materyal olarak aflatoksin içermeyen Antep fıstığı yağı ve OTA içermeyen zeytinyağı örnekleri kullanılmıştır. Her işlem bitiminde örnek alımı gerçekleştirilmiş ve bu örneklere aflatoksin/OTA analizi yapılarak rafinasyon işlem basamaklarının Antep fıstığı yağında aflatoksin ve zeytinyağında OTA üzerine etkileri ayrı ayrı incelenmiştir. Degumming işleminin etkisinin incelendiği proses Şekil 3.11'de gösterilmiştir.



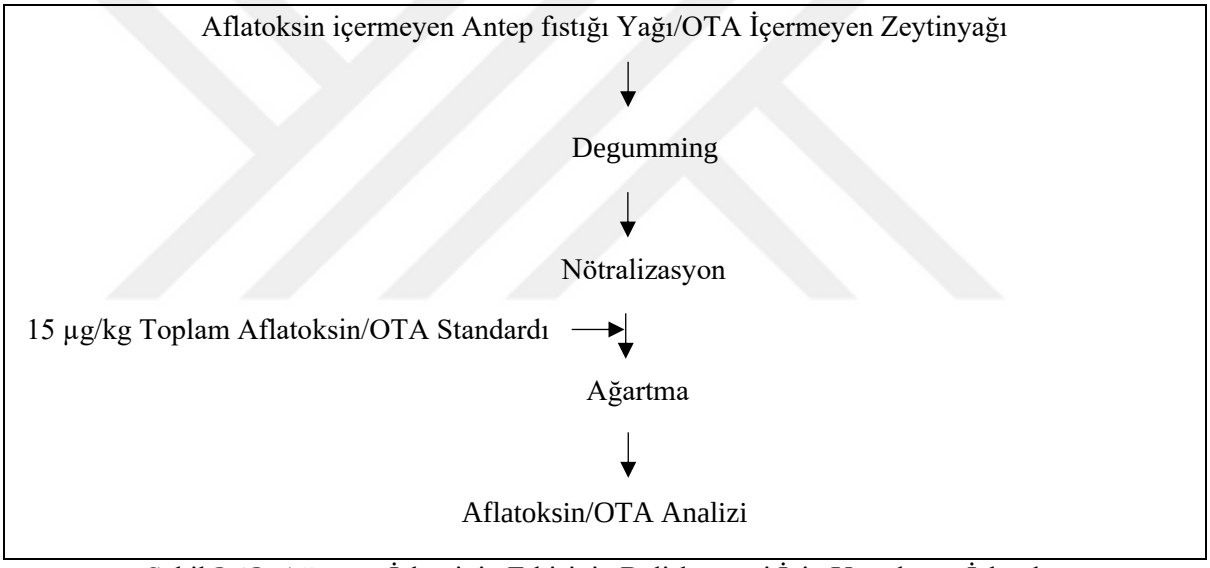
Şekil 3.11. Degumming İşleminin Etkisinin Belirlenmesi İçin Uygulanan İşlemler

Nötralizasyon işleminin etkisinin incelendiği proses Şekil 3.12'de gösterilmiştir.



Şekil 3.12. Nötralizasyon İşleminin Etkisinin Belirlenmesi İçin Uygulanan İşlemler

Ağartma işleminin etkisinin incelendiği proses Şekil 3.13'te gösterilmiştir.



Şekil 3.13. Ağartma İşleminin Etkisinin Belirlenmesi İçin Uygulanan İşlemler

3.2.12. İstatistiksel Değerlendirme

Araştırma sonucunda elde edilen sonuçlara SPSS 25.0 istatistik paket programı uygulanarak sonuçlar varyans analizine göre değerlendirilmiş ve önemli çıkan gruplar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile $p<0.05$ önem seviyesinde belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Antep fıstığı ve Zeytin Örneklerinde Nem ve Su Aktivitesi Değerleri

Tarımsal ürünlerde mikotoksin oluşumu için en önemli çevresel koşullar, o ürünün % nem ve su aktivitesi değerleridir. Çalışmamızda piyasadan toplanan 20 adet Antep fıstığı ve 20 adet zeytin örneğinin nem ve su aktivitesi değerleri ölçülmüştür.

Antepfıstığı örneklerinde % Nem ve Su aktivitesi değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Antep fıstığı Örneklerinde % Nem Miktarı ve Su Aktivitesi Değerleri

Örnek No	**Nem (%)**	**Su Aktivitesi**
1	3.40	0.56
2	3.79	0.55
3	3.72	0.55
4	3.65	0.55
5	3.62	0.55
6	3.68	0.55
7	3.65	0.55
8	3.47	0.55
9	3.47	0.55
10	3.41	0.56
11	3.40	0.55
12	3.71	0.55
13	3.58	0.56
14	3.64	0.56
15	3.62	0.55
16	3.48	0.55
17	3.40	0.56
18	3.56	0.55
19	3.60	0.55
20	3.68	0.55
Ortalama	3.58	0.55

Antep fıstığı örneklerinin ortalama % Nem Miktarı 3.58 ve su aktivitesi değerleri 0.55 olarak bulunmuştur. Türk Standartları Enstitüsü Antep fıstığı Standardı'na (TS 1280) göre Antep fıstığının nem miktarının en fazla %6.5 oranında olması gerekmektedir. Nejad ve ark., 2003 yılında İran'da yaptıkları çalışmada Antep fıstığı örneklerindeki nem değerinin % 4'ün altında ve su aktivitesi değerlerinin ise 0.60'ın altında olduğunu tespit etmişlerdir. Polat, 2006 yılında melengiç ve Antep

fıstığı meyvelerinde kurutmanın bazı meyve özellikleri üzerine yaptığı çalışmada Antep fıstığı örneklerinde ortalama % nem miktarını 2.74 olarak tespit etmiştir. Çınar, 2012 yılında farklı Antep fıstığı çeşitlerinin bazı kalite özelliklerini araştırdığı çalışmada iki yıl boyunca örnek alımı yapmış ve örneklerdeki nem miktarının %3.13-4.67 arasında olduğunu belirlemiştir. Öksüzler 2015 yılında Antep fıstığında kavurmanın oksidatif stabilite üzerine yaptığı çalışmada, Antep fıstığı örneklerinde % nem miktarını 5.48 olarak ölçmüştür.

Aflatoksin üretimi sıcaklık, su aktivitesi, pH ve karbon ve nitrojen kaynağı gibi çeşitli dış etkenlerden ve büyüme koşullarından önemli ölçüde etkilenmektedir. Özellikle su aktivitesi ve sıcaklık toksijnenik *Aspergillus* türlerinin gelişimini sınırlayıcı faktörlerdir. (Liu ve ark., 2017). Baazeem ve ark., 2021 yılında Antep fıstığında *A. flavus* suşlarının üremesi ve AFB1 üretimi üzerine abiyotik faktörlerin etkisini inceledikleri çalışmada, dört farklı sıcaklıkta (20-25-30 ve 35 °C) ve 0.80 üzerindeki su aktivitesi değerlerinde araştırma yapmışlardır. Çalışma sonucunda Antep fıstığında AFB1 üretiminin 0.92 a_w'den sonra başladığını ve maksimumu üretimin 35 °C'de ve 0.98 a_w'de olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda kullandığımız Antep fıstığı örnekleri kurutulmuş olduğu için su aktivitesi ve nem değerleri küf gelişimi ve aflatoksin biyosentezi için oldukça düşüktür. Ancak bu durum, örneklerin tamamen aflatoksin açısından temiz olduğu anlamına gelmemektedir, çünkü kurutma öncesi proseslerde aflatoksin oluşumu gerçekleşmişse, örneklerde aflatoksin tespit edilebilir.

Zeytin örneklerinde % Nem ve Su Aktivitesi Değerleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Zeytin Örneklerinde % Nem ve Su Aktivitesi Değerleri

Örnek No	**Nem (%)**	**Su Aktivitesi**
1	41.29	0.95
2	43.01	0.96
3	42.36	0.96
4	41.03	0.95
5	40.13	0.94
6	39.64	0.93
7	39.85	0.94
8	42.52	0.96
9	42.54	0.96
10	40.86	0.95
11	40.74	0.95
12	43.21	0.97
13	42.30	0.96
14	43.34	0.97
15	43.68	0.97
16	42.60	0.96
17	42.85	0.96
18	40.59	0.95
19	42.91	0.96
20	43.86	0.97
Ortalama	41.97	0.96

Zeytin örneklerinde yaptığımız analizlerde, ortalama Nem Miktarı % 41.97 ve Su Aktivitesi Değeri 0.96 olarak bulunmuştur. Almoselhy, 2020 yılında, Mısır'da yaptığı çalışmada yeşil zeytinlerde ortalama nem miktarının % 49.29 olduğunu tespit etmiştir. Öztürk Güngör ve ark., 2019 yılında İzmir'de yaptığı çalışmada, yeşil zeytin örneklerinde su aktivitesi değerlerinin 0.96-0.97 aralığında olduğunu tespit etmiştir. Lappa ve ark., 2017 yılında yaptıkları çalışmada *A. corbonarius*'un maksimum OTA üretimini 0.93-0.96 a_W değerleri arasında yaptığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda kullandığımız örnekler taze zeytin olduğu için su aktivitesi ve nem değerleri en yüksek seviyededir. Zeytinde OTA oluşumunda, bu parametrelerin yanı sıra, küflerin meyveyi kontamine etmesi için ayrıca meyvenin mekanik hasarlanması ya da sinek ve böcek etkisi ile hasar görmesi gibi faktörler de süreci hızlandırmaktadır (Var ve ark., 2011).

4.2. Antep fıstığı ve Zeytin Örneklerinde Küf Sayımı ve Tanımlanması

Mikotoksin oluşumunda çevresel faktörlerin yanı sıra gıdaya bulaşan toksijenik küfün miktarı da önemlidir. Çalışmada kullanılan örneklerdeki toplam küf sayısı belirlenmiş ve küf tanımlaması yapılmıştır. Antep fıstığı örneklerinde küf sayımı sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Antep Fıstığı Örneklerinde Küf Sayımı Sonuçları

Örnek No	**Küf Sayısı (kob/g)**
1	$1.20x10^2$
2	$1.25x10^2$
3	$1.84x10^5$
4	$1.41x10^3$
5	$1.80x10^4$
6	TE
7	$1.70x10^2$
8	$1.20x10^2$
9	$6.15x10^2$
10	$7.15x10^2$
11	$7.40x10^2$
12	$2.65x10^2$
13	$1.12x10_2$
14	$6.05x10^2$
15	$1.35x10^2$
16	$2.10x10^2$
17	TE
18	$1.07x10^2$
19	$9.45x10^2$
20	$8.85x10^2$

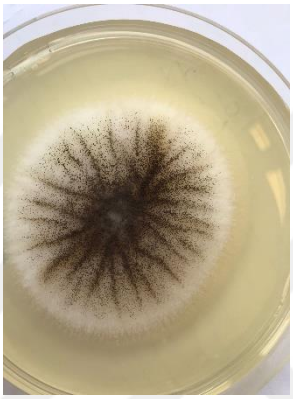
TE: Tespit edilemedi

Çizelge 4.3 incelendiğinde 20 Antep fıstığı örneğinin 18'inde küf tespit edildiği görülmektedir. 15 örnekte 10^2 kob/g, 1 örnekte 10^3 kob/g, 1 örnekte 10^4 kob/g ve 1 örnekte 10^5 kob/g düzeyinde küf tespit edilmiş olup 2 örnek küf açısından temiz bulunmuştur.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği "1.7. Meyve ve sebzeler ile bunların işlenmiş ürünleri" başlığı altında "Kurutulmuş veya dondurulmuş meyveler" maddesinde toplam küf sayısı maksimum 10^4 kob/g olarak verilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız 20 Antep fıstığı

örneğinin 2 (%10)'sinde yasal limitlerin üzerinde küf varlığı tespit edilmiştir. Set ve Erkmen, 2010 yılında Antep fıstığı ve kırmızı biberde aflatoksin varlığını araştırdıkları çalışmada, piyasadan topladıkları 95 Antep fıstığı örneğinin 1'inin yasal limitleri üzerinde olduğunu belirlemişlerdir (Anonim 4).

İzole edilen küfler tanımlanarak aflatoksin üreten küflerin varlığı araştırılmıştır. Antep fıstığından 24 küf izolatı elde edilmiştir. Bu izolatlardan 11'i (%45.80) *A. niger,* 9'u (%37.5) *A. flavus,* 2'si (%8.33) *Penicillium* spp. ve 1'i (%4.17) *Alternaria* spp. olarak tanımlanmış, 1 (%4.17) izolat ise tanımlanamamıştır. *A. niger*'in tek koloni düşürülmüş PDA besiyerindeki görüntüsü Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. *Aspergillus niger*'in Tek Koloni Düşürülmüş PDA Besiyerindeki Görüntüsü (25 ^{o}C'de 72. saat)

Denizel ve ark. 1976 yılında Gaziantep'te yaptıkları çalışmada Antep fıstığı meyve dış yüzeyinde *A. niger, A. flavus ve Penicillium* spp. türlerinin mevcut olduğunu, bununla birlikte meyve iç dokularında ise herhangi bir küf kontaminasyonun olmadığını bildirmişlerdir. Doster ve Michailides, California'da 11 Antep fıstığı bahçesinden 1991 ve 1992 yıllarında topladıkları örneklerde, 14 farklı *Aspergillus* türünün bulunduğunu tespit etmişlerdir. Tespit ettikleri türler arasında aflatoksin üreticisi olan *A. flavus* ve *A. parasiticus* ile OTA üreticisi *A. ochraceus* ve *A. melleus*'un da bulunduğunu ancak en yaygın olan türün *A. niger* (%30) olduğunu bildirmişlerdir. (Doster ve Michailides, 1994). Heperkan ve arkadaşları tarafından 1994 yılında Gaziantep'in farklı bölgelerinden alınan Antep fıstığı örneklerinde küf sayımı ve tanımlamasının yapıldığı bir araştırmada, bahçeden alınan örneklerdeki toplam küf sayısı 10^3-10^6 aralığında olduğu belirlenmiştir. Küf kolonilerinin tanımlaması yapıldığında ise Antep fıstığı mikroflorasında en baskın türün *A. niger* olduğunu onu sırasıyla *A. flavus* ve *Penicillium* spp.'nin takip ettiğini bildirmişlerdir. Set ve Erkmen, 2010 yılında yaptıkları çalışmada iki yıl boyunca topladıkları 120 Antep fıstığı örneğinin sadece 1'inde toplam küf sayısının 10^4'ün üzerinde olduğunu diğerlerinin ise bu değerin altında olduğunu tespit etmişlerdir (Heperkan ve ark., 1994; Set ve Erkmen, 2010).

Zeytin örneklerinde küf sayımı sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Zeytin Örneklerinde Küf Sayımı Sonuçları

Örnek No	**Küf Sayısı (kob/g)**
1	$7.60x10^4$
2	$6.00x10^2$
3	$4.60x10^4$
4	$6.10x10^3$
5	$8.20x10^2$
6	$5.60x10^2$
7	$1.26x10^5$
8	$7.12x10^2$
9	$2.76x10^5$
10	$7.70x10^4$
11	$1.26x10^3$
12	$1.25x10^3$
13	$1.15x10^3$
14	$6.20x10^3$
15	$5.55x10^3$
16	$1.40x10^3$
17	$6.10x10^3$
18	$4.61x10^5$
19	$1.87x10^5$
20	$1.26x10^4$

TE: Tespit edilemedi

Çizelge 4.4 incelendiğinde 20 zeytin örneğinin tümünde küf tespit edildiği görülmektedir. 4 örnekte 10^2 kob/g, 8 örnekte 10^3 kob/g, 4 örnekte 10^4 kob/g ve 4 örnekte ise 10^5 kob/g düzeyinde küf tespit edilmiştir.

İzole edilen küfler tanımlanarak OTA üreten küflerin varlığı araştırılmıştır. Zeytinde 35 küf izolatı tanımlanmış, bunların 14'ü (%40) *Penicillium* spp., 9'u (%25.71) *A. niger*, 4'ü (%11.43) *A. ochraceus*, 3'ü (%8.57) *Mucor* spp., 2'si (% 5.72), *A. flavus*, 2'si (%5.72) *Alternaria* spp. ve 1'i (%2.86) de *Trichoderma* spp. olarak tanımlanmıştır.

Roussos ve ark., 2003-2004 yıllarında Fas'ta iki yıl boyunca topladıkları 136 bozulmuş zeytin ve zeytin küspesi örneğinden izole ettikleri 285 küf suşunu tanımlamışlardır. Tanımladıkları suşlardan en baskın türlerin *Penicillium* spp. (%34.13) ve *Aspergillus* spp. (%26.94) olduğunu tespit

etmişlerdir. Özsoy, 2019 yılında yaptığı çalışmada Çanakkale ve ilçelerinden bulunan zeytin bahçelerinden 35 örnek almış ve bu örneklerden 57 izolat elde etmiştir. Bu izolatların 11'inin *Penicillium* spp., 5'inin *Alternaria* spp., ve 5'inin *Aspergillus* spp.'nin olduğunu bildirmiştir.

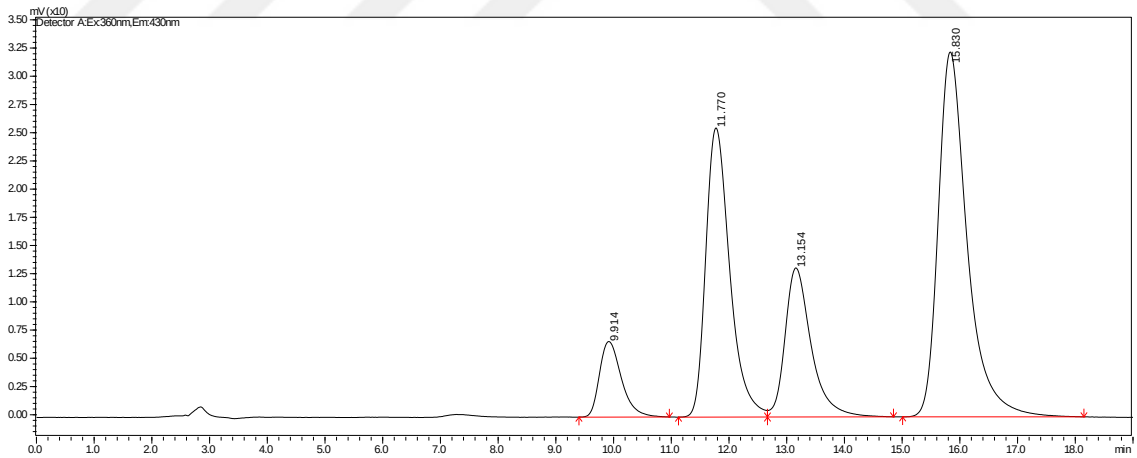
4.3. Aflatoksin ve OTA Analizleri Metot Performanslarının Değerlendirilmesi

Laboratuvar analizlerinde güvenilir sonuçlar ile seçilen metodun doğrulanması yani metodun validasyonu arasında doğrudan bir ilişki vardır. Metot validasyonu, bir yöntemin ilgili performans kriterlerine uygunluğunun saptanması için, ölçüm sonuçlarının doğruluğunu ortaya koymak amacıyla yapılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan aflatoksin ve OTA analizlerinin metot performanslarını ölçmek amacıyla geri kazanım, LOD, LOQ ve tekrarlanabilirlik çalışmaları yapılmıştır.

4.3.1. Aflatoksin Analizleri Metot Performanslarının Değerlendirilmesi

Çalışmada Antep fıstığından, Antep fıstığı yağından ve Antep fıstığı küspesinden aflatoksin analizi yapılmıştır.

Şekil 4.2'de kalibrasyon eğrisi oluşturmak amacıyla HPLC cihazına enjekte edilen AFG_2 (1.20 µg/L), AFG_1 (4.00 µg/L) AFB_2 (1.20 µg/L) ve AFB_1 (4.00 µg/L), standartlarına ait HPLC-FLD kromatogramları yer almaktadır. Alıkonma zamanları,AFG_2 için 9.914 dk, AFG_1 için 11.770 dk., AFB_2 için 13.154 dk. ve AFB_1 için 15.830 dk. olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.2. AFG_2, AFG_1, AFB_2 ve AFB_1 HPLC-FLD Kromatogramı

Metot validasyonu amacıyla gerçekleştirilen Tayin Limiti (LOD), Ölçüm Limiti (LOQ), geri kazanım ve tekrarlanabilirlik çalışmalarının sonuçları ise Çizelge 4.5'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.5. Aflatoksin LOD, LOQ, Geri Kazanım ve Tekrarlanabilirlik Değerleri

		LOD (µg/kg)	**LOQ (µg/kg)**	**Geri Kazanım (%)**	**Tekrarlanabilirlik (%)**
Antep fıstığı	AFG_2	0.048	0.160	94.2	1.42
	AFG_1	0.053	0.177	92.9	4.51
	AFB_2	0.054	0.180	91.3	0.64
	AFB_1	0.064	0.213	90.4	4.49
Antep fıstığı Yağı	AFG_2	0.064	0.213	90.5	2.01
	AFG_1	0.070	0.233	88.4	3.41
	AFB_2	0.063	0.210	94.2	1.91
	AFB_1	0.058	0.193	91.6	4.72
Küspe	AFG_2	0.061	0.203	91.2	1.79
	AFG_1	0.071	0.237	92.3	2.29
	AFB_2	0.069	0.230	90.6	1.21
	AFB_1	0.076	0.253	89.8	5.73

Çizelge 4.5 incelendiğinde kullanılan analiz metoduyla Antep fıstığında uygulanan aflatoksin metodu için LOD değerleri AFG_2 için 0.048 µg/kg, AFG_1 için 0.053 µg/kg, AFB_2 için 0.054 µg/kg ve AFB_1 için 0.064 µg/kg olarak bulunmuştur. Bu metotla elde edilen LOQ değerleri ise AFG_2 için 0.160 µg/kg, AFG_1 için 0.177 µg/kg, AFB_2 için 0.180 µg/kg ve 0.213 µg/kg olarak bulunmuştur. Geri kazanım değerleri AFG_2 için %94.2, AFG_1 için %92.9, AFB_2 için %91.3 ve AFB_1 için %90.4 olarak belirlenmiştir. Tekrarlanabilirlik değerleri ise AFG_2 için % 1.42, AFG_1 için % 4.51, AFB_2 için % 0.64, AFB_1 için % 4.49 olarak bulunmuştur. Antep fıstığında uygulanan aflatoksin metodu, 2018/10 sayılı Türk Gıda Kodeksi Gıdalardaki Mikotoksin Seviyelerinin Resmi Kontrolü İçin Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği kriterlerine uygun olarak bulunmuştur (Anonim 5)

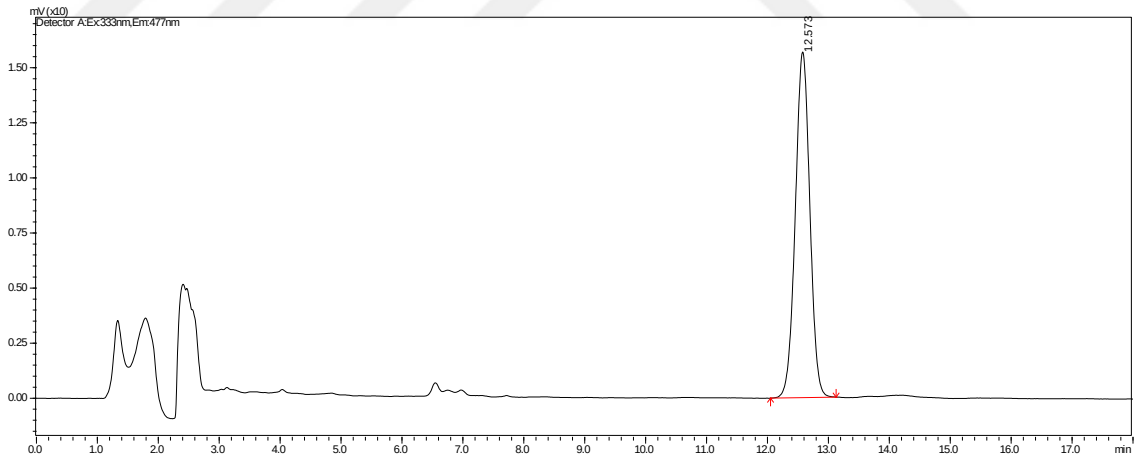
Antep fıstığı yağında kullanılan analiz metodunda LOD değerleri AFG_2 için 0.064 µg/kg, AFG_1 için 0.070 µg/kg, AFB_2 için 0.063 µg/kg ve AFB_1 için 0.058 µg/kg olarak bulunmuştur. Bu metotla elde edilen LOQ değerleri, AFG_2 için 0.213 µg/kg, AFG_1 için 0.233 µg/kg, AFB_2 için 0.210 µg/kg ve 0.193 µg/kg olarak bulunmuştur. Antep fıstığı yağından geri kazanım değerleri AFG_2 için %90.5, AFG_1 için %88.4, AFB_2 için % 94.2 ve AFB_1 için %91.6 olarak belirlenmiştir. Tekrarlanabilirlik değerleri ise AFG_2 için % 2.01, AFG_1 için % 3.41, AFB_2 için % 1.91, AFB_1 için % 4.72 olarak bulunmuştur. Antep fıstığı yağında uygulanan aflatoksin metodu, 2018/10 sayılı Türk Gıda Kodeksi Gıdalardaki Mikotoksin Seviyelerinin Resmi Kontrolü İçin Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği kriterlerine uygun olarak bulunmuştur (Anonim 4)

Antep fıstığı küspesinde kullanılan analiz metodunda LOD değerleri AFG_2 için 0.061 µg/kg, AFG_1 için 0.071 µg/kg, AFB_2 için 0.069 µg/kg ve AFB_1 için 0.076 µg/kg olarak bulunmuştur. Bu metotla elde edilen LOQ değerleri ise AFG_2 için 0.203 µg/kg, AFG_1 için 0.237 µg/kg, AFB_2 için 0.230 µg/kg ve AFB_1 için 0.253 µg/kg olarak bulunmuştur. Antep fıstığı küspesinde geri kazanım değerleri AFG_2 için %91.2, AFG_1 için %92.3, AFB_2 için % 90.6 ve AFB_1 için %89.8 olarak bulunmuştur. Tekrarlanabilirlik değerleri ise AFG_2 için % 1.79, AFG_1 için % 2.29, AFB_2 için % 1.21, AFB_1 için % 5.73 olarak bulunmuştur. Antep fıstığı küspesinde uygulanan aflatoksin metodu, 2018/10 sayılı Türk Gıda Kodeksi Gıdalardaki Mikotoksin Seviyelerinin Resmi Kontrolü İçin Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği kriterlerine uygun olarak bulunmuştur (Anonim 5).

4.3.2. OTA Analizleri Metot Performansının Değerlendirilmesi

Çalışmada zeytin, zeytinyağı ve zeytin pirinasında OTA analizi yapılmıştır. Analizde kullanılan metotların performanslarını değerlendirmek amacıyla LOD, LOQ, geri alma ve tekrarlanabilirlik çalışmaları yürütülmüştür.

Şekil 4.3'de kalibrasyon eğrisi oluşturmak amacıyla HPLC cihazına enjekte edilen 20 µg/L OTA standartlarına ait HPLC-FLD kromatogramı yer almaktadır. OTA'nın alıkonma zamanı 12.573 dk. olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.3. HPLC-FLD'de OTA Kromatogramı

Metot validasyonu amacıyla gerçekleştirilen LOD, LOQ, geri kazanım ve tekrarlanabilirlik çalışmalarının sonuçları ise Çizelge 4.6'da özetlenmiştir.

Çizelge 4.6. OTA LOD, LOQ, Geri Kazanım ve Tekrarlanabilirlik Değerleri

	LOD (µg/kg)	**LOQ (µg/kg)**	**Geri Kazanım (%)**	**Tekrarlanabilirlik (%)**
Zeytin	0.107	0.357	88.20	3.23
Zeytinyağı	0.113	0.377	90.44	3.89
Pirina	0.106	0.353	91.45	3.86

Çizelge 4.6 incelendiğinde OTA ekstraksiyonu için kullanılan analiz metotlarında LOD değerleri zeytin için 0.107 µg/kg, zeytinyağı için 0.113 µg/kg ve zeytin pirinası için 0.106 µg/kg olarak bulunmuştur. Bu metotlarda elde edilen LOQ değerleri ise zeytin için 0.357 µg/kg, zeytinyağı için 0.377 µg/kg ve zeytin pirinası için 0.353 µg/kg olarak bulunmuştur. OTA'nın geri kazanım değerleri zeytin için %88.20, zeytinyağı için %90.44 ve zeytin pirinası için % 91.45 olarak bulunmuştur. Tekrarlanabilirlik değerleri ise zeytin için %3.23, zeytinyağı için %3.89 ve zeytin pirinası için % 1.86 olarak bulunmuştur. Uygulanan OTA metotları, 2018/10 sayılı Türk Gıda Kodeksi Gıdalardaki Mikotoksin Seviyelerinin Resmi Kontrolü İçin Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği kriterlerine uygun olarak bulunmuştur (Anonim 5).

4.4. Piyasadan Toplanan Antep fıstığı Örneklerinde Aflatoksin ve Zeytin Örneklerinde OTA Aranması

Bu çalışma, yağ ekstraksiyonunda kullanılacak örneklerin başlangıç toksin miktarlarının tespit edilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Antep fıstığı örnekleri kurutulmuş iç olarak, zeytin örnekleri ise yeşil zeytin formunda kullanılmıştır.

4.4.1. Antep fıstığı Örneklerinde Aflatoksin Aranması

Antep fıstığında aflatoksin oluşumu bahçeden depolamaya kadar üretimin her aşamasında gerçekleşebilmektedir. Örneğin tombul sınıfa giren Antep fıstığı çeşitlerinde aflatoksin oluşumu çoğunlukla meyveler ağaçtayken gerçekleşmektedir. Bu durum meyveler ağaçtayken meyve içinin fazla büyüyerek en dıştaki derimsi kabuğunu yırtması sonucunda meyvenin küf kontaminasyonuna maruz kalması ve dolayısıyla meyvede aflatoksin oluşmasıyla gerçekleşmektedir. (Afshari ve Hokmabadi, 2008) Bunun yanında hasat sırasında meyvenin hasar görmesi, meyve kurutmanın uygun olmayan şartlarda yapılması ve depolama şartlarının yetersizliği gibi birçok dış faktör aflatoksin oluşumuna neden olmaktadır. *Aspergillus* gelişiminin desteklendiği bir ortamda Antep fıstığında aflatoksin miktarlarının 1000 µg/kg değerinin bile üzerine çıkabilmektedir.(Schatzki ve DeKoe, 1999; Ahmadi ve Tajabadipour, 2011)

Çalışmamızda, piyasadan topladığımız 20 Antep fıstığı örneğinin 9 (%45)'unda aflatoksin varlığı tespit edilmiştir. Antep fıstığı örneklerinde yapılan aflatoksin analizi sonuçları Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Piyasadan Toplanan Antep Fıstığı Örneklerinde Tespit Edilen Aflatoksin Miktarları

Örnek No	**AFG_2**	**AFG_1**	**AFB_2**	**AFB_1**	**Toplam Aflatoksin**
1	TE	TE	TE	TE	TE
2	TE	TE	TE	TE	TE
3	3.82	26.62	2.36	33.10	65.90
4	0.11	6.78	2.86	2.81	12.56
5	6.15	5.61	2.20	8.20	22.16
6	TE	TE	TE	TE	TE
7	TE	TE	TE	TE	TE
8	TE	TE	TE	TE	TE
9	0.09	0.36	0.10	0.28	0.83
10	0.46	1.01	0.26	0.93	2.66
11	0.28	1.10	0.48	1.10	2.96
12	TE	TE	TE	TE	TE
13	TE	TE	TE	TE	TE
14	TE	0.11	0.08	0.16	0.35
15	TE	TE	TE	TE	TE
16	TE	TE	TE	TE	TE
17	TE	TE	TE	TE	TE
18	TE	TE	TE	TE	TE
19	0.83	3.27	1.45	3.01	8.56
20	0.55	0.56	2.19	1.93	5.23

TE: Tespit Limiti Değerinin (<LOD) altında

Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Tebliği'nde Antep fıstığında maksimum bulunması gereken aflatoksin miktarı AFB_1 için 8 µg/kg, Toplam Aflatoksin için ise 10 µg/kg olarak sınırlandırılmıştır. Aflatoksin tespit edilen 9 Antep fıstığı örneğinden 3'ünün Toplam Aflatoksin açısından (65.90, 12.56 ve 22.16 µg/kg), 2'sinin de aflatoksin B_1 (8.20 ve 33.10 µg/kg) açısından TGK'da belirtilen limitlerin üzerinde olduğu belirlenmiştir.

İran'da yapılan bir çalışmada, 2002-2003 yılları arasında toplanan 10068 Antep fıstığı örneğinde AFB_1 ve Toplam Aflatoksin varlığı araştırılmıştır. Yapılan analizler neticesinde 6369 örneğin AFB_1 tespit limitinin altında olduğu, 0-5 µg/kg aralığında 2508 örnekte, 5.01-20 µg/kg aralığında 595 örnekte, 20.01-50 µg/kg aralığında 294 örnekte, 50.01-500 µg/kg aralığında 295 ve

500 µg/kg üstü miktarlarda ise 7 örnekte AFB_1 tespit edilmiştir. Çalışmada Toplam Aflatoksin miktarlarının ise 7216 örnekte tespit limitinin altında olduğu, 1594 önekte 0-5 µg/kg aralığında, 503 örnekte 5.01-20 µg/kg aralığında, 430 örnekte 20.01-50 µg/kg aralığında, 314 örnekte 50.01-500 µg/kg aralığında ve 11 örnekte 500 µg/kg üstü miktarlarda toplam aflatoksin bulunduğu bildirilmiştir (Cheraghali ve ark., 2007).

2010 yılında İspanyada yapılan bir çalışmada 50 Antep fıstığı örneğinin 5'inin aflatoksinlerle bulaşık olduğu belirlenmiştir. Çalışmada örneklerdeki AFB_1 miktarının 2.21-1037.31 µg/kg aralığında değiştiği, Toplam Aflatoksin miktarlarının ise 3.04-1134.53 arasında değiştiği bildirilmiştir (Fernane ve ark., 2010).

2010 yılında İran'da yapılan bir çalışmada, İsfahan şehrinden toplanan 100 Antep fıstığı örneğinin 95'inde Toplam Aflatoksin varlığı tespit edilmiştir. Bu 95 örneğin 29'unun da Avrupa Birliği yasal limitlerinin üzerinde olduğu belirlenmiştir (Pour ve ark., 2010).

Sedefoğlu, (2013) İstanbul piyasasından topladığı 73 Antep fıstığı örneğinde aflatoksin varlığını araştırdığı çalışmasında 20 örneğin 0.01-23.45 µg/kg aralığında Toplam Aflatoksin içerdiğini tespit etmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ve dünyanın farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda Antep fıstığında aflatoksin oluşum potansiyelinin yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Antep fıstığında aflatoksin miktarları sıcaklık, su aktivitesi, küf kontaminasyonunun yoğunluğu ve süre gibi farklı parametrelere bağlı olarak değişmektedir. Çalışmamızda bazı örneklerde yasal limitlerin üzerinde AFB_1 ve Toplam Aflatoksin tespit edilmiştir. Antep fıstığı çerez olarak tüketilebildiği gibi tatlı ve çikolata gibi birçok gıdada katkı maddesi olarak kullanılan bir ürün olduğu için tüketim öncesinde yasal denetimlerin sıklaştırılması önemlidir.

4.4.2. Zeytin Örneklerinde OTA Aranması

Doymamış yağ asidi molekülleri oranı yüksek bir meyve olan zeytin, küf gelişimine müsait bir yapıdadır ve *Aspergillus* ile *Penicillium* türleri başta olmak üzere birçok küf türü zeytinde gelişip toksin oluşumuna ve bozulmaya neden olabilmektedir (El Adlouni ve ark., 2006). Zeytinde küf bulaşımı ağaç üzerinde gerçekleşebildiği gibi, hasat sonrasında da gerçekleşebilir. Özellikle zeytin sineği tarafından hasar görmüş meyveler, hasat esnasında zarar görmüş meyveler ve güneş altında bekletilmiş meyvelerde mikotoksin oluşumunun yoğun olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda zeytinde sitrinin ve OTA'nın sıklıkla görülebildiği; ayrıca penisilik asit, aflatoksin, sterigmatosistin ve patulin gibi mikotoksinlerin de görülebilmektedir (Heperkan ve ark., 2009).

Çalışmamızda piyasadan temin edilen 20 yeşil zeytin örneğinin 11'inde OTA varlığı tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen veriler Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Piyasadan Toplanan Zeytin Örneklerinde Tespit Edilen OTA Miktarları

Örnek No	**Okratoksin A (µg/kg)**
1	1.99
2	TE
3	0.83
4	0.16
5	TE
6	TE
7	8.64
8	TE
9	10.43
10	1.63
11	TE
12	TE
13	TE
14	0.59
15	TE
16	TE
17	0.18
18	12.01
19	7.87
20	0.92

TE: Tespit Limiti Değerinin (<LOD) altında

OTA tespit edilen örneklerdeki OTA miktarları 0.16-12.01 µg/kg aralığında değişmiştir. AB limitlerinde ve TGK Bulaşanlar Tebliği'nde, Avrupa Birliği Kriterlerinde ve Codex Alimentarius'ta zeytinde OTA için bir kriter belirlenmediği için yasal limitler ile bir karşılaştırma yapılamamıştır.

Finoli ve ark. (2005) Sicilya'da 45 siyah ve yeşil zeytin örneğinin 30'unda 1.01-8.40 µg/kg aralığında OTA tespit etmişlerdir. Ghitaku ve ark. 2006 yılında Atina pazarından aldıkları 30 zeytin örneğinin 2'sinde 1.18 ve 1.86 µg/kg aralığında OTA bulunduğunu belirlemişlerdir. Benzer bir çalışmada El Adlouni ve ark. 2006 yılında Fas'ta perakende satış yerlerinden ve süpermarketten aldığı 10 zeytin örneğinin 6'sında 0.31-1.02 µg/kg aralığında OTA bulunduğunu belirlemişlerdir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise Dazkır, (2010) İstanbul piyasasından topladığı 30 zeytin örneğinin 22'sinde (%73.33) 0.54-2.99 µg/kg aralığında, OTA tespit etmiştir.

Literatür bilgileri ile bu çalışmada elde edilen veriler karşılaştırıldığında, henüz herhangi bir yasal limit getirilmemiş olsa da zeytinlerde OTA oluşabildiği, hatta bazı durumlarda çok yüksek

miktarlara ulaşabildiği görülmektedir. Çalışmamızda kullandığımız zeytin örneklerinde %55 gibi yüksek bir oranda OTA tespit edilmiştir, benzer bir şekilde Dazkır'ın (2010) çalışmasında da %73.33 oranında zeytinlerde OTA bulunduğu bildirilmiştir.

4.5. Yağ Ekstraksiyonu Metotlarının Antep fıstığında Aflatoksin ve Zeytinde OTA Miktarlarına Etkisi

Mikotoksinler ile kontamine yağlı bitkisel ürünlerden yağ elde edilerek, yağa düşük miktarlarda mikotoksin geçişi sağlanabilmektedir (Parker ve Melnick, 1966; Bordin ve ark., 2014; Sahin ve ark., 2021; Var ve Uçkun, 2021). Antep fıstığında aflatoksinler yasal limitlerin üzerinde olması veya zeytinde OTA'nın yüksek miktarlarda bulunması bu ürünleri sağlık açısından riskli bir hale getirmekle beraber, imha edilmeleri gerektiğinden büyük ekonomik kayıplar da söz konusu olmaktadır. Bu çalışmada farklı ekstraksiyon metotlarının Antep fıstığında aflatoksin ve zeytinde OTA üzerine etkileri araştırılmış ve ekstraksiyon metotları arasındaki farklılıklar ortaya konmuştur.

Çalışmada doğal kontamine ve toksin aşılanmış Antep fıstığı ve zeytin örneklerinden farklı ekstraksiyon metotları ile yağ elde edilmiştir. Kullanılan ekstraksiyon metotları, soğuk pres ve sıcak pres ile soxhlet ile yağ ekstraksiyonu (n-hekzan ve petrol eteri) metotlarıdır. Elde edilen Antep fıstığı yağı örneklerinde aflatoksin analizi, zeytinyağı örneklerinde ise OTA analizi yapılarak yağa geçen toksin miktarı bakımından ekstraksiyon metotlarının karşılaştırması yapılmıştır.

4.5.1. Farklı Ekstraksiyon Metotlarının Antep fıstığından Yağa Geçen Aflatoksin Miktarına Etkisi

Doğal Kontamine Antep fıstığı Örneklerinden Yağ Ekstraksiyonu

Doğal kontamine Antep fıstığı örneklerinden farklı ekstraksiyon metotları kullanılarak yağ ve küspe elde edilmiştir. Ekstraksiyon bitiminde yağ ve küspe örneklerine aflatoksin analizi yapılarak, hammaddedeki aflatoksinin yağa geçişi ve küspesinde kalan miktarları incelenmiştir.

Soğuk sıkım metodu ile yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilen veriler, her bir örnek için ayrı ayrı olmak koşulu ile Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Soğuk Sıkım Yağ Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Antep Fıstığı Örneklerinden Antep Fıstığı Yağına Geçen ve Küspesinde Kalan Aflatoksin Miktarları

	Başlangıç Aflatoksin Miktarları (µg/kg)					Yağa Geçen Aflatoksin Miktarları (µg/kg)					Küspede Kalan Aflatoksin Miktarları (µg/kg)				
Örnek No	**AFG_2**	**AFG_1**	**AFB_2**	**AFB_1**	**Toplam Aflatoksin**	**AFG_2**	**AFG_1**	**AFB_2**	**AFB_1**	**Toplam Aflatoksin**	**AFG_2**	**AFG_1**	**AFB_2**	**AFB_1**	**Toplam Aflatoksin**
3	3.82	26.62	2.36	33.10	65.90	0.68	5.30	0.62	6.47	13.07	2.37	14.83	1.44	18.21	36.84
4	0.11	6.78	2.86	2.81	12.56	0.02	1.17	0.52	0.91	2.62	0.07	4.14	1.81	1.79	7.81
5	6.15	5.61	2.20	8.20	22.16	0.98	1.05	0.41	1.68	4.12	3.76	3.48	1.39	4.92	13.54
9	0.09	0.36	0.10	0.28	0.83	0.02	0.07	0.02	0.06	0.17	0.06	0.21	0.07	0.20	0.53
10	0.46	1.01	0.26	0.93	2.66	0.08	0.19	0.04	0.17	0.49	0.29	0.59	0.18	0.66	1.71
11	0.28	1.10	0.48	1.10	2.96	0.04	0.21	0.07	0.18	0.50	0.19	0.67	0.33	0.77	1.96
19	0.83	3.27	1.45	3.01	8.56	0.12	0.62	0.19	0.48	1.41	0.55	1.90	0.96	1.93	5.33
20	0.55	0.56	2.19	1.93	5.23	0.09	0.11	0.23	0.41	0.84	0.35	0.32	1.38	1.27	3.32
Ortalama	1.54	5.66	1.49	6.42	15.11	0.25	1.09	0.26	1.30	2.90	0.96	3.27	0.95	3.72	8.88

Kavrulmuş örneklerden soğuk sıkım metodu ile yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilen veriler, her bir örnek için ayrı ayrı olmak koşulu ile Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Kavrulmuş Örneklerden Soğuk Sıkım Yağ Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Antep Fıstığı Örneklerinden Antep Fıstığı Yağına Geçen ve Küspesinde Kalan Aflatoksin Miktarları

	Başlangıç Aflatoksin Miktarları (µg/kg)					Yağa Geçen Aflatoksin Miktarları (µg/kg)					Küspede Kalan Aflatoksin Miktarları (µg/kg)				
Örnek No	**AFG_2**	**AFG_1**	**AFB_2**	**AFB_1**	**Toplam Aflatoksin**	**AFG_2**	**AFG_1**	**AFB_2**	**AFB_1**	**Toplam Aflatoksin**	**AFG_2**	**AFG_1**	**AFB_2**	**AFB_1**	**Toplam Aflatoksin**
3	3.82	26.62	2.36	33.1	65.9	0.63	3.71	0.33	6.44	10.93	2.46	16.72	1.44	19.42	40.05
4	0.11	6.78	2.86	2.81	12.56	0.02	1.19	0.43	0.46	2.1	0.07	4.73	1.87	1.79	8.46
5	6.15	5.61	2.2	8.2	22.16	0.95	1.06	0.39	1.58	4.11	3.76	3.94	1.54	5.56	14.8
9	0.09	0.36	0.1	0.28	0.83	0.02	0.07	0.02	0.05	0.16	0.06	0.25	0.07	0.2	0.58
10	0.46	1.01	0.26	0.93	2.66	0.07	0.18	0.04	0.16	0.46	0.33	0.68	0.18	0.67	1.86
11	0.28	1.1	0.48	1.1	2.96	0.04	0.2	0.07	0.17	0.47	0.19	0.76	0.33	0.78	2.06
19	0.83	3.27	1.45	3.01	8.56	0.12	0.58	0.21	0.48	1.4	0.56	2.35	1.01	2.11	6.03
20	0.55	0.56	2.19	1.93	5.23	0.09	0.1	0.32	0.31	0.89	0.4	0.38	1.5	1.29	3.57
Ortalama	1.54	5.66	1.49	6.42	15.11	0.24	0.89	0.23	1.21	2.57	0.98	3.73	0.99	3.98	9.68

n-Hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu sonucunda elde edilen veriler, her bir örnek için ayrı ayrı olmak koşulu ile Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. n-hekzan ile Soxhlet Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Antep Fıstığı Örneklerinden Antep Fıstığı Yağına Geçen ve Küspesinde Kalan Aflatoksin Miktarları

	Başlangıç Aflatoksin Miktarları (µg/kg)					**Yağa Geçen Aflatoksin Miktarları (µg/kg)**					**Küspede Kalan Aflatoksin Miktarları (µg/kg)**				
Örnek No	**AFG_2**	**AFG_1**	**AFB_2**	**AFB_1**	**Toplam Aflatoksin**	**AFG_2**	**AFG_1**	**AFB_2**	**AFB_1**	**Toplam Aflatoksin**	**AFG_2**	**AFG_1**	**AFB_2**	**AFB_1**	**Toplam Aflatoksin**
3	3.82	26.62	2.36	33.1	65.9	0.55	3.79	0.24	2.71	7.34	2.78	19.5	1.72	25.37	49.37
4	0.11	6.78	2.86	2.81	12.56	0.01	0.57	0.36	0.23	1.12	0.08	5.03	2.08	2.17	9.39
5	6.15	5.61	2.2	8.2	22.16	0.65	0.63	0.22	0.84	2.35	4.74	4.21	1.75	6.15	16.85
9	0.09	0.36	0.1	0.28	0.83	0.01	0.04	0.01	0.04	0.09	0.06	0.24	0.08	0.21	0.59
10	0.46	1.01	0.26	0.93	2.66	0.02	0.07	0.02	0.07	0.18	0.31	0.72	0.18	0.72	1.94
11	0.28	1.1	0.48	1.1	2.96	0.02	0.11	0.01	0.05	0.19	0.18	0.75	0.38	0.9	2.2
19	0.83	3.27	1.45	3.01	8.56	0.13	0.48	0.11	0.25	0.74	0.6	2.25	1.07	2.15	6.07
20	0.55	0.56	2.19	1.93	5.23	0.04	0.04	0.18	0.18	0.46	0.44	0.41	1.67	1.54	4.05
Ortalama	1.54	5.66	1.49	6.42	15.11	0.18	0.72	0.14	0.55	1.56	1.15	4.14	1.12	4.90	11.31

Petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonu sonucunda elde edilen veriler, her bir örnek için ayrı ayrı olmak koşulu ile Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Petrol Eteri ile Soxhlet Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Antep Fıstığı Örneklerinden Antep Fıstığı Yağına Geçen ve Küspesinde Kalan Aflatoksin Miktarları

	Başlangıç Aflatoksin Miktarları (µg/kg)					**Yağa Geçen Aflatoksin Miktarları (µg/kg)**					**Küspede Kalan Aflatoksin Miktarları (µg/kg)**				
Örnek No	**AFG_2**	**AFG_1**	**AFB_2**	**AFB_1**	**Toplam Aflatoksin**	**AFG_2**	**AFG_1**	**AFB_2**	**AFB_1**	**Toplam Aflatoksin**	**AFG_2**	**AFG_1**	**AFB_2**	**AFB_1**	**Toplam Aflatoksin**
3	3.82	26.62	2.36	33.1	65.9	0.38	3.18	0.26	4.02	7.74	2.87	20.36	1.79	22.84	47.85
4	0.11	6.78	2.86	2.81	12.56	0.01	0.82	0.33	0.35	1.51	0.08	5.17	2.15	1.96	9.37
5	6.15	5.61	2.2	8.2	22.16	0.57	0.64	0.22	0.9	2.4	4.64	4.32	1.69	6.81	17.45
9	0.09	0.36	0.1	0.28	0.83	0.01	0.04	0.01	0.03	0.09	0.07	0.27	0.08	0.22	0.64
10	0.46	1.01	0.26	0.93	2.66	0.05	0.12	0.03	0.15	0.34	0.36	0.75	0.2	0.68	1.98
11	0.28	1.1	0.48	1.1	2.96	0.03	0.12	0.04	0.14	0.32	0.21	0.89	0.38	0.79	2.27
19	0.83	3.27	1.45	3.01	8.56	0.09	0.39	0.17	0.37	1.01	0.61	2.54	1.09	2.17	6.41
20	0.55	0.56	2.19	1.93	5.23	0.05	0.06	0.17	0.22	0.51	0.44	0.41	1.64	1.49	3.98
Ortalama	1.54	5.66	1.49	6.42	15.11	0.15	0.67	0.15	0.77	1.74	1.16	4.34	1.13	4.62	11.24

Bu çalışmada kullanılan doğal kontamine Antep fıstığı örneklerinin her biri farklı toplam aflatoksin miktarına (0.83-65.90 µg/kg)msahiptir. Dolayısıyla ekstraksiyon metotları arasında bir karşılaştırma yapabilmek için, yağa geçen aflatoksinin başlangıca göre hangi oranda azaldığı hesaplanmış ve karşılaştırmalar bu değerler üzerinden yapılmıştır. Farklı ekstraksiyon metotlarının, doğal kontamine Antep fıstığı örneklerinden yağa geçen aflatoksin oranlarına etkisi Çizelge 4.13'te verilmiştir.

Çizelge 4.13. Doğal Kontamine Antep fıstığı Örneklerinden Farklı Ekstraksiyon Metotları ile Yağa Geçen Aflatoksin Oranları (%)

	Ekstraksiyon Metotları			
	Soğuk Sıkım	**Kavrulmuş Örneklerden Soğuk Sıkım**	**n-hekzan ile Soxhlet Ekstraksiyonu**	**Petrol Eteri ile Soxhlet Ekstraksiyonu**
Yağa Geçen AFG_2 Oranı (%)	16.75±1.48 a	15.77±0.93 a	10.14±3.87 b	9.84±.0.51 b
Yağa Geçen AFG_1 Oranı (%)	18.83±0.89 a	17.64±1.61 a	10.48±2.88 b	11.39±0.76 b
Yağa Geçen AFB_2 Oranı (%)	17.05±4.60 a	15.60±2.06 a	8.62±2.92 b	9.95±1.52 b
Yağa Geçen AFB_1 Oranı (%)	18.74±4.85 a	17.38±1.77 a	8.60±2.39 b	12.20±1.71 b
Yağa Geçen Toplam Aflatoksin Oranı (%)	18.39±1.73 a	17.18±1.12 a	9.04±1.90 b	11.30±0.99 c

* Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir($p<0.05$)

Çizelge 4.13 incelendiğinde ekstraksiyon uygulamalarının doğal kontamine Antep fıstığından yağa geçen toplam aflatoksin miktarları üzerine etkili olduğu görülmektedir. Elde edilen yağ örneklerindeki aflatoksin miktarlarının başlangıca göre düşük oranlarda olduğu belirlenmiştir. Presleme ile veya çözücü ile yağ ekstraksiyonu sonucunda, yağlı tohumlardaki aflatoksin yağa hem de yağı alınmış küspede kalmaktadır.

Sonuçlar incelendiğinde ekstraksiyon metotları arasındaki fark $p<0.05$ güven aralığında önemli bulunmuştur. Buna göre yağa en düşük oranda toplam aflatoksin geçişi soxhlet ekstraksiyonunda n-hekzan çözgeninin kullanılmasıyla gerçekleşmiş (%9.04), bunu petrol eteri (%11.30) takip etmiştir. Soğuk sıkım (%18.39) ve kavrulmuş örneklerden soğuk sıkım metotlarında (%17.18) ise yaklaşık olarak aynı oranda yağa toplam aflatoksin geçişi olduğu görülmüştür.

Farklı ekstraksiyon metotlarının, doğal kontamine Antep fıstığı örneklerinde bulunan aflatoksinin küspelerde kalan toplam aflatoksin miktarlarına etkisi, oransal olarak karşılaştırılmış ve Çizelge 4.14'te verilmiştir.

Çizelge 4.14. Doğal Kontamine Antep fıstığı Örneklerinden Farklı Ekstraksiyon Metotları ile Proses Sürecinde Küspede Kalan Aflatoksin Oranları

	Ekstraksiyon Metotları			
	Soğuk Sıkım	**Kavrulmuş Örneklerden Soğuk Sıkım**	**n-hekzan ile Soxhlet Ekstraksiyonu**	**Petrol Eteri ile Soxhlet Ekstraksiyonu**
Küspede Kalan AFG_2 Oranı (%)	64.29±2.38 c	66.95±3.94 bc	71.65±5.33 ab	75.98±2.49 a
Küspede Kalan AFG_1 Oranı (%)	58.96±2.17 c	68.55±2.71 b	71.33±3.10 b	76.35±.2.36 a
Küspede Kalan AFB_2 Oranı (%)	65.59±3.42 b	67.82±3.13 b	75.45±3.92 a	76.75±1.92 a
Küspede Kalan AFB_1 Oranı (%)	65.13±5.73 b	67.69±4.58 b	76.79±3.16 a	74.33±4.85 a
Küspede Kalan Toplam Aflatoksin Oranı (%)	62.41±3.06 c	67.88±3.16 b	74.05±2.29 a	75.65±1.90 a

* Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir($p<0.05$)

Çizelge 4.14 incelendiğinde, küspelerde yapılan analizlerde, başlangıçta Antep fıstığı örneklerinde bulunan aflatoksinlerin büyük kısmının küspede kaldığı belirlenmiştir. Küspe örneklerinde kalan aflatoksin oranları bakımından ekstraksiyon metotların karşılaştırıldığında, en yüksek oranda toplam aflatoksin, %75.65 oranıyla petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonu ile %74.05 oranıyla n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonundan tespit edilmiş, bunu %67.88 oranı ile kavrulmuş örneklerden soğuk sıkım metodu ve % 62.41 oranıyla soğuk sıkım metodu takip etmiştir.

Parker ve Melnick, (1966) yaptıkları bir çalışmada doğal kontamine yerfıstığı ve mısır örneklerinden soğuk pres ve n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu yöntemlerini kullanarak yağ elde ettikleri çalışmalarında, her iki ekstraksiyon metodunda da aflatoksinlerin çoğunun yağı alınmış küspede kaldığını ve az bir kısmının yağa geçtiğini tespit etmişlerdir.

Abalaka ve Elegbede, (1982) Nijerya'da yaptıkları bir çalışmada, yerel bir yağ fabrikasından temin ettikleri örneklerde AFB_1 varlığını araştırmışlardır. Çalışmada işletmenin deposunda bulunan yerfıstığı tohumu ve yerfıstığı küspesi ile ham ve rafine yerfıstığı yağlarından örnekler alınmıştır. AFB_1 miktarının yerfıstığı tohumu örneklerinde 450-600 µg/kg aralığında olduğunu, yerfıstığı küspesinde 860 µg/kg, ham yerfıstığı yağı örneklerinde 98 µg/kg olduğunu ve rafine yerfıstığı örneklerinde 9 µg/kg'a kadar düştüğünü belirlemişlerdir. Bu çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak yerfıstığı küspesinde tespit edilen AFB_1 miktarının başlangıca göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumun ekstraksiyondan elde edilen küspelerin depolama şartlarından dolayı küf gelişiminin ve AFB_1 üretiminin devam etmesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Şengül ve ark., (2018), Antep fıstığı gibi sert kabuklu bir meyve olan fındık örneklerini yağa işleyerek yağa geçen aflatoksin miktarlarını araştırmışlardır. Çalışma materyali olarak 44.08-73.67 µg/kg aralığında toplam aflatoksin ile doğal kontamine olmuş 5 fındık örneği kullanılmıştır. Yağ

ektraksiyonu ise n-hekzan ile soxhlet cihazında gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda, hammaddede bulunan aflatoksinlerin AFB_2 için %5,83, AFB_1 için %4,38, AFG_2 için %3,44 ve AFG_1 için %1,88 oranında yağa geçtiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen veriler ile bizim çalışmamız karşılaştırıldığında n-hekzan ile yağ ekstraksiyonu elde edilen yağlardaki toplam aflatoksin miktarının başlangıca göre %90'ın üzerinde bir oranda azalmış olması açısından benzerlikler mevcuttur.

Sahin ve ark., (2021) Osmaniye ilinde doğal kontamine yerfıstığı örneklerinde yaptıkları çalışmada soğuk pres, kavrulmuş yerfıstığından soğuk pres ve petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonu yöntemiyle yağ elde ederek, hammaddede bulunan aflatoksinlerin yağa geçiş oranlarını araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan örneklerde AFB_1 41.59-221.8 µg/kg aralığında ve AFB_2 5.88-40.93 µg/kg aralığında tespit edilmiş ancak AFG_1 ve AFG_2 tespit edilememiştir. Çalışma sonuçlarına göre yerfıstığı yağına en az aflatoksin geçişi petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyon metodunda (AFB_1: %29, AFB_2: %35) gerçekleşmiş, bunu kavrulmuş yerfıstığından soğuk pres metodu (AFB_1: %35, AFB_2: %62) takip etmiş ve en fazla aflatoksin geçişi soğuk pres ile ekstraksiyon metodunda (AFB_1: %40, AFB_2: %69) gerçekleşmiştir. Bu çalışmada elde edilen veriler ile bizim çalışmamız karşılaştırıldığında soğuk pres ve kavrulmuş tohumlardan soğuk pres yöntemleri ile yağa geçen aflatoksin oranları çok daha yüksek çıkmıştır. Bu çalışma ile bizim çalışmamızda benzer ekstraksiyon düzeneği kullanılmış olmasına rağmen yağa geçen aflatoksin oranlarında görülen farklılığın, çalışmada kullandıkları hammaddenin çok yüksek miktarlarda aflatoksin içermesi sebebiyle gerçekleştiği düşünülmektedir.

Mahoney ve ark., (2021) California ABD'de yaptıkları bir çalışmada aflatoksin ile doğal kontamine badem örneklerini yağa işleyerek yağa ve küspede kalan aflatoksin miktarlarını incelemişlerdir. Çalışmada 0.8-928 µg/kg aralığında toplam aflatoksin içeren 19 doğal kontamine badem örneği kullanılmıştır. Bademlerden yağ elde etmek için ise n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu yöntemi kullanılmıştır. Ekstraksiyon işleminden sonra başlangıçtaki toplam aflatoksinin %2.7-17.2 aralığında yağa geçtiğini, küspede ise %82.8-969 aralığında kaldığını tespit etmişlerdir. Badem ve Antep fıstığı sert kabuklu meyveler sınıfında ve birbirine benzeyen yapıda olan meyvelerdir. Bizim çalışmamızda n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonunda % 9.04 oranında toplam aflatoksinin geçmesi bu çalışma ile uyumludur.

Aflatoksin Aşılanmış Antep fıstığı Örneklerinden Yağ Ekstraksiyonu

Kontrollü koşullarda çalışma amacıyla, Aflatoksin varlığı tespit edilemeyen Antep fıstığı örneklerine 15 µg/kg Toplam Aflatoksin (AFG_2 ve AFB_2: 1.73 µg/kg; AFG_1 ve AFB_1: 5.77 µg/kg) standardı aşılanmış ve örnekler 3 saat karanlık bir ortamda ağzı kapalı bir şekilde bekletildikten sonra yağ ekstraksiyonu işlemleri yapılmıştır. Aflatoksin aşılanmış Antep fıstığı örneklerinden farklı metotlarla yağ ekstraksiyonu sonrasında yağda ve küspede tespit edilen aflatoksin miktarları ve yağa geçen aflatoksin oranları ile ilgili veriler Çizelge 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.15. Aflatoksin Aşılanmış Antep fıstığı Örneklerinden Farklı Metotlarla Yağ Ekstraksiyonu Sürecinde Antep Fıstığı Yağına Geçen ve Küspesinde Kalan Aflatoksin Miktarları

		Ekstraksiyon Metotları			
		Soğuk Sıkım	**Kavrulmuş Örneklerden Soğuk Sıkım**	**n-hekzan**	**Petrol Eteri**
AFG_2	**Başlangıç Miktarı(µg/kg)**	1.73	1.73	1.73	1.73
	Yağa Geçen Toksin Miktarı (µg/kg)	0.32±0.02 a	0.26±0.01 b	0.17±0.03 c	0.19±0.01 c
	Küspede Kalan Toksin Miktarı (µg/kg)	1.63±0.37 a	1.42±0.36 a	1.56±0.49 a	1.41 ±0.45 a
	Yağa Geçen Toksin Oranı (%)	18.33±1.16 a	14.98 ± 0.86 b	9.85±1.47 c	10.70±0.62 c
AFG_1	**Başlangıç Miktarı(µg/kg)**	5.77	5.77	5.77	5.77
	Yağa Geçen Toksin Miktarı (µg/kg)	1.25±0.10 a	1.06±0.03 b	0.71±0.04 c	0.74±0.04 c
	Küspede Kalan Toksin Miktarı (µg/kg)	4.65±0.57 a	4.17±0.51 a	4.45±0.50 a	4.77±1.01 a
	Yağa Geçen Toksin Oranı (%)	21.62±1.65 a	18.32± 0.55 b	12.41±0.66 c	12.86±0.71 c
AFB_2	**Başlangıç Miktarı(µg/kg)**	1.73	1.73	1.73	1.73
	Yağa Geçen Toksin Miktarı (µg/kg)	0.31±0.04 a	0.26±0.03 b	0.15±0.04 c	0.19±0.02 d
	Küspede Kalan Toksin Miktarı (µg/kg)	1.52±0.35 a	1.44±0.23 a	1.57±0.41 a	1.43±0.35 a
	Yağa Geçen Toksin Oranı (%)	18.20±2.29 a	15.27±1.70 b	8.59±2.54 d	10.79±1.12 c
AFB_1	**Başlangıç Miktarı(µg/kg)**	5.77	5.77	5.77	5.77
	Yağa Geçen Toksin Miktarı (µg/kg)	1.68±0.39 a	0.99±0.90 b	0.59±0.15 bc	0.71±0.06 c
	Küspede Kalan Toksin Miktarı (µg/kg)	4.60±0.50 a	4.78±0.73 a	4.91±0.81 a	5.25±0.92 a
	Yağa Geçen Toksin Oranı (%)	22.59±8.52 a	17.12±1.56 b	10.17±2.54 c	12.24±1.11 bc
Toplam Aflatoksin	**Başlangıç Miktarı(µg/kg)**	15	15	15	15
	Yağa Geçen Toksin Miktarı (µg/kg)	3.18±0.53 a	2.56±0.16 b	1.62±0.23 c	1.82±0.10 c
	Küspede Kalan Toksin Miktarı (µg/kg)	13.08±1.04 a	11.81±1.27 b	12.50±1.34 ab	12.86±1.08 ab
	Yağa Geçen Toksin Oranı (%)	21.19±3.56 a	17.10±1.04 b	10.80±1.51 c	12.12±0.70 c

* Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir($p<0.05$)

Çizelge 4.15 incelendiğinde, yağ ekstraksiyonu metotlarının aşılanmış Antep fıstığı örneklerindeki aflatoksinin yağa geçişi üzerine etkili olduğu görülmektedir. Yağa aflatoksin geçişi bakımından ekstraksiyon metotları karşılaştırıldığında, $p<0.05$ güven aralığında metotlar arasında farkın istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir.

Yağ örneklerine düşük toplam aflatoksin geçişi %10.80 oranıyla n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu metodu ile %12.12 petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonu metotlarında gerçekleşmiştir. En yüksek toplam aflatoksin geçişi ise %21.19 oranıyla soğuk sıkım metodu ile %17.10 oranıyla kavrulmuş örneklerden soğuk sıkım metodunda gerçekleşmiştir.

Aflatoksinler yüksek polariteye sahip bileşiklerdir, buna karşın n-hekzan ve petrol eteri gibi kimyasalların polaritesi çok düşüktür. Yağ da nonpolar bir yapıda olduğu için soxhlet ekstraksiyonunda, bu çözgenlerin etkisi ile yağ iyi bir şekilde çözünererek küspeden ayrılmaktadır. Aflatoksinler ise bu çözgenlerde çözünemediği için soxhlet ekstraksiyonunda yağa aflatoksin geçişi çok düşük oranlarda gerçekleşmektedir (Mahoney ve Rodriguez, 1996).

Yağ ekstraksiyonundan sonra elde edilen küspelerde yapılan aflatoksin ölçümlerinde 11.81-13.08 µg/kg aralığında toplam aflatoksinin küspede kaldığını belirlenmiştir. Uygulanan metotlar arasındaki farklılık $p<0.05$ güven aralığında önemli bulunmuştur. Buna göre, en fazla toplam aflatoksin soğuk sıkım yönteminden elde edilen küspelerde (13.08 µg/kg) tespit edilmiş, bunu petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonu (12.86 µg/kg), n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu metodu (12.50) ve kavrulmuş tohumlardan soğuk sıkım metodu (11.81 µg/kg) takip etmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilerin doğal kontamine çalışmasındaki sonuçlar (bkz. 4.5.1) ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Yağa geçen toplam aflatoksin miktarları; doğal kontamine örneklerde n-hekzan ile ekstraksiyonda %9.04 iken, aşılanmış örneklerde %10.80'dir. Petrol eteri ile ekstraksiyonda doğal kontaminelerde %11.30 iken aşılanmış örneklerde %12.12 olarak bulunmuştur. Kavrulmuş tohumlardan soğuk pres metodunda doğal kontamine örneklerde %17.18 iken aflatoksin aşılanmış örneklerde %17.10'dur. Soğuk sıkım metodunda doğal kontamine örneklerde %18.39 iken aflatoksin aşılanmış örneklerde %21.19'dur.

Literatürlerde Antep fıstığından yağ ekstraksiyonu yapılması sonucunda yağdaki aflatoksin miktarını inceleyen bir çalışma veya Antep fıstığı yağında aflatoksin aranması ile ilgili bir çalışmaya rastlanmadığı için çalışmamızın verileri Antep fıstığı benzeri yağlı tohum ve meyvelerle yapılan ve başlangıç konsantrasyonları sabit olan çalışmalarla karşılaştırılmıştır.

Var ve Uçkun (2021), 5 ve 10 µg/kg toplam aflatoksin aşılanmış yer fıstığı örneklerinde farklı ekstraksiyon metotlarının yağa geçen aflatoksin miktarına etkisini araştırdıkları çalışmada soğuk pres, kavrulmuş tohumlardan soğuk pres ve n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu metotlarını kullanmışlardır. Çalışma sonucunda tüm yağ ekstraksiyonu metotlarının yerfıstığı örneklerindeki aflatoksinin yağa geçişi üzerine etkili olduğunu belirlemişlerdir. Ekstraksiyon metotlarından yağa en az toplam aflatoksin geçişi n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu metodunda gerçekleşmiş (%20.60-21.90), bunu kavrulmuş tohumlardan soğuk pres (%22.20-23.70) ve soğuk pres (%25.8-26.90) takip

etmiştir. Aynı çalışmada, ekstraksiyon bitiminde elde edilen küspelerdeki aflatoksin miktarları da incelenmiş en fazla aflatoksinin n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonundan elde edilen küspelerde (%75.00-75.60) kaldığını belirlemişler, bunu kavrulmuş tohumlardan elde edilen soğuk presten elde edilen küspeler (%67.80-74.00) ve soğuk presten elde edilen küspe örnekleri (%60.10-71.60) takip etmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulguların çalışmamızdaki bulgular ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen verilere göre, Antep fıstığından yağ ekstraksiyonu yapıldığında, ekstraksiyon metodunun etkinliğine bağlı olarak, elde edilen yağ numunesine düşük miktarda aflatoksin geçişi olduğu, başlangıçta bulunan aflatoksinin ise büyük oranda küspede kaldığı belirlenmiştir.

4.5.2. Farklı Ekstraksiyon Metotlarının Zeytinden Zeytinyağına Geçen OTA Miktarına Etkisi

OTA ile Doğal Kontamine Olmuş Zeytin Örneklerinden Yağ Ekstraksiyonu

Antep fıstığı çalışmasında olduğu gibi, yapılan tarama çalışmasında OTA ile kontamine olduğu tespit edilen zeytin örnekleri doğal kontamine olarak kabul edilmiş ve bu örneklere farklı metotlarla yağ ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraksiyon bitiminde yağ ve pirina örneklerinde OTA analizi yapılarak, hammaddedeki OTA'nın pirinada kalan ve yağ örneklerine geçen miktarları incelenmiştir.

Doğal kontamine örneklerde her örnekteki OTA miktarları farklı olduğu için her ekstraksiyon metodunu için elde edilen sonuçlar ayrı ayrı tablolar halinde verilmiştir. Soğuk Sıkım Ekstraksiyon metodu ile yapılan yağ ekstraksiyonundan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.16. Soğuk Sıkım Yağ Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Zeytin Örneklerinden Zeytinyağına Geçen ve Pirinada Kalan OTA Miktarları

Örnek No	**Başlangıç OTA Miktarları (µg/kg)**	**Yağa Geçen OTA Miktarları (µg/kg)**	**Pirinada Kalan OTA Miktarları (µg/kg)**
1	1.99	0.62	1.48
3	0.83	0.32	0.47
7	8.64	3.89	4.85
9	10.43	2.71	6.67
10	1.63	0.54	1.19
14	0.59	0.24	0.27
18	12.01	2.64	9.80
19	7.87	2.99	4.46
Ortalama	5.49	1.74	3.65

Sıcak sıkım metodu ile yapılan yağ ekstraksiyonundan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.17'de verilmiştir.

Çizelge 4.17. Sıcak Sıkım Yağ Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Zeytin Örneklerinden Zeytinyağına Geçen ve Pirinada Kalan OTA Miktarları

Örnek No	Başlangıç OTA Miktarları (µg/kg)	Yağa Geçen OTA Miktarları (µg/kg)	Pirinada Kalan OTA Miktarları (µg/kg)
1	1.99	0.78	1.30
3	0.83	0.24	0.54
7	8.64	2.62	5.10
9	10.43	2.98	5.78
10	1.63	0.62	0.98
14	0.59	0.18	0.35
18	12.01	2.84	9.82
19	7.87	1.84	4.86
Ortalama	5.49	1.51	3.59

n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu metodu ile yapılan yağ ekstraksiyonundan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.18'de verilmiştir.

Çizelge 4.18. n-hekzan ile Soxhlet Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Zeytin Örneklerinden Zeytinyağına Geçen ve Pirinada Kalan OTA Miktarları

Örnek No	Başlangıç OTA Miktarları (µg/kg)	Yağa Geçen OTA Miktarları (µg/kg)	Pirinada Kalan OTA Miktarları (µg/kg)
1	1.99	0.22	1.80
3	0.83	0.16	0.56
7	8.64	1.30	7.24
9	10.43	0.94	9.44
10	1.63	0.37	1.14
14	0.59	0.07	0.41
18	12.01	2.28	8.61
19	7.87	0.87	5.89
Ortalama	5.49	0.78	4.39

Petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonu metodu ile yapılan yağ ekstraksiyonundan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.19'da verilmiştir.

Çizelge 4.19. Petrol Eteri ile Soxhlet Ekstraksiyonu Metoduyla Doğal Kontamine Zeytin Örneklerinden Zeytinyağına Geçen ve Pirinada Kalan OTA Miktarları

Örnek No	Başlangıç OTA Miktarları (µg/kg)	Yağa Geçen OTA Miktarları (µg/kg)	Pirinada Kalan OTA Miktarları (µg/kg)
1	1.99	0.30	1.59
3	0.83	0.04	0.67
7	8.64	1.12	7.41
9	10.43	0.63	9.70
10	1.63	0.15	1.58
14	0.59	0.07	0.41
18	12.01	0.36	11.63
19	7.87	0.71	7.15
Ortalama	5.49	0.42	5.02

Ekstraksiyon için kullanılan zeytin örneklerinin her biri farklı OTA miktarlarına (0.59-12.1 µg/kg) sahip olduğu için ekstraksiyon uygulamalarının etkinliğini saptamak amacıyla OTA'nın hangi oranlarda zeytinyağına geçtiği hesaplanmış ve istatistiksel karşılaştırmalar bu değerler üzerinden yapılmıştır. Farklı ekstraksiyon metotlarının, doğal kontamine zeytin örneklerinden zeytinyağına geçen OTA oranlarına etkisi Çizelge 4.20'de verilmiştir.

Çizelge 4.20. Farklı Ekstraksiyon Metotlarıyla Doğal Kontamine Zeytin Örneklerinden Zeytinyağına Geçen OTA Oranları (%)

	Ekstraksiyon Metotları			
	Soğuk Sıkım	**Sıcak Sıkım**	**n-hekzan**	**Petrol Eteri**
Zeytinyağına Geçen OTA Oranı (%)	34.34 ± 7.80 a	30.33 ± 5.77 a	14.84 ± 4.96 b	8.98 ± 4.17 b

* Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir($p<0.05$)

Çizelge 4.19 incelendiğinde ekstraksiyon uygulamalarının doğal kontamine zeytinde OTA miktarları üzerine etkili olduğu görülmektedir. Ekstraksiyon metotları arasındaki farklık $p<0.05$ güven aralığında önemli bulunmuştur. Buna göre zeytinyağına en düşük oranda OTA geçişi % 8.98 oranıyla petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonu ile %14.84 oranıyla n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonda gerçekleşmiştir. Sıcak pres metodunda zeytinyağına geçen OTA miktarı %30.33 iken soğuk pres metodunda bu oran % 34.34 olarak belirlenmiştir.

Doğal kontamine zeytin örneklerinden farklı ekstraksiyon metotlarıyla proses sürecinde pirinada kalan OTA oranları oransal olarak karşılaştırılmış ve Çizelge 4.21'de verilmiştir.

Çizelge 4.21. Doğal Kontamine Zeytin Örneklerinden Farklı Ekstraksiyon Metotlarıyla Proses Sürecinde Pirinada Kalan OTA Oranları

	Ekstraksiyon Metotları			
	Soğuk Sıkım	**Sıcak Sıkım**	**n-hekzan**	**Petrol Eteri**
Pirinada Kalan OTA'nın Oranı (%)	63.52±11.95 b	63.47±8.08 b	72.27±9.55 a	86.69±9.59 a

Çizelge 4.21 incelendiğinde, yağ ekstraksiyonundan elde edilen pirina örneklerinde yapılan OTA ölçümlerinde, zeytinde bulunan OTA'nın büyük oranda pirinada kaldığı belirlenmiştir. Buna göre, pirinada en yüksek oranda OTA %86.69 oranı ile petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonunu ile %72.27 oranı ile n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu metodunda tespit edilmiştir. Pirinada kalan en düşük OTA oranı %63.47 oranı ile sıcak sıkım metodu ile %63.52 oranı ile soğuk sıkım metotlarında gerçekleşmiştir.

Papachristou ve Markaki 2003 yılında Yunanistan'da 50 zeytinyağı örneğinin 44'ünde ortalama 0.267 µg/kg düzeyinde OTA varlığını tespit ettiği; Finoli ve ark. (2005) Sicilya'da üretilen 28 sızma örneğinde 0.052-0.244 µg/kg aralığında OTA bulunduğunu bildirdiği; Ferracane ve ark. (2007), İtalya ve Kuzey Afrika'dan aldıkları 30 ayrı zeytinyağı örneğinin 24'ünde en yükseği 17.0 µg/kg miktarında olmak üzere OTA tespit ettiği; Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise Dazkır, (2010) İstanbul piyasasından topladığı 30 zeytinyağı örneğinin ise 25'inde 0.36-2.10 µg/kg aralığında OTA tespit ettiği görülmektedir.

2022 yılında Var ve Tekin tarafından yapılan bir çalışmada piyasadan toplanan 25 soğuk sıkım natürel zeytinyağı örneğinin 13'ünde 0.40-9.15 µg/kg aralığında OTA bulunduğu tespit edilmiştir.

Zeytinyağı genellikle soğuk sıkım, nadiren de olsa sıcak sıkım metoduyla elde edilmektedir. Piyasada satılan zeytinyağlarının neredeyse tümünde bu metotlar kullanılmaktadır. Özellikle soğuk sıkım metodu zeytinyağının duyusal ve karakteristik özelliklerini çok iyi bir şekilde muhafaza etmekte ancak zeytinyağına OTA geçişi açısından incelendiğinde diğer metotlardan daha fazla OTA geçişine olanak sağlamaktadır (Papachristou ve Markaki, 2004; Finoli ve ark., 2005; Ferracane ve ark., 2007; Dazkır, 2010).

OTA Aşılanmış Zeytin Örneklerinden Yağ Ekstraksiyonu

Tarama çalışmasında OTA varlığı tespit edilemeyen zeytin örneklerine 15 µg/kg OTA standardı aşılanmış, örnekler 3 saat karanlık bir ortamda ağzı kapalı bir şekilde bekletildikten sonra yağ ekstraksiyonu işlemleri yapılmıştır. OTA aşılanmış zeytin örneklerinden farklı metotlarla yağ ekstraksiyonu sonrasında yağa geçen OTA miktarları Çizelge 4.22'de verilmiştir.

Çizelge 4.22. OTA Aşılanmış Zeytin Örneklerinden Farklı Metodlarla Yağ Ekstraksiyonunun Zeytinyağına Geçen ve Pirinada Kalan OTA Miktarlarına Etkisi

		Ekstraksiyon Metotları			
		Soğuk Sıkım	**Sıcak Sıkım**	**n-hekzan**	**Petrol Eteri**
OTA	**Başlangıç OTA Miktarı (µg/kg**	15	15	15	15
	Yağa Geçen OTA Miktarı (µg/kg)	5.99 ±0.73 a	5.53±0.89 a	2.58± 0.75 b	0.93±0.51 c
	Pirinada Kalan OTA Miktarları (µg/kg)	9.30±1.29 c	10.60±1.44 bc	11.27±1.09 ab	12.47±0.91 a
	Zeytinyağına Geçen OTA Oranı (%)	39.94±4.83 a	36.80 ±5.95 a	17.23±4.98 b	6.23±3.39 c

* Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$)

Çizelge 4.22 incelendiğinde, ekstraksiyon metotlarının zeytinyağı üretim sürecinde OTA miktarı üzerine etkili olduğu görülmektedir. Sonuçlar incelendiğinde, metotlar arasındaki farklılık $p<0.05$ güven aralığında istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Buna göre yağa en düşük oranda OTA geçişi % 6.23 oranıyla petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonunda gerçekleşmiş bunu %17.23 oranıyla n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu metodu takip etmiştir. Sıcak pres metodunda zeytinyağına geçen OTA miktarı %36.80 iken, soğuk pres metodunda bu oran % 33.94 olarak belirlenmiştir.

Yağ ekstraksiyonundan elde edilen pirina örneklerinde yapılan OTA ölçümlerinde 9.30-12.47 µg/kg aralığında OTA'nın pirinada kaldığı belirlenmiştir. Buna göre, pirinada en yüksek oranda OTA %83.13 oranı ile petrol eteri ile soxhlet ekstraksiyonundan elde edilmiştir. Bunu %75.13 oranı ile n-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu metodu, % 70.66 oranı ile sıcak sıkım metodu ve %62.00 oranı ile soğuk sıkım metotları takip etmiştir.

4.6. Rafinasyon İşlemlerinin Antep fıstığı Yağında Aflatoksin ve Zeytinyağında OTA Üzerine Etkisi

Yağ ekstraksiyonu ile hammaddedeki mikotoksinler düşük oranlarda bile olsa yağa geçebilmektedir. Bu çalışmada rafinasyon işlemlerinin Antep fıstığı yağındaki aflatoksin ve zeytinyağındaki OTA miktarları üzerine etkisini belirlemek için iki farklı çalışma planı uygulanmıştır. Birinci çalışma planında her bir rafinasyon basamağının aflatoksin/OTA üzerine etkisi ayrı ayrı incelenmiştir. Bu amaçla uygulanan her işlem öncesi örneklere 15 µg/kg standart eklenmiş ve işlem bitiminde yağ örneklerine aflatoksin/OTA analizi yapılmıştır.

İkinci çalışma planında ise, rafinasyon işleminin başlangıcında yağ örneklerine 15 µg/kg miktarında aflatoksin/OTA standardı eklenmiş ve bu miktarın süreç boyunca değişimleri incelenerek, rafinasyon bitiminde yağ örneklerindeki aflatoksin/OTA miktarı ölçülmüştür. Çalışmalar 4 paralel ve 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

4.6.1. Antep fıstığı Yağında Rafinasyon Çalışmaları

Rafinasyon Prosesi Boyunca Antep fıstığı Yağında Bulunan Aflatoksin Miktarlarındaki Değişim

Bu çalışmada ilk çalışmadan farklı olarak aflatoksin açısından temiz olan Antep fıstığı yağı örneklerine sadece başlangıçta 15 µg/kg toplam aflatoksin (AFG_2 ve AFB_2: 1.73 µg/kg; AFG_1 ve AFB_1: 5.77 µg/kg) aşılaması yapılmış, örnekler 3 saat karanlık odada bekletildikten sonra önce degumming, sonra nötralizasyon ve en son ağartma işlemleri uygulanmıştır. Prosesin her aşamasından örnekler alınmış ve aflatoksin miktarlarındaki değişim takip edilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar Çizelge 4.23'de verilmiştir.

Çizelge 4.23. Rafinasyon Prosesi Boyunca Antep Fıstığı Yağında Bulunan Aflatoksin Miktarlarındaki Değişim

		RAFİNASYON İŞLEM BASAMAKLARI					
	BAŞLANGIÇ	**DEGUMMİNG**		**NÖTRALİZASYON**		**AĞARTMA**	
	µg/kg	**µg/kg**	**Azalma (%)**	**µg/kg**	**Azalma (%)**	**µg/kg**	**Azalma (%)**
AFG_2	1.73	0.45±0.06	73.97±3.67 a	0.19±0.02	51.26±9.34 b	0.15±0.02	23.99±9.61 c
AFG_1	5.77	2.10±0.51	63.53±8.86 a	0.72±0.04	58.89±11.91 a	0.53±0.04	25.39±7.14 b
AFB2	1.73	0.58±0.09	66.25±5.28 a	0.21±0.02	60.01±7.68 a	0.17±0.01	20.93±7.90 b
AFB_1	5.77	1.89±0.41	67.26±7.09 a	0.73±0.04	56.39±9.32 b	0.60±0.04	16.64±4.10 c
Toplam Aflatoksin	15	4.58±0.77	69.50±5.13 a	1.85±0.04	58.19±6.80 b	1.45±0.06	21.49±3.04 c

* Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir($p<0.05$)

Çizelge 4.23 incelendiğinde yağ örneklerinde rafinasyon öncesi toplam 15 µg/kg olan aflatoksin miktarı, rafinasyon sonrasında 1.45 µg/kg'a düşmüştür. Sonuçlar karşılaştırıldığında $p<0.05$ güven aralığında rafinasyon metotları arasındaki fark önemli bulunmuştur. Rafinasyon işleminde toplam aflatoksin miktarının en fazla azaltıldığı proses %69.50 oranıyla degumming olarak belirlenmiştir. Bunu % 58.19 oranıyla nötralizasyon ve %21.49 oranıyla ağartma takip etmiştir.

Çalışmamızda degumming işlemi için Antep fıstığı yağı örneklerine 30 dk boyunca, 90 °C sıcaklıkta %0.05'i miktarında %85'lik fosforik asit uygulaması yapılmıştır. Fosforik asitin pH değeri 1.5-2 arasında değişmektedir ve kuvvetli asitler arasında sınıflandırılmaktadır. Fan ve ark., 2013 yılında yerfıstığındaki AFB_1'i detoksifiye etmek için pH<3 olarak ayarlanmış elektoaktivite suyunun etkinliğini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda AFB_1 miktarının %85 oranında düştüğünü belirlemişler ve düşük pH'larda aflatoksinlerin yapılarının bozulduğunu belirtmişlerdir. Jalili ve ark., 2011 yılında karabiber ve türevlerinden oluşan örnek grubuna aflatoksin aşılayarak çeşitli kimyasalların aflatoksinler üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında asidik ve bazik kimyasalların, örneklerde bulunan aflatoksin miktarlarının azalmasını sağladığı belirlenmiştir. Kullandıkları % 85'lik fosforik asit uygulamasıyla aflatoksin miktarının yaklaşık % 25 oranında düştüğünü gözlemlemişlerdir.

Çalışmamızda nötralizasyon işlemi için Antep fıstığı yağı örnekleri 30 dk süresince, 90 °C'de %8'lik 0.1 N NaOH ile tepkimeye sokulmuştur. Nötralize edilen Antep fıstığı yağı örneklerindeki aflatoksin miktarının %58.19 oranında azaldığı belirlenmiştir. Ji ve ark (2015) yerfıstığı yağının rafinasyonunda AFB_1'in detoksifikasyonu için optimum NaOH uygulama koşullarını araştırmışlardır. Çalışmaları sonucunda optimumum koşullarının 77.07 °C'de %23.42'lik NaOH solüsyonu uygulaması olduğunu bulmuşlar ve bu uygulamanın AFB_1 miktarını %98.94 oranında azaltılabildiğini belirlemişlerdir. Jalili ve ark (2011), karabiber ve türevlerindeki aflatoksinler üzerine 1 N NaOH uygulamasının aflatoksinlerin miktarını % 47 oranında azalttığını belirlemişlerdir. Söz konusu çalışmalardan da anlaşıldığı üzere uygulanan NaOH'ın konsantrasyonu, uygulama süresi ve sıcaklığın aflatoksinlerin miktarının azaltılması sürecine etki edebilmektedir.

Lu ve ark., (2023) rafinasyon prosesi boyunca, rafinasyon işlem basamaklarının yerfıstığı yağında AFB_1 üzerine etkilerini araştırmıştır. Çalışmanın başlangıcında ham yer fıstığı yağına, yağdaki konsantrasyonu 500 µg/kg olacak şekilde AFB_1 aşılandıktan sonra 2 saat beklenmiş ve degumming işlemine geçilmiştir. Degumming işlemi 75 ◦C'de yağ ağırlığının %0,1'i kadar sitrik asit ve yağın ağırlığının %5'i kadar su ilave edilerek gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bu yağa 60 ◦C'de yağ ağırlığının %1.25 miktarında %10'luk sodyum hidroksit çözeltisi ilave edilerek nötralizasyon işlemini gerçekleştirmişlerdir. Sabun stoğu santrifüjleme ile ayrıldıktan sonra ağartma işlemine geçmişler ve ağartma için yağ ağırlığının %1'i miktarında ağartma toprağı (%5 aktif karbon ve %95 eklemişler ve santrifüj sonrasında rafine yağ elde ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda degumming sonrasında elde edilen yağda AFB_1 %95.38'nin kalmakta olduğunu tespit etmişler, nötralizasyon sonrasında elde ettikleri yağda ise hiç aflatoksin tespit edilmediğini bildirmişlerdir. Nötralizasyondan elde edilen sabun stoğundaki AFB_1'in başlangıca göre 7.32 olduğunu belirlemişlerdir. Böylelikle nötralizasyon işleminin AFB_1'in parçalanması için en etkili rafinasyon basamağı olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmanın ileri aşamasında UPLC Q-TOF MS ve NMR cihazlarında yaptıkları görüntüleme sonucunda, nötralizasyon işleminde AFB_1'in lakton halkasının hidrolizasyonu sonrası OP-AFB_1 adını verdikleri moleküle dönüştüğünü bildirmişlerdir. Ancak rafine yağın pH'sı düşürüldüğünde ise lakton halkasının eski haline dönerek AFB_1'in tekrardan oluşabildiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışma işlem basamakları açısından bizim çalışmamızla benzer özellikler göstermektedir. Ancak sonuçları itibari ile farklılıklar göstermektedir. Bu farklılık degumming ve nötralizasyonda kullanılan kimyasalların farklı konsantrasyonlarda olmasından kaynaklanmaktaktadır.

Çalışmamızda ağartma işlemi için Antep fıstığı yağı örneklerine 30 dk boyunca 90 °C'de ve %0.7 oranında asitle aktifleştirilmiş ağartma toprağı kullanılmıştır. Ağartma toprağının içeriğinde yaklaşık %90 oranında bentonit bulunmaktadır. Mgbeahuruike ve ark., 2018 yılında yaptıkları bir çalışmada kümes hayvanlarının yemlerine aflatoksin aşıladıktan sonra bu yeme bentonit eklemişler ve çalışma sonucunda yemdeki aflatoksin miktarının %87.5 oranında azaldığını belirlemişlerdir.

Vila-Donat ve ark., 2019 yılında İspanya'da yaptıkları bir çalışmada farklı bölgelerden 27 farklı bentonitin 5 farklı mikotoksini (AFB_1, OTA, DON, FB_1 ve ZEN) adsorbe etme yeteneklerini araştırmışlardır. Tüm bentonit killeri üç farklı dozda (% 0.02, 0.12, 0.20) kullanılmış ve altı farklı konsantrasyondaki mikotoksinlere (0.02, 0.10, 0.50, 1, 2, 4 mg/L) in vitro şartlarda eklenmiştir. Çalışma sonucunda en yüksek bağlama oranını (%82-99) %0.20 bentonit ve % 0.02 AFB_1 içeren ortamda elde etmişlerdir.

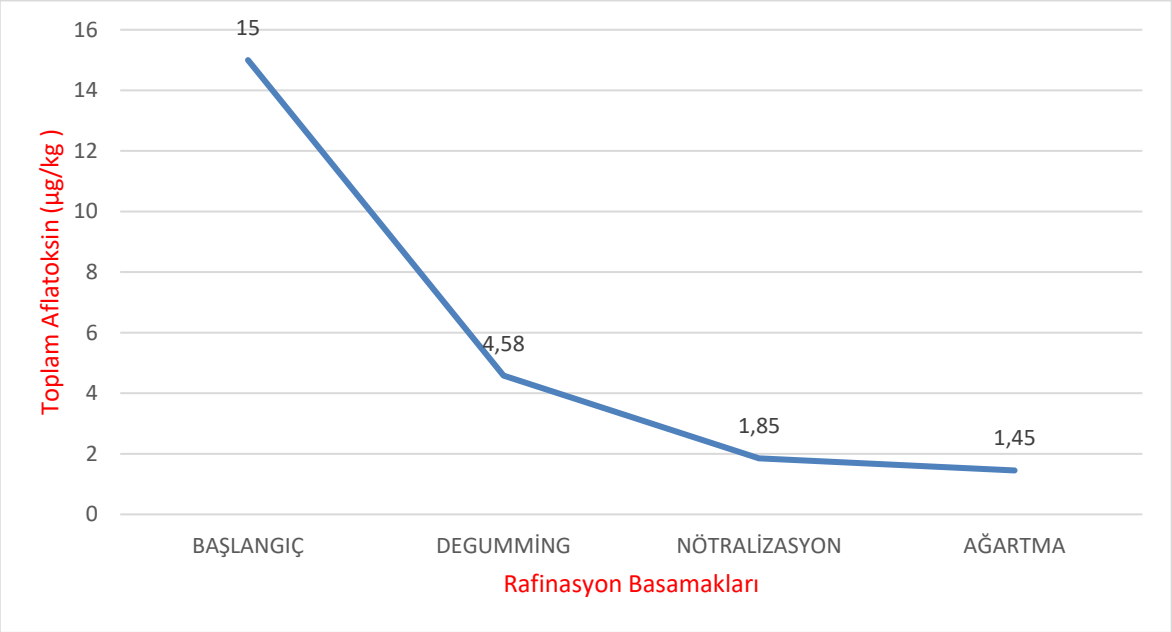
Diaz ve ark., (2003) in vitro ortamda, 4'ü bentonit türleri olmak üzere 8 farklı maddenin aflatoksin bağlama yeteneğini inceledikleri çalışmada, 5 mg/mL miktarında kullandıkları bentonitlerin AFB1 absorblama etkisini % 95 ile % 98 arasında bulmuşlardır.

Çakır ve Şimşek 2020 yılında Ordu'da, fındık sütünde doğal kontamine olarak bulunan aflatoksin miktarının bentonit kullanımı ile % 71.11 oranında azaltılabildiğini belirlemişlerdir.

Çalışmada birçok uygulama dozu ve süresi kullanılmış ve optimum uygulama için tepkime süresi 45 dk. ve % 12 oranında bentonit eklenmesi olarak bulunmuştur.

Söz konusu çalışmalardan da anlaşıldığı üzere ağartma işleminde uygulanan bentonitin uygulama dozu, tepkime süresi ve sıcaklık aflatoksinlerin bağlanma miktarına etkilidir.

Rafinasyon işlemi boyunca Antep fıstığı yağında bulunan aflatoksin miktarlarındaki değişimi Şekil 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.4. Rafinasyon Prosesi Boyunca Antep Fıstığı Yağında Bulunan Aflatoksin Miktarlarındaki Değişim

Şekil 4.4'te görüldüğü gibi aflatoksin miktarı degumming işlemi sonucunda önemli bir azalış göstermekte ve bu azalış proses boyunca devam etmektedir. Rafinasyon bitiminde elde edilen rafine yağdaki aflatoksin miktarının ortalama %90.33 oranında azaldığı belirlenmiştir. Çalışmamıza benzer olarak Parker ve Melnick (1966), yaptıkları çalışmada yerfıstığı yağı ve mısır özü yağının rafine edilmesiyle, yağdaki AFB_1'in %99 oranında azaldığını tespit etmişlerdir.

Rafinasyon İşlem Basamaklarının Antep fıstığı Yağında Bulunan Aflatoksin Miktarlarına Etkileri

Bu çalışmada rafinasyon işlem basamaklarının Antep fıstığı yağında aflatoksin miktarları üzerine etkileri ayrı ayrı incelenmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında aflatoksin içermeyen Antep fıstığı örneklerine rafinasyon başlangıcında 15 µg/kg miktarında toplam aflatoksin aşılandıktan sonra rafinasyon süresince aflatoksin miktarının değişimi incelenmişti. Bu çalışmada ise degumming, nötralizasyon ve ağartma işlemleri ayrı ayrı yapılmış ve her işlem öncesinde aflatoksin içermeyen Antep fıstığı yağı örneklerine 15 µg/kg toplam aflatoksin (AFG_2 ve AFB_2: 1.73 µg/kg; AFG_1 ve

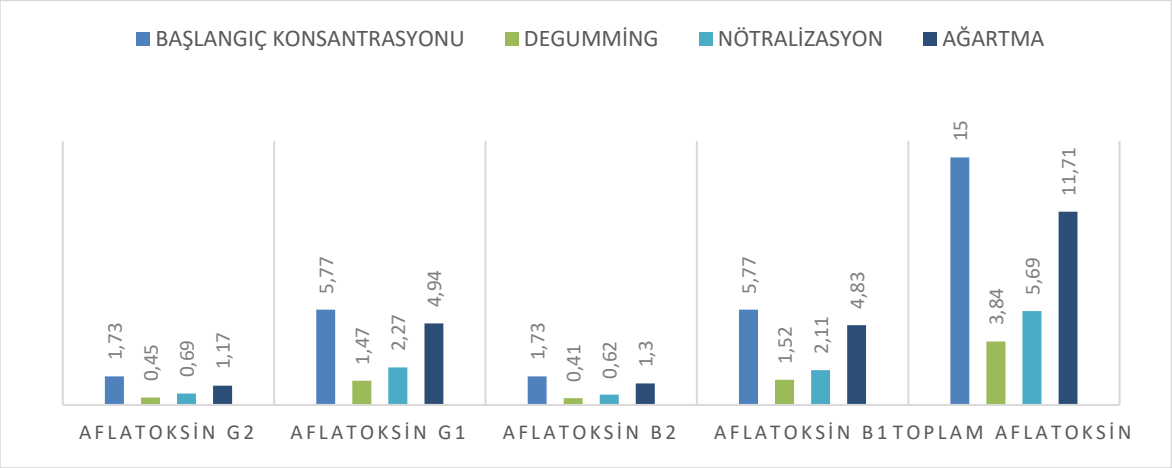
AFB_1: 5.77 µg/kg) aşılanmış ve işlem bitiminde elde edilen yağ örneklerine aflatoksin analizi yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.24'de verilmiştir.

Çizelge 4.24. Rafinasyon İşlem Basamaklarının Antep Fıstığı Yağı'nda Bulunan Aflatoksin Miktarları Üzerine Etkileri

		Rafinasyon İşlem Basamakları		
		Degumming	**Nötralizasyon**	**Ağartma**
AFG_2	**Başlangıç Toksin Miktarı (µg/kg)**	1.73	1.73	1.73
	Proses Bitiminde Toksin Miktarı (µg/kg)	0.45±0.09 a	0.69±0.08 b	1.17±0.11 b
	Toksin Miktarındaki Azalma (%)	74.13±5.01 a	60.07±4.36 b	32.37±6.25 c
AFG_1	**Başlangıç Toksin Miktarı (µg/kg)**	5.77	5.77	5.77
	Proses Bitiminde Toksin Miktarı (µg/kg)	1.47±0.22 a	2.27±0.12 b	4.94±0.11 c
	Toksin Miktarındaki Azalma (%)	74.55±3.83 a	60.56±2.05 b	14.23±1.98 c
AFB_2	**Başlangıç Toksin Miktarı (µg/kg)**	1.73	1.73	1.73
	Proses Bitiminde Toksin Miktarı (µg/kg)	0.41±0.06 a	0.62±0.08 b	1.30±0.15 c
	Toksin Miktarındaki Azalma (%)	76.41±3.21 a	63.97±4.82 b	24.70±8.66 c
AFB_1	**Başlangıç Toksin Miktarı (µg/kg)**	5.77	5.77	5.77
	Proses Bitiminde Toksin Miktarı (µg/kg)	1.52±0.12 a	2.11±0.52 b	4.83±0.15 b
	Toksin Miktarındaki Azalma (%)	73.62±2.04 a	63.43± 8.96 a	16.20±2.61 b
Toplam Aflatoksin	**Başlangıç Toksin Miktarı (µg/kg)**	15	15	15
	Proses Bitiminde Toksin Miktarı (µg/kg)	3.84±0.42 a	5.69±0.57 b	11.71±0.37 c
	Toksin Miktarındaki Azalma (%)	74.39±2.83 a	62.05±3.81 b	21.94 ± 2.49 c

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir($p<0.05$)

Çizelge 4.24 incelendiğinde rafinasyon işlem basamaklarının Antep fıstığı yağındaki aflatoksin miktarı üzerine etkili olduğu görülmektedir. Sonuçların karşılaştırılmasında, uygulamalar arasındaki farklılık $p<0.05$ güven aralığında önemli bulunmuştur. Rafinasyon basamaklarının Antep fıstığı yağındaki aflatoksin seviyelerine etkisi Şekil 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.5. Rafinasyon İşlem Basamaklarının Antep Fıstığı Yağında Bulunan Aflatoksin Miktarları Üzerine Etkisi

Rafinasyon metotları arasında, toplam aflatoksin miktarındaki en fazla azalma degumming işleminde (%74.39) tespit edilmiştir. Bu işlemde toplam aflatoksin miktarı 15 µg/kg'dan 3.84 µg/kg'a kadar düşmüştür. Nötralizasyon işleminde ise %62.05'lik bir azalma görülmüş ve toplam aflatoksin miktarının 15 µg/kg'dan 5.69 µg/kg'a kadar azaldığı belirlenmiştir. Toplam aflatoksin seviyesi üzerine en az etkili işlem ağartma olmuştur. Ağartma sonrasında yağ örneklerindeki aflatoksin seviyesi %21.94'lük bir azalma ile 15 µg/kg'dan 11.71 µg/kg'a düşmüştür.

4.6.2. Zeytinyağında Rafinasyon Çalışmaları

Rafinasyon Prosesi Boyunca Zeytinyağında Bulunan OTA Miktarlarındaki Değişim

Bu çalışmada zeytinyağı örneklerine rafinasyon başlangıcında 15 µg/kg OTA aşılaması yapılmış, örnekler 3 saat karanlık odada bekletildikten sonra sırasıyla degumming, nötralizasyon ve ağartma işlemleri uygulanmıştır. Prosesin her aşamasından örnekler alınmış ve OTA miktarlarındaki değişim takip edilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar Çizelge 4.25'de verilmiştir.

Çizelge 4.25. Rafinasyon Prosesi Boyunca Zeytinyağında Bulunan OTA Miktarlarındaki Değişim

	Zeytinyağında OTA Miktarı (µg/kg)	**Proses Bitiminde OTA Miktarındaki Azalma (%)**
Başlangıç	15	0
Degumming	9.14±0.83 a	39.04±5.51 a
Nötralizasyon	0.63±0.24 b	92.37±3.02 b
Ağartma	0.32±0.13 a	49.25±3.39 a

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir($p<0.05$)

Çizelge 4.25 incelendiğinde zeytinyağında OTA miktarının azaltılması açısından rafinasyon işlem basamakları arasında en etkili yöntem nötralizasyon (%92.37) işlemi olmuştur, bunu sırasıyla ağartma (%49.25) ve degumming (%44.87) işlemleri takip etmiştir.

Çalışmamızda degumming işleminde kuvvetli bir asit olan %85'lik fosforik asit (pH 1.5-2) kullanılmıştır. Bu işlem için %0.05 miktarında fosforik asit 90 °C sıcaklıkta 30 dk boyunca zeytinyağı ile tepkimeye sokulmuştur. Nötralizasyon işleminde ise %8'lik 0.1 N NaOH 90 °C'de 30 dk süresinde zeytinyağı ile tepkimeye sokulmuştur. Trivedi ve ark., (1992) yaptıkları çalışmada OTA'nın ısıl işlemle kombine olarak asidik ve alkali ortamlarda parçalanma olanaklarını araştırdıkları çalışmada üç farklı sıcaklık derecesinde (Oda sıcaklığı, 100 °C ve 175 °C) kimyasal tepkimeler hazırlamışlardır. Asidik ortam için 0.1 N HCl ve alkali ortam için 0.1 N NaOH kullanmışlardır. Tepkime bitiminde İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) yöntemini kullanarak var/yok analizi yaptıkları çalışma sonucunda asidik ortam koşullarında OTA'nın tam olarak parçalanmadığını, ancak 100 °C sıcaklıkla alkali ortamda OTA'nın tamamen parçalandığını bildirmişlerdir.

Özcan ve Gökmen, kuru üzümlerde yaptıkları çalışmada, üzümlere alkali (%5 ve %8 potasyum karbonat) uygulamasıyla, üzümde bulunan OTA'nın dekompoze olduğunu, ortamda alkaliliğin artmasıyla OTA'nın bozunma hızının ve yüzdesinin arttığını, yüksek alkali ortamlarda ise OTA'nın hidroliz yoluyla toksik olmayan OTα ve Phe bileşiklerine dönüştüğünün belirlendiğini bildirmişlerdir (Özcan ve Gökmen, 2016).

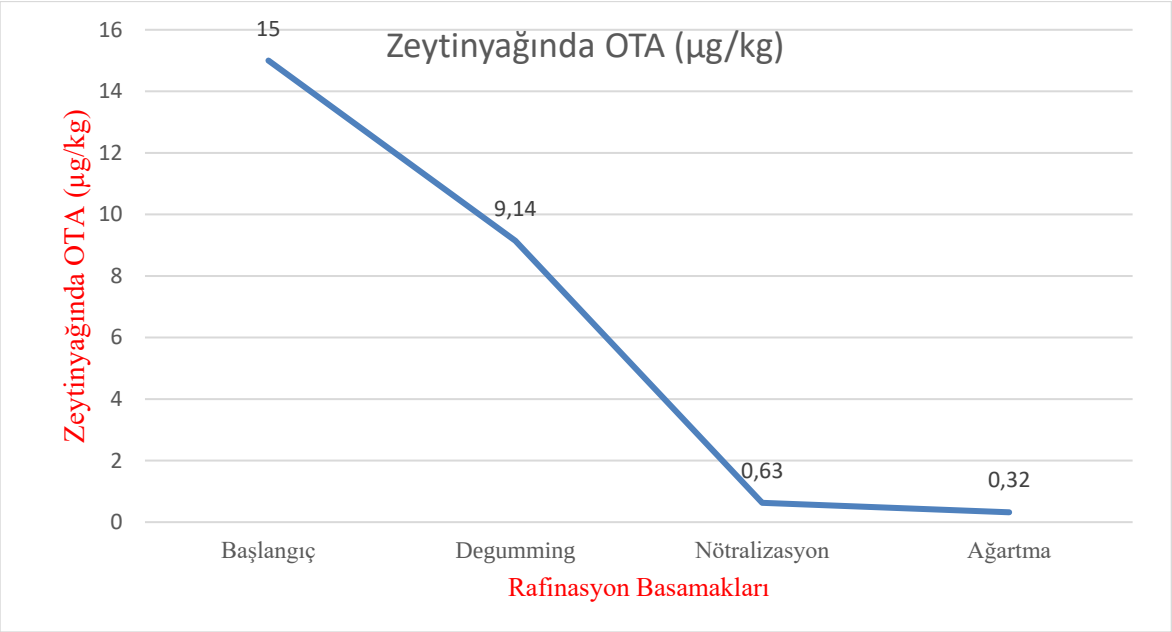
Çalışmamızda rafinasyon prosesinin son basamağı olarak ağartma işleminde, 90 °C'de 30 dk süresince yağ miktarının %0.7'si oranında asitle aktifleştirilmiş ağartma toprağı kullanılmıştır. Uygulanan ağartma işleminin zeytinyağında OTA üzerine %49.25 anında azaltıcı bir etkisi olduğu belirlenmiştir. Ağartma toprağının içeriğinde yaklaşık %90 oranında bentonit bulunmaktadır ayrıca asitle aktifleştirilmiş olduğu için kimyasal aktivitesi saf bentonitten daha farklıdır.

Var ve ark., (2008) yaptıkları bir çalışmada, beyaz şarap ve PBS ortamına üç farklı konsantrasyonda (5 ng/mL, 10 ng/mL ve 20 ng/mL) aşıladıkları OTA'nın iki farklı adsorban madde (aktif karbon ve bentonit) tarafından bağlanabilme yeteneklerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda aktif karbon uygulamasının bazı koşullarında OTA'yı tamamen bağlayabildiğini, buna karşın bentonit uygulamasının beyaz şarap ve PBS örneklerindeki OTA miktarında küçük miktarda

bağladığını belirlemişlerdir. 5 ng/mL OTA aşılanmış beyaz şarap örneklerine 1 mg/mL bentonit eklenip ve reaksiyon süresi 4 saate ayalandığında, OTA-Bentonit bağlanmasının en yüksek olduğu oranda (% 23.7) olduğunu tespit etmişlerdir.

Lu ve ark., (2022) pamuk yağında rafinasyon işlem basamaklarının OTA üzerine etkilerini belirlemek amacıyla, pamuk yağına 100 µg/kg OTA aşılamışlar ve bu yağa degumming, nötralizasyon ve ağartma işleminin uygulamışlardır. Degumming işlemi 75 ◦C'de yağ ağırlığının %0,1'i kadar sitrik asit ve yağın ağırlığının %5'i kadar su ilave edilerek gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bu yağa 60 ◦C'de yağ ağırlığının %1.25 miktarında %10'luk sodyum hidroksit çözeltisi ilave edilerek nötralizasyon işlemini gerçekleştirmişlerdir. Sabun stoğu santrifüjleme ile ayrıldıktan sonra ağartma işlemine geçmişler ve ağartma için yağ ağırlığının %1'i miktarında ağartma toprağı (%5 aktif karbon ve %95 eklemişler ve santrifüj sonrasında rafine yağ elde ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda OTA miktarının degumming sonrasında % 10.57, nötralizasyon sonrasında % 88.85 ve ağartma sonrasında %0.58 oranında azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışmanın ileri aşamasında UPLC Q-TOF MS ve NMR cihazlarında yaptıkları görüntüleme sonucunda nötralizasyon işleminde OTA'nın lakton halkasının hidrolizde uğradığı ve OP-OTA adlı moleküle dönüştüğünü belirlemişler ve OP-OTA'nnı tümünün sabun stoğuna geçtiği belirlemişlerdir. Bu çalışma rafinasyon işlem basamakları açısından bizim çalışmamızla benzerlikler içermektedir. Bizim çalışmamızda da OTA üzerine en etkili rafinasyon işlem basamağının nötralizasyon olduğu tespit edilmiştir.

Vila-Donat ve ark., (2019) İspanya'da yaptıkları bir çalışmada farklı bölgelerden 27 farklı bentonitin 5 farklı mikotoksini (AFB_1, OTA, DON, FB1 ve ZEN) adsorbe etme yeteneklerini araştırmışlardır. Tüm bentonit killeri üç farklı dozda (% 0.02, 0.12, 0.20) kullanılmış ve altı farklı konsantrasyondaki mikotoksinlere (0.02, 0.10, 0.50, 1, 2, 4 mg/L) in vitro şartlarda eklenmiştir. Çalışma sonucunda OTA'nın en yüksek bağlama oranını (%10.5) tri-octahedral yapıdaki bir bentonit örneği ile sağlamışlardır. Rafinasyon prosesi boyunca zeytinyağı örneklerindeki OTA miktarlarının değişimi Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Rafinasyon Prosesi Boyunca Zeytinyağında Bulunan OTA Miktarlarındaki Değişim

Şekil 4.6 incelendiğinde 15 µg/kg başlangıç düzeyi ile rafine edilen zeytinyağı örneklerindeki OTA miktarı, ortalama 0.32 µg/kg OTA seviyesine düşmüştür. Rafinasyon sonrasında elde edilen üründeki OTA miktarının, başlangıçtaki OTA miktarından %97.86 oranında daha az olduğu belirlenmiştir.

Rafinasyon İşlem Basamaklarının Zeytinyağındaki OTA Miktarına Etkileri

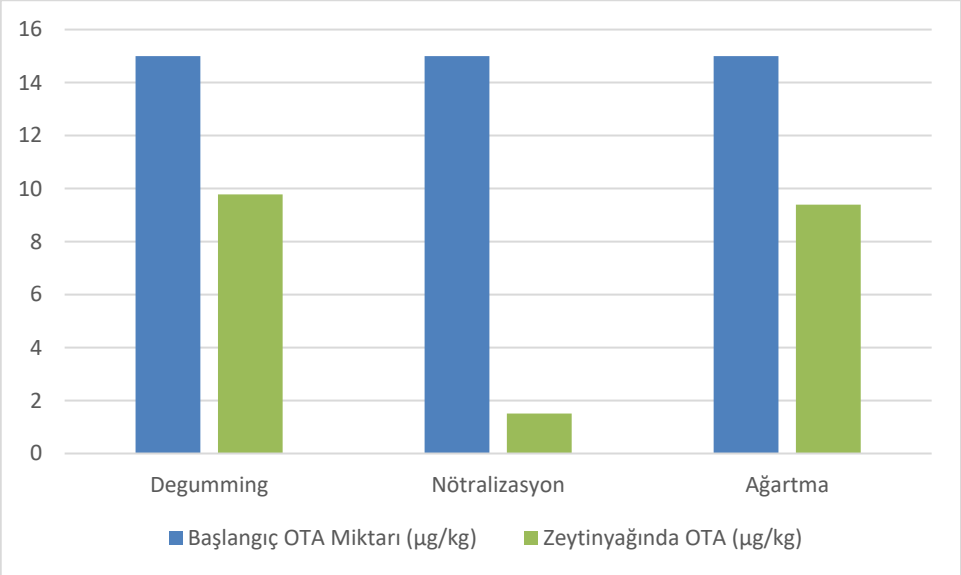
Bu çalışmada rafinasyon işlem basamaklarının zeytinyağında OTA miktarları üzerine etkileri ayrı ayrı incelenmiştir. Bölüm 4.6.2.'deki çalışmada OTA içermeyen zeytinyağı örneklerine rafinasyon başlangıcında 15 µg/kg miktarında OTA aşılandıktan sonra rafinasyon süresince OTA miktarının değişimi incelenmişti. Bu çalışmada ise degummming, nötralizasyon ve ağartma işlemleri ayrı ayrı yapılmış ve her işlem öncesinde OTA içermeyen zeytinyağı örneklerine 15 µg/kg OTA aşılanmış ve işlem bitiminde elde edilen yağ örneklerine OTA analizi yapılmıştır. Çalışmanın sonuçları Çizelge 4.26'da görülmektedir.

Çizelge 4.26. Rafinasyon İşlem Basamaklarının Zeytinyağında Bulunan OTA Miktarlarına Etkileri

	Başlangıç OTA Miktarı (µg/kg)	**Zeytinyağında OTA (µg/kg)**	**OTA Miktarındaki Azalma**
Degumming	15	9.78±0.72 a	34.81±4.83 b
Nötralizasyon	15	1.51±0.55 b	89.91±3.66 a
Ağartma	15	9.39±0.62 a	37.40±4.13 b

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark önemlidir($p<0.05$)

Çizelge 4.26 incelendiğinde rafinasyon işlem basamaklarının zeytinyağında bulunan OTA üzerine etkili olduğu görülmektedir. Sonuçların karşılaştırılmasında, uygulamalar arasındaki farklılık $p<0.05$ güven aralığında önemli bulunmuştur. Rafinasyon işlem basamaklarının zeytinyağında OTA üzerine etkisi Şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Rafinasyon İşlem Basamaklarının Zeytinyağında Bulunan OTA Miktarlarına Etkileri

Çalışma sonuçları Bölüm 4.6.2.'deki sonuçlarla benzer sonuçlar vermiştir. Nötralizasyon işlemi %89.91 oranıyla OTA miktarını azaltmada en etkili işlem basamağı olarak bulunmuştur. Bunu % 37.40 oranıyla ağartma ve % 34.81 oranıyla nötralizasyon işlemleri takip etmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada farklı ekstraksiyon metotlarının Antep fıstığında aflatoksin ve zeytinde OTA üzerine etkileri ile rafinasyon işlem basamaklarının Antep fıstığı yağında aflatoksin ve zeytinyağında OTA üzerine etkileri araştırılmıştır.

Yağ ekstraksiyonu çalışmasından elde edilen veriler incelendiğinde, kullanılan ekstraksiyon metotlarının Antep fıstığı örneklerindeki aflatoksinin yağa geçişi ile zeytin örneklerindeki OTA'nın zeytinyağına geçişi üzerine etkili oldukları belirlenmiştir.

Antep fıstığından yağ ekstraksiyonu için yapılan çalışmada: Doğal kontamine örneklerde ve aflatoksin aşılanmış örneklerde soxhlet metotlarında Antep fıstığı yağına geçen aflatoksin miktarlarının daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Soxhlet ekstraksiyonlarında kullanılan n-hekzan ve petrol eteri yüksek apolar özelliğe sahip çözgenler oldukları için yağları çok iyi bir şekilde çözebilmektedirler, buna karşın yüksek polariteye sahip aflatoksinler ile etkileşimleri düşük olmaktadır. Bu sebeple çözgen ekstraksiyonu ile elde edilen yağ örneklerine aflatoksin geçişi düşük oranlarda gerçekleşmektedir. Buna paralel olarak küspe örneklerinde yapılan analizde ise küspelerde kalan aflatoksin miktarlarının yağ örneklerindekilere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Presleme ile yağ ekstraksiyonu herhangi bir kimyasal işleme gereksinim duymadan mekanik ayrım prensibine dayalı bir işlemdir. Yağ sanayiinde ürünün cinsine ve formuna bağlı olarak birçok farklı presleme yöntemi kullanılmaktadır. Bu çalışmada laboratuvar tipi vidalı pres makinası kullanılmıştır. Antep fıstığında ekstraksiyon için soğuk pres ve kavrulmuş tohumlardan soğuk pres metotları kullanılmıştır. Bu metotlarda da aflatoksinin büyük kısmı küspede kalmış olmasına rağmen, yağa geçen aflatoksin miktarları soxhlet ekstraksiyonu metotlarından daha yüksek olmuştur. Soğuk pres ile elde edilen yağlara, vitaminler ve polifenoller gibi biyoaktif bileşenler yüksek oranlarda geçtiği için, tüketiciler tarafından soğuk preslenmiş yağlar tercih sebebi olmaktadır, ancak bu yağlar direkt tüketildiği için aflatoksin kontaminasyonunun söz konusu olduğu durumlarda, ciddi sağlık riskleri ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla tüketici sağlığını korumak için, soğuk sıkım olarak tüketilecek Antep fıstığı ürünlerinde başlangıçta ve son üründe aflatoksin kontrolünün yapılması önem kazanmaktadır.

Zeytin örneklerinde yapılan ekstraksiyon çalışmalarında: Doğal kontamine örneklerde ve OTA aşılanmış örneklerde, OTA'nın en düşük oranlarda zeytinyağına geçişi soxhlet ekstraksiyonu metotlarında olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada da soxhlet ekstraksiyonlarında için n-hekzan ve petrol eteri çözgenleri kullanılmıştır. OTA da aflatoksin gibi yüksek polariteye sahip bir bileşik olduğu için, çözgen ekstraksiyonu ile elde edilen zeytinyağı örneklerine OTA geçişi daha düşük oranlarda gerçekleşmektedir. Soğuk sıkım ve sıcak sıkım yağ ekstraksiyon metotlarında ise yine hammaddedeki OTA'nın az bir miktarı zeytinyağına geçmiş, ancak bu geçiş soxhlet ekstraksyion metotlarına göre daha yüksek oranlarda olmuştur. Dünya genelinde zeytinyağı natürel sızma olarak kullanılmaktadır. Zeytinde OTA kontaminasyonu olması durumnda zeytinyağına OTA geçişi

olabildiği için yağa işleme öncesinde hammaddede OTA kontrolünün yapılması önem arz etmektedir. Pirina örneklerinde yapılan incelemede ise başlangıç OTA miktarının büyük oranda pirinada kaldığı belirlenmiştir.

Antep fıstığı yağında yapılan rafinasyon çalışmasında: aflatoksin açısından temiz olan Antep fıstığı örneklerine 15 µg/kg miktarında aflatoksin aşılanmış ve rafinasyon işlem basamaklarının etkisi ayrı ayrı ve süreç halinde iki farklı plan dahilinde incelenmiştir. Çalışmada rafinasyon işlem basamaklarının aflatoksinler üzerine farklı oranlarda etkili olduğu tespit edilmiştir. Aflatoksin miktarları üzerine en etkili yöntemin degumming olduğu, bunu nötralizasyon ve ağartmanın izlediği belirlenmiştir. Düşük pH ortamlarında aflatoksinlerin molekül yapısı kolayca parçalanabildiği için, Antep fıstığı yağında aflatoksin mikarını azaltmak için en etkili rafinasyon işlem basamağının degumming olarak tespit edilmiş olması, literatürlere uyumlu bulunmuştur. Proses bitiminde aflatoksin miktarlarında %90.33 oranında bir azalma meydana gelmiştir.

Zeytinyağında yapılan rafinasyon çalışmasında: OTA açısından temiz olan zeytinyağı örneklerine 15 µg/kg miktarında OTA aşılanmış ve rafinasyon işlem basamaklarının etkisi ayrı ayrı ve süreç halinde iki farklı plan dahilinde incelenmiştir. Zeytinyağında OTA miktarı üzerine en etkili yöntemin nötralizasyon olduğu belirlenmiş olup bunu ağartma ve degumming yöntemleri takip etmiştir. OTA alkali ortamlarda kolay bozunabildiği için, zeytinyağında OTA miktarını azaltmak için en etkili rafinasyon işlem basamağının nötralizasyon olarak tespit edilmiş olması literatürlerle uyumlu bulunmuştur. Rafinasyon prosesi bitiminde OTA miktarlarında %97.80 oranında bir azalma meydana gelmiştir.

Bu çalışma, Antep fıstığı ve zeytin özelinde, meyvede bulunan mikotoksinlerin yağa geçiş süreçlerinin araştırılması ve aynı zamanda yağa geçen mikotoksinler üzerine rafinasyon işlem basamaklarının etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

Antepfıstığı ve zeytin sofralık olarak yüksek talep gören tarımsal ürünlerdir. Bu ürünlerin mikotoksinler ile kontamine olması söz konusu olduğunda, halk sağlığı açısından önemli riskler ortaya çıkmakta, bununla beraber ciddi ekonomik kayıplarla da karşılaşılmaktadır. Bu çalışmada elde edilen veriler ışığında:

- Antepfıstığı ve zeytinde mikotoksin varlığının tespit edilmesi durumunda, bu ürünlerin imha edilmek yerine yağa işlenmesiyle mikotoksin miktarı azaltılabilmektedir. Bu proses, hem halk sağlığı hem de ürün kayıplarının önlenmesi açısından önemli bir katma değer sağlama potansiyeline sahiptir.
- Yurtiçi ve uluslararası gıda kodekslerinde, bitkisel yağlarda mikotoksin varlığı ile ilgili herhangi bir kritere rastlanmamıştır. Ancak özellikle zaman zaman rafine edilmeden tüketilen yağlarda yüksek miktarlarda mikotoksin varlığıyla karşılaşılmaktadır, bu konuda bir yasal düzenleme yapılmasının tüketici sağlığının korunması açısından faydalı olacağı düşünülmektedir.

- Yağa mikotoksin geçmesi durumunda rafinasyon işlemi ile yağdaki mikotoksin miktarı çok düşük düzeylere düşürülebilmektedir. Bu çalışmada, rafinasyon işleminin hem aflatoksin hem de OTA üzerine %90'ın üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir.
- Yağ ekstraksiyonu ve rafinasyon işlemlerinin kombine uygulanmasıyla, rafine bir yağda aflatoksin ve OTA miktarları çok düşük seviyelere indirilebilmektedir.
- Bitkisel yağların hammaddelerini oluşturan yağlı tohumlarda, küf gelişimi ve dolayısıyla mikotoksin oluşumu sık görülen bir problemdir. Antepfıstığı ve zeytinde mikotoksin oluşumunun önüne geçebilmek için, meyveler ağaç üzerindeyken meyve sineği ve böcek aktivitesi gibi nedenlerle meyvenin mekanik hasar almasının engellenmesi, hasadın zamanında ve doğru bir şekilde yapılması, nakliye, depolama ve kurutma gibi hasat sonrası işlemlerin de uygun koşullar altında yapılması gerekmektedir. Bu bağlamda İyi Tarım (GAP) ve Kritik Kontrol Noktaları Sistemi (HACCP) gibi kalite kontrol sistemlerinin üretim sürecine adapte edilmesi, ürünün kalitesinin korunması açısından önemli katkılar sağlayacaktır.
- Bunların yanında, çalışmamızda yağ ekstraksiyonundan elde edilen küspelerde aflatoksin ve pirina örneklerinde ise OTA miktarlarının yüksek oranlarda olduğu belirlenmiştir. Bu ürünlerin hayvan yemi olarak veya başka bir tüketim malzemesi olarak kullanımında öncelikle mikotoksin analizlerinin yapılması önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

Abalaka, J. A. ve Elegbede, J. A.,1982. Aflatoxin distribution and total microbial counts in an edible oil extracting plant. I. Preliminary observations , Food and Chemical Toxicology, 20(1), 43–46.

Abdolmaleki, K., Khedri, S., Alizadeh, L., Javanmardi, F., Oliveira, C. A. F. ve Mousavi Khaneghah, A., 2021. The mycotoxins in edible oils: An overview of prevalence, concentration, toxicity, detection and decontamination techniques , Trends in Food Science and Technology, 115(December 2020), 500–511.

Afshari, H. ve Hokmabadi, H., 2008. Studying the Effects of Elements on Early Splitting of Pistachio Nuts and the Effects of Phenolic Compounds on Aflatoxin Control , 4(2), 131–137.

Ahmadi, F. ve Tajabadipour, A., 2011. Investigation of Aflatoxin Contamination in Indehiscence and Mechanical Splitting Pistachios , 2(1), 31–36.

Al Juhaimi, F., Özcan, M. M., Ghafoor, K., Babiker, E. E. ve Hussain, S., 2018. Comparison of cold-pressing and soxhlet extraction systems for bioactive compounds, antioxidant properties, polyphenols, fatty acids and tocopherols in eight nut oils , Journal of Food Science and Technology, 55(8), 3163–3173.

Almoselhy, R. I. M., 2020. Effect of Drying Process on the Quality of Table Olives , Middle East Journal of Applied Sciences, (April 2020).

Anonim 1. https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-8.htm (Son erişim tarihi: 25 Ocak 2022).

Anonim 2. https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr (Son erişim tarihi: 20 Aralık 2022).

Anonim 3. https://turkomp.gov.tr/(Erişim: 25 Ocak 2022).

Anonim 4. https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6.htm (Son erişim tarihi: 25 Ocak 2022).

Anonim 5. https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2018/03/20180315-19.htm (Son erişim tarihi: 25 Ocak 2022).

Anonymus 1. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/186907 (Son erişim tarihi: 25 Ocak 2022).

Anonymus 2. https://food.ec.europa.eu/safety/chemical-safety/contaminants/legislation_en (Son erişim tarihi: 25 Ocak 2022).

Anonymus 3. https://www.fao.org/faostat/en/ (Son erişim tarihi: 20 Aralık 2022).

AOAC 997.07:2000. Aflatoxin B1 and total aflatoxins in peanut butter,Pistachio paste,Fig paste,and paprika powder.

Asim, M., Sarma, M. P., Thayumanavan, L. ve Kar, P., 2011. Role of Aflatoxin B1 as a risk for primary liver cancer in north Indian population , Clinical Biochemistry, 44(14–15), 1235–1240.

Baazeem, A., Garcia-Cela, E., Medina, A. ve Magan, N., 2021. Interacting Abiotic Factors Affect Growth and Aflatoxin B1 Production Profiles of Aspergillus flavus Strains on Pistachio-Based Matrices and Pistachio Nuts , Frontiers in Microbiology, 11(January), 1–12.

Ballistreri, G., Catalano, A. E., Arena, E., Spagna, G. ve Fallico, B., 2011. Lipase and lipoxygenase activity of Pistacia vera L. , Acta Horticulturae, 912(June 2016), 179–186.

Banu, N. ve Muthumary, J., 2010. Aflatoxin B1 contamination in sunflower oil collected from sunflower oil refinery situated in Karnataka , Health, 02(08), 973–987.

Battilani, P., Toscano, P., Van Der Fels-Klerx, H. J., Moretti, A., Camardo Leggieri, M., Brera, C., Rortais, A., Goumperis, T. ve Robinson, T., 2016. Aflatoxin B 1 contamination in maize in Europe increases due to climate change , Scientific Reports, 6(April), 1–7.

Bayman, P., Baker, J. L., Doster, M. A., Michailides, T. J. ve Mahoney, N. E., 2002. Ochratoxin production by the Aspergillus ochraceus group and Aspergillus alliaceus , Applied and Environmental Microbiology, 68(5), 2326–2329.

Bhat, R. ve Reddy, K. R. N., 2017. Challenges and issues concerning mycotoxins contamination in oil seeds and their edible oils: Updates from last decade , Food Chemistry, 215, 425–437.

Bordin, K., Sawada, M. M., Rodrigues, C. E. da C., da Fonseca, C. R. ve Oliveira, C. A. F., 2014. Incidence of Aflatoxins in Oil Seeds and Possible Transfer to Oil: A Review , Food Engineering Reviews, 6(1–2), 20–28.

Boskou, D., 2006. Storage and Packing , Olive Oil: Chemistry and Technology: Second Edition, 233–241.

Boskou, D., Blekas, G. ve Tsimidou, M., 2006. Olive oil composition: chemistry, properties, health effects , AOCS Press, (1999), 41–72.

Boutrif, E., 1998. Prevention of aflatoxin in pistachios 1 , Water, (October 1997), 27–28.

Bressac, B., Puisieux, A., Kew, M., Volkmann, M., Bozcall, S., Bella Mura, J., de la Monte, S., Carlson, R., Blum, H., Wands, J., Takahashi, H., von Weizsacker, F., Galun, E., Kar, S., Carr, B. I., Schroder, C. H., Erken, E., Varinli, S., Rustgi, V. K., Prat, J., Toda, G., Koch, H. K., Huan Liang, X., Tang, Z. you, Shouval, D., Lee, H. S., Vyas, G. N., Sarosi, I. ve Ozturk, M., 1991. P53 Mutation in Hepatocellular Carcinoma After Aflatoxin Exposure , The Lancet, 338(8779), 1356–1359.

Chen, R., Ma, F., Li, P. W., Zhang, W., Ding, X. X., Zhang, Q., Li, M., Wang, Y. R. ve Xu, B. C., 2014. Effect of ozone on aflatoxins detoxification and nutritional quality of peanuts , Food Chemistry, 146, 284–288.

Cheraghali, A. M., Yazdanpanah, H., Doraki, N., Abouhossain, G., Hassibi, M., Ali-abadi, S., Aliakbarpoor, M., Amirahmadi, M., Askarian, A., Fallah, N., Hashemi, T., Jalali, M., Kalantari, N., Khodadadi, E., Maddah, B., Mohit, R., Mohseny, M., Phaghihy, Z., Rahmani, A., Setoodeh, L., Soleimany, E. ve Zamanian, F., 2007. Incidence of aflatoxins in Iran pistachio nuts , Food and Chemical Toxicology, 45(5), 812–816.

Clavel, D. ve Brabet, C., 2013. Mycotoxin contamination of nuts, Improving the Safety and Quality of Nuts.

Cserháti, M., Kriszt, B., Krifaton, C., Szoboszlay, S., Háhn, J., Tóth, S., Nagy, I. ve Kukolya, J., 2013. Mycotoxin-degradation profile of Rhodococcus strains , International Journal of Food Microbiology, 166(1), 176–185.

Cuero, R., Ouellet, T., Yu, J. ve Mogongwa, N., 2003. Metal ion enhancement of fungal growth, gene expression and aflatoxin synthesis in Aspergillus flavus: RT-PCR characterization , Journal of Applied Microbiology, 94(6), 953–961.

Dai, X. ve Liu, Y., 2017. Effect of water activity and temperature on the growth of Aspergillus flavus, the expression of aflatoxin biosynthetic genes and aflatoxin production in shelled peanuts, Food Control, 82, 325–332.

Daradimos, E., Marcaki, P. ve Koupparis, M., 2000. Evaluation and validation of two fluorometric HPLC methods for the determination of aflatoxin B1 in olive oil , Food Additives and Contaminants, 17(1), 65–73.

Dazkır, G., 2010. Zeytin ve Zeytinyağında Mikotoksin Varlığı, Siyah Zeytinde A. Carbonarıus Ve P. Verrucosum Tarafından Okratoksin A Oluşturulmasına Sıcaklığın Etkisi. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi. 125 s.

Domijan, A. M. ve Peraica, M., 2010. Carcinogenic Mycotoxins , Comprehensive Toxicology, Second Edition, 14, 125–137.

Doster, M. A., Cotty, P. J. ve Michailides, T. J., 2009. Description of a distinctive aflatoxin-producing strain of Aspergillus nomius that produces submerged sclerotia , Mycopathologia, 168(4), 193–201.

El Adlouni, C., Tozlovanu, M., Naman, F., Faid, M. ve Pfohl-Leszkowicz, A., 2006. Preliminary data on the presence of mycotoxins (ochratoxin A, citrinin and aflatoxin B1) in black table olives ‘Greek style’ of Moroccan origin , Molecular Nutrition and Food Research, 50(6), 507–512.

Elangovan, T. V. P. ve Kalyanasundaram, I., 2000. Prevalence of Aflatoxin B1 In rice bran and some associated factors , 52(2), 129–133.

Fan, S., Zhang, F., Liu, S., Yu, C., Guan, D. ve Pan, C., 2013. Removal of aflatoxin B1 in edible plant oils by oscillating treatment with alkaline electrolysed water , Food Chemistry, 141(3), 3118–3123.

Fanelli, C. ve Fabbri, A. A., 1989. Relationship between lipids and aflatoxin biosynthesis , Mycopathologia, 107(2–3), 115–120.

Feddern, V., 2013. Aflatoxins Importance on Animal Nutrition , Dors, G. C. (ed.). Rijeka, Ch. 8.

Fernane, F., Cano-Sancho, G., Sanchis, V., Marin, S. ve Ramos, A. J., 2010. Aflatoxins and ochratoxin A in pistachios sampled in Spain: Occurrence and presence of mycotoxigenic fungi , Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance, 3(3), 185–192.

Ferracane, R., Tafuri, A., Logieco, A., Galvano, F., Balzano, D. ve Ritieni, A., 2007. Simultaneous determination of aflatoxin B1 and ochratoxin A and their natural occurrence in Mediterranean virgin olive oil , Food Additives and Contaminants, 24(2), 173–180.

Finoli, C., Vecchio, A. ve Planeta, D., 2005.Mycotoxin occurrence in extra virgin olive oils and in olives [Sicily] , Industrie Alimentari (Italy).

Fooladi, M. H. ve Farahnaky, A., 2003. Aflatoxin removal from pistachio nuts by natural natrolite , Journal of Food Science, 68(4), 1225–1228.

Gianessi, L., 2009. The Benefits of Insecticide Use: Almonds , Croplife, (March), 9.

Gil-Serna, J., Vázquez, C., González-Jaén, M. T. ve Patiño, B., 2018. Wine contamination with ochratoxins: A review , Beverages, 4(1).

Groman-Yaroslavski, I., Weiss, E. ve Nadel, D., 2016.Composite Sickles and Cereal Harvesting Methods at 23,000-Years-Old Ohalo II, Israel , Plos One, 11(11), e0167151.

Gupta, R. C., Lasher, M. A., Miller Mukherjee, I. R., Srivastava, A. ve Lall, R., 2017. Aflatoxins, ochratoxins, and citrinin, Reproductive and Developmental Toxicology. Reproductive and Developmental Toxicology (pp.753-763)

Gürbay, A., Engin, A. B., Çağlayan, A. ve Şahin, G., 2006. Aflatoxin M1 levels in commonly consumed cheese and yogurt samples in Ankara, Turkey , Ecology of Food and Nutrition, 45(6), 449–459.

Gürhayta, O. F. ve Çağındı, Ö., 2016. Kurutulmuş Meyvelerde Aflatoksin ve Okratoksin A Varlığının ve Sağlık Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi , Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 12(2), 327–338.

Heperkan, D., Aran, N. ve Ayfer, M., 1994. Mycoflora and aflatoxin contamination in shelled pistachio nuts , Journal of the Science of Food and Agriculture, 66(3), 273–278.

Heperkan, D., Dazkir, G. S., Kansu, D. Z. ve Karbancioglu Gler, F. 2009. Influence of temperature on citrinin accumulation by Penicillium citrinum and Peniccillium verrucosum in black table olives , Toxin Reviews, 28(2–3), 180–186.

Hojnik, N., Modic, M., Walsh, J. L., Žigon, D., Javornik, U., Plavec, J., Žegura, B., Filipič, M. ve Cvelbar, U. 2021. Unravelling the pathways of air plasma induced aflatoxin B1 degradation and detoxification , Journal of Hazardous Materials, 403(July 2020).

International Agency for Research on Cancer, 2002. List of Classifications by cancer sites with sufficient or limited evidence in humans, Cancer site Carcinogenic agents with sufficient evidence in humans Agents with limited evidence in humans Lip , oral Cavity , and pharynx List of Cl , 1–12.

Jalili, M., Jinap, S. ve Son, R., 2011. The effect of chemical treatment on reduction of aflatoxins and ochratoxin A in black and white pepper during washing , Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, 28(4), 485–493.

Kabak, B., 2009. The fate of mycotoxins during thermal food processing , Journal of the Science of Food and Agriculture, 89(4), 549–554.

Kabak, B. ve Var, I., 2008. Factors affecting the removal of aflatoxin M 1 from food model by Lactobacillus and Bifidobacterium strains Factors affecting the removal of aflatoxin M 1 from food model by Lactobacillus and Bifidobacterium strains , 1234.

Kafkas, S. ve Perl, R., 2001. Morphological Molecular Phylogeny of Pistacia Species in Turkey, Theoretical and Applied Genetics, 102(6):908-915.

Kiritsakis, A., 2017. Olives and Olive Oil: A Mediterranean Source of Polyphenols", Olives and Olive Oil as Functional Foods, 417–434.

Kislev, M. E., Nadel, D. ve Carmi, I., 1992. Epipalaeolithic (19,000 BP) cereal and fruit diet at Ohalo II, Sea of Galilee, Israel , Review of Palaeobotany and Palynology, 73(1–4), 161–166.

Klich, M. A., 2007. Aspergillus flavus: The major producer of aflatoxin , Molecular Plant Pathology, 8(6), 713–722.

Kłosowski, G., Mikulski, D., Grajewski, J. ve Błajet-Kosicka, A., 2010. The influence of raw material contamination with mycotoxins on alcoholic fermentation indicators , Bioresource Technology, 101(9), 3147–3152.

Küçüköner, E. ve Yurt, B., 2003. Some chemical characteristics of Pistacia vera varieties produced in Turkey , European Food Research and Technology, 217(4), 308–310.

Lanza, F., 2011. Olive: A Global History , (The Ancient Roots of the Olive), Reaktion Books Ltd, London. 12–28.

Lappa, I. K., Kizis, D. ve Panagou, E. Z., 2017. Monitoring the Temporal Expression of Genes Involved in Ochratoxin A Production of Aspergillus carbonarius Under the Influence of Temperature and Water Activity, Toxins, 9(10).

Lavkor, I., Var, I. ve Öztemiz, S., 2018. First Report of Mycotoxins in Second Peanuts Crop in Adana and Osmaniye at Harvest , Drying , Prestorage and Storage Periods. InTech Open Book Stats; Aflatoxin Control, Analysis, Detection And Health Risks, Zagreb: Croatia Legal Deposit, 2017, pp.193-209.

Lunn, R. M., Zhang, Y., Wang, L., Chen, C., Lee, P., Lee, C., Tsai, W. ve Santella, R. M., 1997. Hepatocellular Carcinoma in Taiwan ' aflatoxin exposure stained consisting from , 3471–3477.

Magan, N. ve Olsen, M., 2004. Mycotoxins in Food: Detection and Control, Mycotoxins in Food: Detection and Control. Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Abington, Cambridge. 1-59.

Mahoney, N. E. ve Rodriguez, S. B., 1996. Aflatoxin variability in pistachios , Applied and Environmental Microbiology, 62(4), 1197–1202.

Mahoney, N. ve Molyneux, R. J., 2010. Rapid analytical method for the determination of aflatoxins in plant-derived dietary supplement and cosmetic oils , Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(7), 4065–4070.

Margaritis, E. ve Jones, M., 2008. Olive oil production in Hellenistic Greece: the interpretation of charred olive remains from the site of Tria Platania, Macedonia, Greece (fourth–second century b.c.), Vegetation History and Archaeobotany, 17(4), 393–401.

Matthäus, B. B. T.-A., 2007. Oil Technology, Rapeseed Breeding, 483–527.

Mgbeahuruike, A. C., Ejioffor, T. E., Christian, O. C., Shoyinka, V. C., Karlsson, M. ve Nordkvist, E., 2018. Detoxification of Aflatoxin-Contaminated Poultry Feeds by 3 Adsorbents, Bentonite, Activated Charcoal, and Fuller's Earth, Journal of Applied Poultry Research, 27(4), 461–471.

Mimoune, N. A., Riba, A., Verheecke, C., Mathieu, F. ve Sabaou, N., 2016. Fungal contamination and mycotoxin production by Aspergillus spp. in nuts and sesame seeds, Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 05(04), 301–305.

Moulodi, F., Qajarbeigi, P., Rahmani, K., Haj Hosseini Babaei, A. ve Mohammadpoorasl, A., 2015. Effect of fatty acid composition on thermal stability of extra virgin olive oil , Journal of Food Quality and Hazards Control, 2(2), 56–60.

Naieni, K. H., Ghods, B., Ghorbani, R., Bagheri, B. ve Abdolshahi, A., 2020. Aflatoxin contamination of pistachio and aflatoxicose: Knowledge, attitude, and practices of people in Damghan City, Iran , Journal of Nuts, 11(1), 91–99.

Nejad, M. K., Tabil, L. G., Mortazavi, A. ve Kordi, A. S.. 2003. Effect of drying methods on quality of Pistachio nuts , Drying Technology, 21(5), 821–838.

Ngindu, A., Johnson, B. K., Kenya, P. R., Ngira, J. A., Ocheng, D. M., Nandwa, H., Omondi, T. N., Jansen, A. J., Ngare, W., Kaviti, J. N., Gatei, D. ve Siongok, T. A., 1982. Outbreak of acute hepatitis caused by aflatoxin poisoning in Kenya. , Lancet (London, England). England, 1(8285), 1346–1348.

Öksüztepe, G. ve Erkan, S., 2016. Mikotoksinler ve Halk Sağlığı Açısından Önemi, Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 5(2), 190–195.

Özbek, H. N., Halahlih, F., Göğüş, F., Koçak Yanık, D. ve Azaizeh, H., 2020. Pistachio (Pistacia vera L.) Hull as a Potential Source of Phenolic Compounds: Evaluation of Ethanol–Water Binary Solvent Extraction on Antioxidant Activity and Phenolic Content of Pistachio Hull Extracts , Waste and Biomass Valorization, 11(5), 2101–2110.

Özcan, S. ve Gökmen, V., 2016. Alkali-Based Pre-Treatment May Prevent Ochratoxin A in Grapes, World Mycotoxin Journal, 9(4), 517–523.

Özkaya, Ş. ve Temiz, A. (2003) Aflatoksinler : Kimyasal Yapıları, Toksisiteleri Giriş Aflatoksinlerin Kimyasal Yapısı, Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi, 01(01), 1–21.

Öztekin, S., Evliya, B., Fenercioğlu, H., Ulusoy, R., Işıkber, A. A., Zorlugenç, B. ve Satar, S., 2005. Kuru İncirde Ozon Uygulamasının Mikrobiyel Flora, Aflatoksin ve Değirmen Güvesi Üzerine Etkileri. Tarım Makinaları Bilimi Dergisi. 2007, 3(3), 169-177.

Öztürk Güngör, F., Susamcı, E., Altunoğlu, Y. ve Irmak, Ş., 2019. İzmir'de Satışa Sunulan Bazı Sofralık Zeytinlerin Duyusal Özellikleri , Akademik Gıda, (November), 371–377.

Papachristou, A. ve Markaki, P., 2004. Determination of ochratoxin A in virgin olive oils of Greek origin by immunoaffinity column clean-up and high-performance liquid chromatography , Food Additives and Contaminants, 21(1), 85–92.

Parker, W. A. ve Melnick, D., 1966. Absence of aflatoxin from refined vegetable oils , Journal of the American Oil Chemists Society, 43(11), 635–638.

Pitt, R. E., 1993. A Descriptive Model of Mold Growth and Aflatoxin Formation as Affected by Environmental Conditions , Journal of Food Protection, 56(2), 139–146.

Pour, R. S., Rasti, M., Zighamian, H. ve Daraei Garmakhani, A., 2010. Occurrence of aflatoxins in pistachio nuts in esfahan province of Iran, Journal of Food Safety, 30(2), 330–340.

Roussos, S., Zaoula, N., Salih, G., Tantaoui-Elaraki, A., Lamrani, K., Cheheb, M., Hassouni, H., Verhé, F., Perraud-Gaime, I., Augur, C. ve Ismaili-Alaoui, M., 2006. Characterization of filamentous fungi isolated from Moroccan olive and olive cake: Toxinogenic potential of Aspergillus strains , Molecular Nutrition and Food Research, 50(6), 500–506.

Rustom, I. Y. S., 1997. Aflatoxin In Food And Feed: Occurrence, Legislation and Inactivation by Physical Methods , Food Chemistry, 59(1), 57–67.

Samarajeewa, U., Gamage, T. V. ve Arseculeratne, S. N., 1983. Aflatoxin contamination of coconut oil from small scale mills: toxin levels and their relation to free fatty acid content , Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka, 11(2), 203.

Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Oorschot, C. A.N., 1995. Introduction to Food-Borne Fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn. 322s.

Schatzki, T. F. ve DeKoe, W. J., 1999. Distribution of aflatoxin in pistachios. 6. Seller's and buyer's risk , Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(9), 3771–3775.

Set, E. ve Erkmen, O., 2010. The aflatoxin contamination of ground red pepper and pistachio nuts sold in Turkey , Food and Chemical Toxicology, 48(8–9), 2532–2537.

Shahidi, F. (2005) Bailey's Industrial Oil and Fat Oil and Fat, Bailey's Industrial Oil and Fat Products. edible oil and fat products: products and applications. 191-223.

Sinnhuber, R. O., Hendricks, J. D., Wales, J. H. ve Putnam, G. B., 1977. Neoplasms in rainbow trout, a sensitive animal model for environmental carcinogenesis, Annals of the New York Academy of Sciences, 298(1), 389–408.

Şahin K., Bozdoğan A., Yaşar K., Eker T., Kabak B., 2022. Impact of different extraction processes on aflatoxin contamination in peanut oil. J Food Sci Technol. 2022 Jul;59(7):2741-2750.

Şengül, Ü., Şengül, B., Apaydin, E., Taşçi, E. ve İlgün, R., 2018. Aflatoxin contamination in hazelnut oil obtained from hazelnuts containing high levels of aflatoxin , Tarim Bilimleri Dergisi, 24(4), 523–530.

Tibet, Ü., 2022. Türkiye zeytin çeşitleri, http://uzzk.org/Belgeler/turkıye_zeytin_cesitleri. (Son erişim tarihi: 25.01.2023).

Tokuşoğlu, Ö., 2011. Nut Bioactives: Phytochemicals and Lipid-Based Components of Almonds, Hazelnuts, Peanuts, Pistachios, and Walnuts , Fruit and Cereal Bioactives, 199–226.

TS ISO 21527-2, 2008. Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi - Maya ve Küflerin Sayımı İçin Yatay Yöntem - Bölüm 2: Su Aktivitesi 0.95'e Eşit veya Daha Düşük Olan Ürünlerde Koloni Sayım Tekniği.

Trivedi, A. B., Doi, E. ve Kitabatake, N., 1992. Detoxification of Ochratoxin A on Heating under Acidic and Alkaline Conditions , Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 56(5), 741–745.

Tunail, N., 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Sim Matbaası, Ankara, 522s.

Var, I., 1987. Çerezlik Yerfıstıklarında Aflatoksin Saptanması Üzerine Bir Araştırma. Gıda, 13(3):217-222.

Var, I. ve Kabak, B., 2007. Occurrence of ochratoxin A in Turkish wines. Microchemical Journal , vol.86, no.2, 241-247.

Var, I., Erginkaya, Z. ve Kabak, B., 2009. Reduction of Ochratoxin A Levels in White Wine by Yeast Treatments , 115(1), 30–34.

Var, I., Erginkaya, Z. ve Kabak, B., 2011. Inhibition of ochratoxin A production of aspergillus carbonarius by yeast species , Czech Journal of Food Sciences, 29(3), 291–297.

Var I. ve Tekin A., 2022. Çeşitli Yemeklik Yağlarda Mikotoksin Varlığının Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi, (Proje No:FBA-2020-13116). 33 s.

Var, I. ve Uçkun, O., 2021. Extraction Methods' Effects on Aflatoxin Concentration during Sunflower Oil Processing: First Report , European Journal of Agriculture and Food Sciences, 3(5), 136–143.

Van Duijn, G. 2014. Oils and Fats, Food Safety Management: A Practical Guide for the Food Industry.

Veršilovskis A ve Miķelsone V., 2006. Reduction of Aflatoxin B1 and B2 in Pistachio Nuts by Extraction with Ethanol and Ethanol-Water Solutions, Food chemistry and technology, KTU, Kaunas, Lithuania, vol. 40, no. 2, pp. 56-61, 2006.

Vijaya-Kumar, V., 2018. Aflatoxins: Properties, Toxicity and Detoxification , Nutrition & Food Science International Journal, 6(5).

Vila-Donat, P., Marín, S., Sanchis, V. ve Ramos, A. J. , 2019. New mycotoxin adsorbents based on tri-octahedral bentonites for animal feed , Animal Feed Science and Technology, 255(October 2018), 114228.

Van Vleet, T. R., Watterson, T. L., Klein, P. J. ve Coulombe, R. A., 2006. Aflatoxin B1 alters the expression of p53 in cytochrome p450-expressing human lung cells , Toxicological Sciences, 89(2), 399–407.

Woodroof, J. G., 1994. Nuts as a source of edible oil , Technological Advances in Improved and Alternative Sources of Lipids, 150–176.

Xie, L., Yang, Z. Y., Wen, J., Li, D. Z. ve Yi, T. S., 2014. Biogeographic history of Pistacia (Anacardiaceae), emphasizing the evolution of the Madrean-Tethyan and the eastern Asian-Tethyan disjunctions , Molecular Phylogenetics and Evolution, 77(1), 136–146.

Yavuz, M. A., Yildirim, H. ve Onay, A., 2016. Dünya Antepfıstığı Üretiminde Son On Yılın Değerlendirilmesi Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü , Diyarbakır Evaluating the Last Ten Years of World Pistachio Production , 6(2), 22–31.

Zijden, A. S. M., Koelensmid, W. B., Boldingh, J., Barrett, C. B., Ord, W. O. ve Philp, J., 1962. Aspergillus flavus and turkey X disease: Isolation of crystalline form of a toxin responsible for turkey X disease , Nat. Int. J. Sci., 196, 1048–1050.

Zöllner, P. ve Mayer-Helm, B., 2006. Trace mycotoxin analysis in complex biological and food matrices by liquid chromatography-atmospheric pressure ionisation mass spectrometry , Journal of Chromatography A, 1136(2), 123–169.

Zorlugenç, B., Kiroğlu Zorlugenç, F., Öztekin, S. ve Evliya, I. B., 2008. The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B1 in dried figs , Food and Chemical Toxicology, 46(12), 3593–3597.

Zulfiqar, S., Tariq, F., Perveen, K., Ayub, N., Mansab, S., Batool, S. Q., Abbassi, M., Iram, S. ve Tabassum, N., 2015. Mycotoxins Analysis in Fresh and Dry Fruits from Pakistan -A Review , & Environ. Sci, 15(12), 2538–2545.

ÖZGEÇMİŞ

Ali TEKİN, İlkokul, Ortaokul ve Lise eğitimini Adana'da tamamladı. 2003 yılında Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünden mezun oldu. 2010 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisansını tamamladı.

2005-2010 yılları arasında Diyarbakır İli Bismil İlçe Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğünde Gıda Kontrolörü olarak görev yaptı. 2010-2016 yılları arasında Antepfıstığı Araştırma Enstitüsü'nde Mühendis ve Gıda Teknolojileri Bölüm Başkanı olarak görev yaptı. 2016 yılından beri Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü'nde Gıda Teknolojileri Bölüm Başkanı olarak görev yapmaktadır. Evlidir ve iki oğlu vardır.