MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AFLATOKSİN B_1 ANALİZİ İÇİN POLİMER ESASLI OPTİK SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

SÜMEYRA KALYONCU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimya Anabilim Dalı
Analitik Kimya Programı

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU
II.DANIŞMAN
Doç. Dr. Özgen ERCAN

İSTANBUL, 2017

MARMARA UNIVERSITY

INSTITUTE FOR GRADUATE STUDIES IN PURE AND APPLIED SCIENCES

DEVELOPMENT OF PHOTOPOLYMERIZED FLUORESCENCE SENSOR FOR AFLATOXİN B_1

SÜMEYRA KALYONCU

520413006

MASTER THESIS

ADVISOR

Prof. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU

CO- ADVISOR

Doç. Dr. Özgen ERCAN

İSTANBUL, 2017

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Öğrencisi Sümeyra KALYONCU' nun "Aflatoksin B_1 Analizi İçin Polimer Esaslı Optik Sensör Geliştirilmesi'' başlıklı tez çalışması, 10/02/2017 tarihinde savunulmuş ve jüri üyeleri tarafından başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU — Danışman
Marmara Üniversitesi

Prof. Dr. Kubilay GÜÇLÜ — Üye
İstanbul Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Soner ÇUBUK — Üye
Marmara Üniversitesi

ONAY

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 13./02./2017 tarih ve 2017/04-02 sayılı kararı ile Sümeyra KALYONCU' nun Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programında Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Uğur YAHŞİ

ÖNSÖZ

Bu Yüksek Lisans tez çalışması, Marmara Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya programında gerçekleştirilmiş ve FEN-C-YLP 130515-0182 no'lu proje kapsamında Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

Yüksek Lisans çalışmam süresince, çalışmaları büyük bir titizlikle yöneten, aktarmış olduğu teorik bilgiler ile literatür araştırmalarında yardımcı olan, bilgi ve tecrübesinden yararlandığım tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Ece KÖK YETİMOĞLU' na,

Çalışmalarımıza her türlü imkanlarıyla yardımda bulunan değerli hocam ve eş danışmanım Doç. Dr. Özgen ERCAN' a,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca hiçbir yardımı esirgemeyen, bu çalışmanın tamamlanmasında büyük katkı sahibi olan, birçok durumda engin tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Soner ÇUBUK' a,

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada danıştığım ve tecrübesinden istifade ettiğim, tavsiye ve yorumlarını esirgemeyen Prof. Dr. M.Vezir KAHRAMAN' a,

Yardımlarıyla bana destek olan sevgili arkadaşım Neşe TAŞCİ' ye,

Her türlü desteklerini esirgemeyerek tüm olanaklarıyla yanımda olan, varlıklarıyla bana güç veren aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖNSÖZ (PREFACE) / TEŞEKKÜR (ACKNOWLEDGMENT)	**ii**
İÇİNDEKİLER	**iii**
ÖZET	**vii**
ABSTRACT	**viii**
SEMBOLLER (SYMBOLS)	**ix**
KISALTMALAR (ABBREVIATIONS)	**x**
ŞEKİL LİSTESİ (LIST OF FIGURES)	**xi**
TABLO LİSTESİ (LIST OF TABLES)	**xii**
BÖLÜM 1. GİRİŞ	**1**
BÖLÜM 2. AFLATOKSİNLER	**2**
2.1. Mikotoksinler	**2**
2.2. Aflatoksinler	**2**
2.2.1. Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal yapıları	**2**
2.2.2. Aflatoksin oluşumuna etki eden faktörler	**4**
2.2.2.1. Mantar cinsi	**4**
2.2.2.2. Ortamın nemi ve sıcaklığı	**4**
2.2.2.3. Oksijen etkisi	**5**
2.2.2.4. pH etkisi	**5**
2.2.3. Aflatoksin ihtiva eden tarımsal ürünler	**5**
2.2.3.1. Kabuklu fındıklarda aflatoksin	**7**
2.2.3.2. Yer fıstıklarında aflatoksin	**8**
2.2.3.3. Antep fıstıklarında aflatoksin	**8**
2.2.3.4. Buğday, un ve ekmekte aflatoksin	**10**
2.2.3.5. Mısırda aflatoksin	**11**

2.2.3.6. İncirde aflatoksin **11**

2.2.3.7. Süt ürünlerinde aflatoksin **13**

2.2.4. Aflatoksinlerin sağlık üzerine etkileri **13**

2.2.5. Aflatoksin sınır değerleri **17**

2.2.6. Aflatoksin önlenmesi ve giderilmesi **21**

2.2.7. Aflatoksinin analiz metotları **22**

2.2.7.1. Fluorimetrik yöntem **23**

2.2.8. β-Siklodekstrin yapısı ve AFB_1 ile oluşturduğu kompleks yapı **23**

BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOT **25**

3.1. Materyal **25**

3.1.1. Yararlanılan kimyasal maddeler **25**

3.1.2. Kullanılan cihazlar **25**

3.2. Yöntem **26**

3.2.1. Polimerik fluoresans sensörün hazırlanması **26**

3.2.1.1. Acryloyl β-cyclodextrin monomerinin sentezi **26**

3.2.2. Polimerik fluoresans sensörün hazırlanması **26**

3.2.3. Polimerik fluoresans sensörün karakterizasyonu **27**

3.2.3.1. ATR-FTIR ölçümleri **27**

3.2.3.2. Yüzey özellikleri **27**

3.2.4. Polimerik fluoresans sensörün AFB_1 için kullanılabilirliğinin araştırılması **27**

3.2.4.1. Spektral karakterizasyon çalışmaları **27**

3.2.4.2. Çözücü etkisinin araştırılması **27**

3.2.4.3. Polimerik fluoresans sensörün cevap verme süresi **28**

3.2.4.4. Kalibrasyon aralığı, tespit ve tayin sınırı **28**

3.2.4.5. Sensörün rejenerasyonu ve yeniden kullanılabilirliği **28**

3.2.4.6. Sensörün ömrü **28**

3.2.4.7. Girişim yapan aflatoksin türevlerinin etkileri **28**

3.2.4.8. Gerçek örnekte AFB_1 tayini **29**

3.2.4.9. Geliştirilen yöntemin diğer yöntemlerle karşılaştırılması **29**

BÖLÜM 4. DENEYSEL SONUÇLAR VE BULGULAR **30**

4.1. Polimerik Fluoresans Sensörün Karakterizasyonu **30**

4.1.1. FTIR analiz sonuçları **30**

4.1.2. SEM sonuçları **31**

4.2. Polimerik Fluoresans Sensörün AFB_1 Tayini için Kullanılabilirliğinin Tespiti **31**

4.2.1. Spektral karakterizasyon çalışmaları **31**

4.2.2. Polimerik fluoresans sensörün cevabına uygun çözücü konsatrasyonunun etkisi **32**

4.2.3. Polimerik fluoresans sensörün cevap verme süresinin tespiti **33**

4.2.4. Polimerik fluoresans sensörün rejenerasyon ve yeniden kullanılabilirliği **34**

4.2.5. Kalibrasyon aralığı, tespit ve tayin sınırı **34**

4.2.6. Polimerik fluoresans sensörün kullanım ömrü ve Kararlılığı **35**

4.2.7. Girişim yapan aflatoksin türevlerinin etkileri **36**

4.2.8. Polimerik fluoresans sensörün analitik uygulamaları **36**

4.2.8.1. Numunelerin analize hazırlanması **36**

BÖLÜM 5. SONUÇLAR **38**

KAYNAKLAR **41**

ÖZGEÇMİŞ **46**

ÖZET

AFLATOKSİN B_1 ANALİZİ İÇİN POLİMER ESASLI OPTİK SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

Aflatoksinler en yaygın ve üzerinde en çok çalışılan mikotoksin çeşitlerindendir ve ilk olarak 1960'lı yıllarda tayin edilmiştir. *Aspergillus flavus, Aspergillus parasiticus* and *Aspergillu nomius* tarafından üretilen aflatoksinlerin insan ve hayvanlar üzerinde ciddi zehirli etkileri bulunmaktadır. Aflatoksin B_1 (AFB_1) aflatoksinlerin en yaygın türü olup, fıstık, mısır ve pamuk gibi gıda ve tarım ürünlerinde genellikle AFB_1'e rastlanmaktadır. AFB_1' in tayini için enzim bağlı immuno sorbent deneyi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, gaz kromatografisi, fluorimetri ve immunoassay gibi çeşitli analitik yöntemler kullanılır. Bu yöntemler arasından fluorimetrik yöntem basitlik, duyarlılık, bağıl seçicilik, düşük maliyet ve kısa zamanda yapılabilir olması gibi parametreler sayesinde değerli bir yöntemdir. Bu çalışmada temelinde Ac-β-Cd olan fotopolimerizasyon yöntemi ile AFB_1 için seçici ve yeniden kullanılabilir polimerik fluoresans sensör hazırlanmıştır. Hazırlanan sensörün karakterizasyonu ATR-FTIR ve SEM cihazları ile yapılmıştır. Tepki süresi, çözücü etkisi, kalibrasyon aralığı, doğrusal aralık, tespit ve tayin sınırı gibi parametreler sistematik olarak incelenmiştir. Hazırlanan polimerik fluoresans sensörün 40 defa kullanılabilirliği tespit edimiştir. Membran uyarma/emisyon 376/423 nm ölçülen tespit süresi 40-70 saniye olarak bulunmuştur. Buna ek olarak sensör $9{,}6 \times 10^{-10}$ M (0,3 ppb) gibi çok düşük tespit sınırına sahiptir. Tespit ve tayin sınırı sırasıyla 3.84×10^{-10} M - $9{,}6 \times 10^{-10}$ M (0,12-0,3ppb) olarak bulunmuştur. Hazırlanan bu sensörün AFB_1 analizinde TÜBİTAK' tan alınan yer fıstığı ve soslu yer fıstığı ile akredite olan laboratuardan alınan fındık numunelerinin sonuçlarıyla uyumlu olduğu görülmüştür.

Ocak, 2017 **Sümeyra KALYONCU**

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF PHOTOPOLYMERIZED FLUORESCENCE SENSOR FOR AFLATOXİN B_1

Aflatoxins, probably the most studied and widely known mycotoxins, were preliminary noted in the early 1960's. Aflatoxins, which have highly toxic composition for human and animals, are produced by *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus and Aspergillus nomius*. In food and feed products such as peanuts, corn and cottonseed include generally aflatoxin B_1 type, so AFB_1 is the most widespread type of aflatoxins. Several analytical methods are currently used for AFB_1 determination such as enzyme-linked ımmunosorbent assay, high-performance liquid chromatography, gas chromatography, fluorimetry and immunoassay methods. Among these methods, spectrofluorimetry can be considered as a valuable method because of its simplicity, sensitivity, relative selectivity, low cost, and less time consuming. In this research, Ac-β-Cd use in photopolymerization method, and then a selective and reusable fluorescent sensor is found for AFB_1 by this method. The characterization of sensor is made by ATR-FTIR and SEM equipment. Also, parameters such as response time, methanol, linear range, and limit of detection are regularly examined. The polymeric fluorescent sensor can be used 40 times which is investigated. The excitation/emission maxima of the membrane were at 376/ 423 nm, respectively. The approximate response time was measured as 40-70 second. Furthermore, detection limit of sensor was $9{,}6x10^{-10}$ M (0,3 ppb), and this limit was a very low limit detection. Detection limit and quantification limit are found $3.84x10^{-10}$ M - $9{,}6x10^{-10}$ M (0,12-0,3ppb), respectively. This sensor was seen as appropriate results of peanut and sauce peanut samples which are receiving from TUBITAK and result of hazelnut samples which are receiving from accredited laboratory for analysis of AFB_1.

January, 2017 **Sümeyra KALYONCU**

SEMBOLLER

A :Absorbans

I :Işık Şiddeti

pH :Çözeltinin asitlik veya bazlık mertebesini tanımlayan birim

λ :Dalgaboyu (cm^{-1})

C :Konsantrasyon

F :Fluoresans Şiddeti

°C :Santigrat

KISALTMALAR

AFB_1 **:Aflatoksin B_1**

ATR-FTIR **:Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometre**

DMF **:N,N – dimetil klorid**

AC **:Akriloil klorür**

em. **:Emisyon**

HEMA **:2-Hidroksietil Metakrilat**

HDDA **:Hekzandioldiakrilat**

LOD **:Tespit Limiti**

LOQ **:Ölçüm Limiti**

L **:Litre**

mmol **:Milimol**

nm **:Nanometre**

PMT **:Fotoçoğaltıcı Tüp**

ppm **:Milyonda Bir Kısım**

PBS **:Fosfat Tamponu**

SEM **:Taramalı Elektron Mikroskobu**

TEA **:Trietilamin**

UV **:Ultraviyole**

uy. **:Uyarma**

λmaks. **:Maksimum Dalga Boyu**

λmin **:Minimum Dalga Boyu**

ŞEKİL LİSTESİ

		SAYFA
Şekil 2.1.	Aflatoksinlerin kimyasal yapıları	4
Şekil 2.2.	UV ışığı altında incirde aflatoksin görüntülenmesi	11
Şekil 2.3.	β-Siklodekstrin'in AFB_1 ile oluşturduğu kompleks yapı	24
Şekil 4.1.	Polimerik fluoresans sensörün FTIR spektrumu	30
Şekil 4.2.	AFB_1 için hazırlanan polimerik fluoresans sensörün SEM görüntüsü	31
Şekil 4.3.	Polimerik fluoresans sensörün uyarma ($\lambda_{uy.}$ = 376 nm) ve fluoresans spektrumarı ($\lambda_{em.}$ = 423 nm) AFB_1 yokluğunda düz çizgi, 1 ppb AFB_1 varlığında kesikli çizgi.	32
Şekil 4.4.	Polimerik fluoresans sensörün fluoresans şiddeti üzerine etkisi	33
Şekil 4.5.	30 dk boyunca AFB_1 polimerik fluoresans sensörünün zamana bağlı fluoresans şiddetindeki değişimi (1 ppb AFB_1 varlığında)	34
Şekil 4.6.	AFB_1 analizi için oluşturulan polimerik fluoresans sensörün kalibrasyon eğrisi (λ ex/em =376 nm/ 423 nm); ($I - I_0$, I_0 ve I sırasıyla çözeltiye AFB_1 ilave edilmeden önceki ve ilave edildikten sonraki fluoresans şiddetlerini göstermektedir.)	35

TABLO LİSTESİ

		SAYFA
Tablo 2.1.	Türkiye'nin meyve ve sert kabuklu ihracatındaki fındık, incir ve antepfıstığı oranları	6
Tablo 2.2.	Türkiye'den Avrupa Birliği' ne üye olan bazı ülkelere ihraç edilen fındık miktarı	8
Tablo 2.3.	Türkiye'den Avrupa Birliği' ne üye olan bazı ülkelere ihraç edilen antepfıstığı miktarı	10
Tablo 2.4.	Türkiye'den Avrupa Birliği' ne üye olan bazı ülkelere ihraç edilen kuru incir miktarı	13
Tablo 2.5.	Aflatoksin sınır değerleri	19
Tablo 3.1.	Aflatoksin analizinde kullanılan farklı metotların karşılaştırılması	29
Tablo 4.1.	Girişim yapabilecek farklı aflatoksin türevlerinin kabul edilebilir üst limitleri (1ppb AFB_1 konsantrasyonu varlığında)	36
Tablo 4.2.	Gerçek numunelerdeki AFB_1 analizi sonuçları	37

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Tarımsal ürünler bütün ülkelerde insanların beslenmesinde kuşkusuz en mühim gıda kaynağıdır. Bu nedenle de tarımsal üretiminin arttırılması ve kalitenin yükseltilmesi için yoğun çalışmalar yapılmaktadır.

Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) bilgilerine göre dünyada üretimi yapılan tarımsal ürünlerin ortalama %5 'i tüketimden önce küf sebebiyle kayba uğramaktadır. Küresel açlığın olduğu dünyamızda bu orandaki kayıplar son derece önemlidir [1].

Tarım ürünlerinin üretim ve tüketim sürecinde uğradıkları kayıpların en önemli nedenlerinden birisi mikroorganizmalardır. Mikroorganizmalar içinde küf mantarları doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Hemen her çeşit gıda ve yemde gelişerek bir yandan ürünün kalitesinin değiştirerek bozulmasına neden olurken, diğer yandan sağlık için zararlı toksik bileşikler üretirler.

Küflerin metabolizma etkinlikleri neticesinde vuku bulan az orandaki organik yapılı toksik maddelere mikotoksin denir. Mikotoksin tarfından kirlenmiş gıdaların doğrudan veya dolaylı yoldan kullanımı sonucu canlı metabolizmada ortaya çıkan rahatsızlığa mikotoksikozis denir [2,3].

1962'den günümüze kadar ortaya çıkarılan çalışmalarda kanserojen etkinliği en şiddetli mikotoksin türevinin aflatoksin olduğu ispat edilmiştir. Tarımsal ürünlerde gelişen küfler farklı türde mikotoksin oluşumuna neden olurlar bunlardan en önemli olanı, insan ve hayvan sağlığına en zararlı olan aflatoksinlerdir [4,5].

Aflatoksinler insan ve hayvanlarda çeşitli sağlık sorununa sebep olmasıyla birlikte birçok ülkede ekonomik kayba neden olmaktadır. Aflatoksin bulaşmış tarımsal ürünler ihraç edilememekte ve denetimin yetersiz olduğu ülkelerde tüketime sunularak insan ve hayvan sağlığına ciddi zararlar vermektedir.

BÖLÜM 2. AFLATOKSİNLER

2.1. Mikotoksinler

Mikotoksin kelimesi yunanca mykes (fungus) ve toxicon (zehir) sözcüklerinden türetilmiş olup mantar zehri anlamına gelmektedir. Mikotoksinler farklı cins mantarlar tarafından üretilen maddelerdir [6].

Gıdalarda en sık bulunabilen mikotoksinlerden bazıları aflatoksinler, okratoksin A, sitrinin, patulin, penisillik asit, zearalenon ve fumonisinler' dir. Mikotoksinler içinde en toksik olduğu bilinen *Aspergillus Flavus ve Aspergillus Parasiticus* türü küfler tarafından üretilen aflatoksinlerdir [7,8].

2.2. Aflatoksinler

Aflatoksinler *Aspergillus Flavus* grubu küf mantarlarının toksik ve yüksek ölçüde kanserojen metabolitleridir. *Aspergillus Flavus* tarafından oluşturulduğu tespit edildiği için *Aspergillus Flavus*'a özgü bir toksin olarak kabul edilmiş, Aspergillus'un (A) harfi, Flavus'un da (fla) harfleri alınarak Afla kelimesi elde edilmiş ve toksin kelimesi ilave edilerek aflatoksin kelimesi türetilmiştir. Literatüre konu olmuş birçok aflatoksin çeşidi olmasına rağmen bunlardan en toksik etkiye sahip ve doğada en çok karşılaştığımız çeşitleri AFB_1, AFB_2, AFG_1, AFG_2 ve AFM_1' dir [9,10].

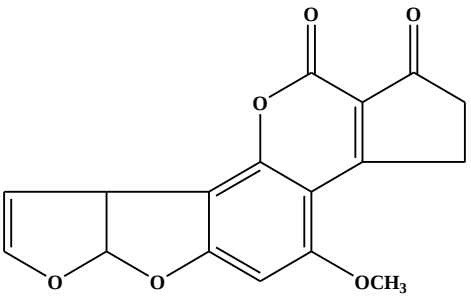
Gıdalarda en çok karşımıza çıkan AFB_1 genellikle yüksek konsantrasyonlarda görülür. Bu durumun aksine diğer aflatoksin çeşitlerine düşük konsantrasyonlarda rastlanılmaktadır. Toksik tesiri en yüksek aflatoksin çeşitleri ise sırasıyla şöyledir; $AFB_1 > AFM_1 > AFG_1 > AFB_2 > AFM_2 = AFG_2$. En önemli aflatoksinlerden B_1 ortamda çoğunlukla yüksek konsantrasyonda bulunmakta olup B_2, G_1, G_2 düşük konsantrasyonlardadır [11].

2.2.1. Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal yapıları

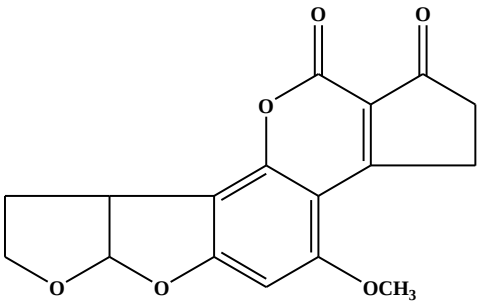
Aflatoksinler suda çözünmediklerinden, kloroform, metanol, asetonitril, aseton, diklorometan gibi polar organik solventlerle ekstrakte edilebilirler. Aflatoksinler 250°C' nin üzerindeki sıcaklıklarda bozulurlar. Aflatoksinin aktivasyonu ürünün nem içeriği ile de doğrudan ilişkilidir [12].

Aflatoksinler bazı kimyasal işlemlerle inaktive edilebilmeltedir. Buna örnek olarak basınçlı ısı altında amonyak (NH_4OH) ile muamele aflatoksinin yapısını bozduğu bilinmektedir. Bu uygulama ile aflatoksin molekülündeki lakton halkası açılarak molekül inaktivasyona uğrar. Buna ek olarak monometilenamin, sodyum hidroksit, hidrojen peroksit ve sodyum hipoklorit gibi bileşiklerde çeşitli uygulamalarla aflatoksin bileşiğinin yapısını değiştirir [13].

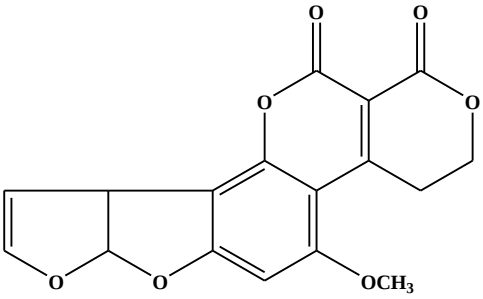
AFB_1, AFB_2, AFG_1, AFG_2 ve AFM_1 doğal floresan verirler. Aflatoksinler UV ışığı altında farklı fluoresans özellikleri gösterirler. UV ışığı altında mavi fluoresan veren aflatoksinler AFB_1 ve AFB_2 (λex =365 nm, λem = 440 nm), yeşil fluoresan veren aflatoksinler AFG_1 ve AFG_2 (λex =365 nm, λem = 460 nm)'dir. Burada bahsedilen aflatoksinlerin kimyasal yapıları Şekil 2.1.'de verilmiştir [14,15].



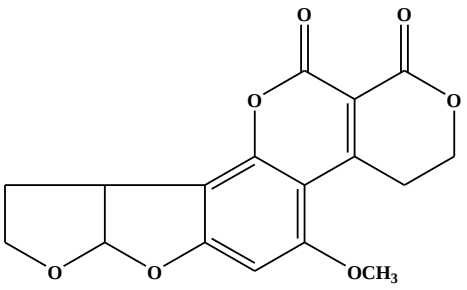
Aflatoksin B_1



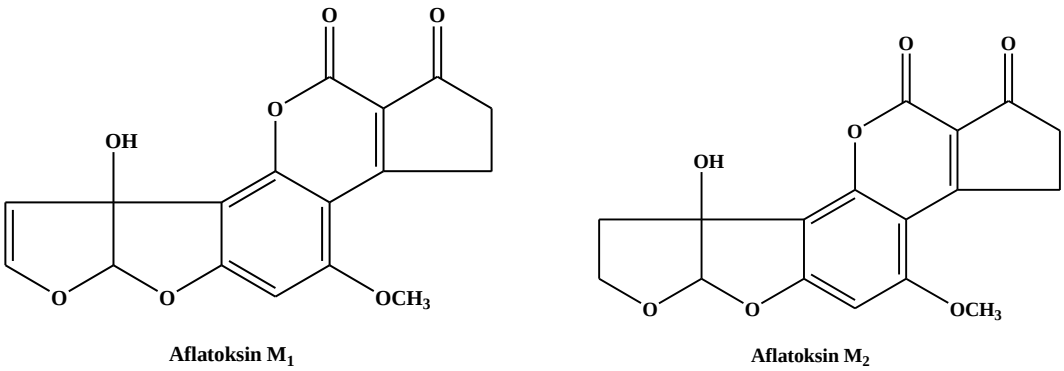
Aflatoksin B_2



Aflatoksin G_1



Aflatoksin G_2



Şekil 2.1. Aflatoksinlerin kimyasal yapıları

Aspergillus Flavus tarafından yalnız AFB_1 ve AFB_2 üretilmesine karşın, *Aspergillus Parasiticus* tarafından AFG_1 ve AFG_2 bileşikleri üretilmektedir. Aflatoksinler süt veren hayvanların bünyesinde değişikliğe uğrayarak AFB_1, AFB_2, AFG_1 ve AFG_2' ye göre daha düşük Rf değerine sahip süt toksini denilen AFM_1 ve AFM_2'ye dönüşmektedir. Bu durum et, yumurta gibi hayvansal ürünler için de geçerli olmaktadır. Böylece bu hayvansal ürünler küf mantarı ihtiva etmediği halde dolaylı yoldan mikotoksin ihtiva etmiş olur [15].

2.2.2. Aflatoksin oluşumuna etki eden faktörler

2.2.2.1. Mantarın cinsi

Bütün küf cinsleri toksin üretmeyebilir. Küfün oluşumu ve artışı görülen besinlerin hepsinde aflatoksin görülmeyebilir. Bu durumda dikkat edilmesi gereken nokta besinde oluşan ve toksik olduğu düşünülen mantar cinsinin *Aspergillus Flavus veya Aspergillus Paratisicus*'a ait olmasıdır.

2.2.2.2. Ortamın Nemi ve Sıcaklığı

Aflatoksin oluşturan küf mantarlarının gıda maddelerinde gelişmesi için gıda maddesindeki nem miktarı olabildiğince minimum düzeyde olmalıdır. Aspergillus cinsi küf mantarlarının %13-18 gibi çok az nem düzeyine sahip gıda maddelerinde bile gelişime uygun reaksiyon gösterdiği araştırmacılar tarafından kabul edilmiştir [16].

Küf mantarlarının gelişebildiği en uygun sıcaklık 20-30 ^{o}C arasındadır olup küf oluşumunun durduğu sıcaklık ise 10 ^{o}C' nin altında olduğu saptanmıştır. Fakatküfün en iyi gelişebildiği sıcaklığın küf cinsine göre değişiklik gösterdiği de göz önünde bulundurulması gereken bir gerçektir. Örneğin; bizim çalışmamızda incelediğimiz AFB_1 *Aspergillus Flavus* türü bir küf olup bu cins küfün en iyi olgunlaşma ortamı bulduğu aralık 7^{o} C-32^{o} C 'dir [16].

2.2.2.3. Oksijen Etkisi

Mantarlar aerobik mikroorganizmalar olduğu için ortamdaki oksijen seviyesinin %1 seviyelerine düşmesiyle *Aspergillus Flavus* türü küf mantarının aflatoksin üretimini önemli ölçüde azaltmaktadır [16].

2.2.2.4. pH Etkisi

Küf mantarlarının gelişimleri nötr veya nötre yakın pH derecelerinde yani 6,5-8,5 gibi bir pH aralığında olgunlaşmaları en muhtemel seviyedir. Yapılan bir çalışmada aflatoksinlerin çalışma aralığının pH 3-10 arasında daha uygun olduğu görülmüştür [17].

2.2.3. Aflatoksin İhtiva Eden Tarımsal Ürünler

Aflatoksinlerin en çok bulunduğu besinlerin başında mısır, süt, peynir, fıstık, fındık, yer fıstığı, badem, incir, pamuk tohumu, kuru meyveler, baharatlar ve tahıllar gelmektedir. Bunu yanısıra birçok tarımsal üründe mikotoksinler uygun ortam ve koşullarda gelişim göstermektedir.

Süt veren hayvanların aflatoksin ile kirlenmiş yemler ile beslenmesi neticesinde hayvanların ürünlerinde de aflatoksin sorunuyla karşı karşıya kalınmaktadır [18,19].

Aflatoksinin olumsuz olarak etkilediği, ülkemiz açısından önemli olan bazı tarımsal ürünler ise fındık, antep fıstığı ve kuru incirdir. Bu ürünlerin ülkemiz açısından önemli olmasının nedeni ise Türkiye'nin bu ürünlerde dünyada ve özelikle Avrupa Birliği ülkelerinde ciddi rakamlarda ihracatlarının olmasıdır.

Tablo 2.1. Türkiye'nin meyve ve sert kabuklu ihracatındaki fındık, incir ve antep fıstığı oranları [18].

YIL		İHRACATTAN ALDIĞI ORANLAR %		
	MEYVE VE SERT KABUKLULAR (Değerler Milyon Dolar)	FINDIK	İNCİR	ANTEP FISTIĞI
2005	2501	48,3	4,2	0,3
2006	2388	38,1	5,1	0,4
2007	2671	34,1	5,6	0,5
2008	2855	27,4	5,7	0,9
2009	3002	23,7	5,0	0,8
2010	3491	25,7	4,5	0,4
2011	3909	26,7	3,9	0,6
2012	3806	27,8	4,4	0,8
2013	3969	25,9	5,2	1,2
2014	4327	31,0	5,5	0,5

Yukarıdaki tabloda da görüldüğü üzere Türkiye'nin son yıllarda gerçekleşen toplam meyve ve sert kabuklu ihracatında %30'dan fazlasını fındık ihracatı oluşturmaktadır. İhracatta gerçekleşen yıllara göre düşüşün sebebi ise kalitesiz ürünün ihracatta sorunlar yaratmasıdır.

Ülkemizin tarım sektöründe önemli bir yere sahip olduğu ihracat değerlerinden de anlaşılmaktadır. Fakat özellikle tabloda belirtilen ürünlerin üretim ve ihracat aşamasında sık sık sorun yaşanmaktadır. Yaşanılan sorunların nedeni ise uluslararası piyasanın istediği kaliteye uygun olmayan ürünlerdir. Kaliteyi bozan bulaşan sorunu ülkemiz açısından ciddi ekonomik kayıplara sebep olmaktadır.

Dünyada tüketimi çok olan bazı ürünlerin aflatoksin bulaşma durumu ve önlenmesi için yapılması gerekenler aşağıda ayrı başlıklarda incelenmiştir.

2.2.3.1. Kabuklu fındıklarda aflatoksin

Fındıkta küf gelişimi daha çok hasat, kurutma, depolama ve işleme aşamalarının olması gereken usulde yapılmadığı için meydana geldiği gözlemlenmektedir. Bu küflerin ürettiği aflatoksinler ise fındıkta kalitenin düşmesine, ciddi ekonomik kayıplara ve insan sağlığına tehdit olmaktadır.

Uygun olmayan şartlar altında gerçekleştirilen hasat, kurutma, depolama ve işleme sonucu fındık ürününde küfün geliştiği gözlemlenmektedir. Küflerin ürettikleri aflatoksinler, fındıkta kalite düşüklüğüne ve ekonomik zaiyata sebep olmakla kalmayıp insan sağlığına ciddi tehdit unsuru olmaktadır.

Fındıkta aflatoksin oluşumu, ürünün olması gerekenden daha önce hasadının yapılması, nemli ortamda çuvallarda bırakılması ve kurutma işleminin toprakta yapılmaya çalışılması gibi hallerde artım göstermektedir. Özellikle yağışlı dönemlerde yapılan hasadın kurutma işlemi zor ve uzun sürede olduğundan kabul edilebilir limitin üstünde aflatoksin oluştuğu saptanmıştır.

Sert kabuklu meyvelerde kontaminasyon riski kabuksuz ürünlere göre daha az olmasına rağmen fındıkta küf bulaşması ile aflatoksin oluşumu gözlenmektedir. Aflatoksin oluşturan küfler, hasattan sonra aflatoksin oluşumu için uygun sıcaklık ve nem varlığında gelişerek aflatoksin oluşturmaktadır.

Fındıkta *Aspergillus Flavus* bulaşması ve aflatoksin oluşumu gözlendiğinde, Aflatoksinin kabuğu hasar görmemiş fındıklarda iç kısıma giremediği, kontaminasyonun fındığın toprak ile teması sonucu olduğu ve daha çok da ürünün kurutma sırasında meydana geldiği gözlenmiştir. Bu nedenle fındıkta Aflatoksinlerin mevcudiyetinin hasadın koşullarına bağlı olduğu tespit edilmiştir. Ancak, hasat sonrası aşamalar aflatoksin oluşumunda çok ciddi evrelerdir. Bu sebeple, kurutma işlemini olabildiğince çabuk ve elverişli şartlar altında yapmak ehemmiyet taşımaktadır [20].

Türkiye'de fındıkta karşılaşılan aflatoksin problemi ilk defa 1967' de Kanada'ya ihraç edilen 10 ton kabuksuz fındıkta aflatoksin tespiti ile bu ürünlerin geri çevrilmesi neticesinde ortaya çıkmıştır. Türkiye fındık açısından çok büyük ve önemli bir pazara sahiptir. Türkiye'den birçok Avrupa Birliği üyesi ülkeye fındık ihracatı gerçekleşmektedir.

Tablo 2.2. Türkiye'den Avrupa Birliği' ne üye olan bazı ülkelere ihraç edilen fındık miktarı (bin ton) [18].

ÜLKELER	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
İTALYA	47,8	46,9	44,9	37,8	39,3	44,9	48,6	54,4
ALMANYA	22,2	21,5	20,2	18,5	19,7	15,8	19,4	16,5
FRANSA	16,8	9,5	11,2	23,8	24,0	24,7	22,1	15,2
POLONYA	6,6	3,4	4,8	5,6	5,5	8,7	6,7	6,0
BELÇİKA	4,2	5,4	4,9	5,7	4,1	4,3	3,6	3,4
HOLLANDA	3,4	2,6	2,5	2,6	2,8	3,3	3,0	2,4

Avrupa Birliği'nin düşük aflatoksin limitleri ülkemizin tarım ürünleri ihracatında önemli bir yeri olan fındık için sık sık sorun yaşamamıza neden olmaktadır [21].

2.2.3.2. Yer fıstıklarında aflatoksin

Yer fıstıklarında oluşan toksin miktarı birçok sebepe bağlıdır bunlar; çevresel koşullar, küfün türü, meyve sağlamlığı, ürünün üretim, kurutma ve depolama koşullarıdır. Yer fıstıklarında aflatoksin oluşumu çok yaygın olmakla birlikte önemli bir konudur. Bunun nedeni yer fıstığının doğrudan kullanımı dışında birçok ürüne de destekleyici ürün olarak kullanılmasıdır. Yer fıstıklarında toksini *Aspergillus Flavus* türü meydana getirmektedir. Yer fıstığını tüketime sunmadan önce dikkat edilmesi gereken hususlardan biri yerfıstığının nem miktarının %12' yi geçmemesidir. Bilindiği gibi aflatoksin gelişmesine en uygun ortamlar nemli ortamlar olduğu için bu tip yağlı ürünlerde nem miktarı çok önemlidir. Ürünün yabancı maddelerden arındırılmış olması, ısı uygulaması ile dış yüzeyindeki kırmızı derinin iyice ayrılarak tüketiciye sunulması önerilir.

2.2.3.3. Antep fıstıklarında aflatoksin

Ülkemizde birçok ilde antep fıstığı yetiştirilmektedir. Bu illerin başında adını da aldığı Gaziantep, Şanlıurfa, Adıyaman, Siirt ve Kahramanmaraş gelmektedir. Dünyada

üretilen antepfıstığının %60-70' i kuruyemiş olarak tüketilirken geri kalan oranı ise pasta, tatlı, baklava gibi ürünlerin içinde dolaylı yoldan tüketilmektedir [22].

Antep fıstığının olgunlaşma döneminde dış kabuk saydam olmaktan çıkarak matlaştıktan sonra kırmızı kabuk yumuşayarak sert kabuktan kolayca ayrılacak bir hal almaktadır. Hasat edilen meyveler ayıklandıktan sonra güneşte kurumaya bırakılmaktadır. Hasadı en son yapılan antep fıstıklarının rutubet oranı %78'lerde iken fıstığın kabuğunda bu oran %24, iç meyvede ise %37'dir. Kurumaya bırakılan Antep fıstığında 3-4 gün sonra nem oranı % 3-5'e kadar düşmektedir. Antep fıstıklarının hasadı yapıldıktan sonra kurutmak, çıtlatmak ve kavurmak gibi çeşitli basamaklardan geçmektedir.

Antep fıstığı ağaçtayken, dışındaki yaş kabuk dediğimiz bölge böceklerden zarar görerek *Aspergillus Flavus* sporlarının ürün üzerinde üreyerek aflatoksin üretmesine neden olmaktadır. Antep fıstığında da fındık ve kuru incirde olduğu gibi en fazla görülen mikotoksin aflatoksindir [22].

Antep fıstıklarında aflatoksin oranı fıstığın iç kısmında kabuk kısmına oranla oldukça yüksektir. Toksinin oluşumu, gerekli olan kurutmayı gerçekleştirmeden uygun olmayan şartlarda yapılan depolama aşamasında gerçekleştiği kabul edilmektedir.

Türkiye'den AB'ye en çok ihraç edilen ürünlerden biri olması sebebiyle Antep fıstığının uluslararası ticarette önemli bir yeri vardır.

Tablo 2.3. Türkiye'den Avrupa Birliği'ne üye olan bazı ülkelere ihraç edilen antep fıstığı miktarları (Bin Ton) [18].

ÜLKELER	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
İTALYA	597	510	342	252	549	638	1.162	429
ALMANYA	113	157	126	91	96	154	279	188
BELÇİKA	10	285	180	55	87	22	68	23
HOLLANDA	11	13	32	14	12	13	24	4
FRANSA	9	22	3	5	21	4	30	0
ROMANYA	0	0	0	0	0	0	157	0
YUNANİSTAN	8	88	183	0	0	0	15	0
İSPANYA	0	10	5	0	4	0	57	0
İNGİLTERE	17	13	8	4	11	6	1	0

Yukardaki tabloda antep fıstığı ihracatı yaptığımız en önemli AB üyesi ülkeler verilmiştir. Tabloya göre, yıllar içerisinde ihracatın büyük çoğunluğu İtalya'ya yapılmıştır. Almanya ve Belçika'da Antep fıstığı ihracatı gerçekleştirdiğimiz diğer önemli iki ülkedir.

Türkiye'de Antep fıstıklarında aflatoksin sorunu ilk defa 1971 yılında Amerika'ya yapılan ihracatta ortaya çıkmıştır. ABD 1970'lerde ülkemizden aldığı antep fıstıklarının kabul edilen limitinin çok üstünde aflatoksinin tespiti ile başlatılan düzenli analizler sayesinde aflatoksin sorunu azalarak da olsa devam etmektedir.

2.2.3.4. Buğday, un ve ekmekte aflatoksin

Mikotoksinerle alakalı makalelerde, tahıllarda mikotoksinin gelişimine olabildiğince müsait ortamların var olduğu aktarılmıştır. Karbonhidratı bol besinlerden olan buğday ve un depolanarak saklandığı için AFB_1 ve çeşitli aflatoksin türevlerinin gelişimine uygun maddelerdir.

Hatta sadece aflatoksin çeşitleri değil farklı bir mikotoksin olan okratoksinler de buğday gibi tahıl ürünlerinde sıkça rastlanan ve çalışmalara konu olan bir toksin çeşididir. Yine buğday ve una bulaşan aflatoksinde hasat ve depolama sırasında meydana gelmektedir.

Depolama sırasında dikkat edilmeyen sıcaklık ve nem oranları aflatoksin oluşumunu tetiklemektedir.

2.2.3.5. Mısırda aflatoksin

Tahıl çeşitleri arasından mikotoksinin oluşumu ve gelişimi açısından en müsait ortama mısır sahiptir. Bu durumun nedeni mısırın tahıl grubu arasında en yağlı çeşitlerinden olması ve mısırın çoğu canlının besin kaynağının içinde bir şekilde yer almasıdır. Mısır hayvanlara en çok verilen tahılların başında gelmektedir. Bu sebeple mikotoksin bulaşmış ürünlerin direkt tüketimi yada mikotoksinli ürün ile beslenmiş hayvandan elde edilen süt, peynir, yumurtaların tüketilmesi ile dolaylı yoldan birçok canlı ve insan sağlığı için tehlike oluşturmaktadır.

2.2.3.6. İncirde aflatoksin

İncir ülkemizde daha çok akdeniz ve ege kıyılarında üretilen besleyici ve sağlıklı bir meyvedir. Kuru incirin birçok kullanım alanı olmakla birlikte direkt olarak da tüketilebilmektedir.

Kurutulan incirlerde aflatoksinle kontamine olmuş olanların belirlenmesi için UV ışıklı odalarda ayıklama işlemi yapılmaktadır [23].



Şekil 2.2. UV ışığı altında incirde aflatoksin görüntülenmesi

Şekilde görüldüğü üzere, UV ışık altında incirin parlak yeşil floresan vermesi üründe aflatoksin varlığına işaret etmektedir. Bu parlak renkli floresansa, incirde bulunan başka bir madde olan kojik asit neden olmaktadır. UV ışıklarının kullanıldığı bu metot, endüstride incir partilerinden aflatoksin ile kontamine olmuş incirleri ayıklamak için etkili ve pratik bir yöntem olarak görülmektedir. Fakat meyve içindeki aflatoksin oluşumunu bu metot belirleyememektedir.

UV altında renk vermeyen ürünler içinden fiziksel ayıklamadan geçen incirler yıkama bölümünde üzerindeki toz ve topraktan arındırılarak kurutma tüneline gönderilir. Kurutma tünelinde ürünün nem oranı %18-20 düzeyine düşürülerek paketleme bölümünde paketlenerek depolanır.

İncir içerdiği yüksek karbonhidrat nedeni ile aflatoksin oluşumu için oldukça uygun bir yapıya sahiptir. Ayrıca aflatoksin oluşumunu etkileyen diğer faktör ise meyvede bulunan meyve suyudur bu durum *Aspergillus Flavus* meyvenin içine nüfuz edebilmesini kolaylaştırmaktadır [23].

Kuru incir mikotoksin oluşumu açısında riskli gıdalar arasında bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda kuru incirde en çok tespit edilen Mikotoksinler aflatoksin ve okratoksin A'dır. Kuru incirde diğer meyvelere oranla yüksek miktarda AFB_1 içerme riski vardır.

Türkiye'de kuru incirde ilk aflatoksin sorunu, 1972 yılında Danimarka'ya yapılan ihracatta oldukça yüksek oranda saptanan aflatoksin ile ortaya çıkmıştır. Yine 1972 yılında ABD'ye ihraç edilen incirlerden büyük çoğunluğu aflatoksin ile kontamine olması sebebiyle geri çevrilmiştir [24].

Türkiye'nin, ihracatında lider konumda olduğu kuru incirin AB üyesi ülkelere de önemli ölçüde ihracatı gerçekleşmektedir. Ancak, tıpkı fındıkta olduğu gibi, gönderilen birçok parti, aflatoksin sorunu nedeniyle geri gönderilmekte ve önemli miktarda ekonomik kayıplar yaşanmaktadır.

Tablo 2.4. Türkiye'den Avrupa Birliği' ne üye olan bazı ülkelere ihraç edilen kuru incir miktarları (Bin Ton) [18].

ÜLKELER	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
FRANSA	6,5	6,5	6,7	7,6	6,7	7,6	8,5	8,1
ALMANYA	7,1	6,0	6,6	7,1	6,9	6,6	7,1	6,8
İTALYA	3,0	2,7	3,5	3,8	3,7	3,2	3,3	2,8
İSPANYA	1,2	1,0	1,2	1,2	1,1	1,2	2,0	1,9
İNGİLTERE	1,9	1,1	0,8	0,7	0,6	0,7	1,5	1,6
HOLLANDA	1,5	1,0	1,4	1,7	2,0	2,5	2,1	1,5

2.2.3.7. Süt ürünlerinde aflatoksin

Süt ve süt ürünleri insanların beslenmesi ve gelişiminde önemli bir besin kaynağıdır. Özellikle gelişme çağındaki çocukların kemik ve kas gelişimi için temel besin kaynaklarından biridir.

Süt aflatoksin içerme bakımından riskli ürünler arasındadır. Sütte bulunan aflatoksin çeşidi AFM_1'dir. Fakat sütte AFM_1 dışında farklı aflatoksin çeşitlerinden AFB_1, AFB_2, AFM_2' nin de bulunma durumu olasıdır. Bir çalışmada Yunanistan'ın genelinde toplanan 99 adet süt örneğinin 4' ünde AFM_1' e rastlanılmıştır. Fakat pastörize olmuş sütlerin analizinde hiçbir aflatoksin çeşidiyle karşılaşılmamıştır. Blanco ve arkadaşlarının bir çalışmasında ise İspanya' nın genelinden toplanan paketlenmiş 47 uzun ömürlü süt örneğinin 14 adetinde AFM_1 türü tespit edilmiştir [25].

2.2.4. Aflatoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri

Yapılan araştırmalarda, 300'den fazla mikotoksin türü izole edilmiş ve kimyasal olarak karakterize edilmiştir. Bu mikotoksinlerin 100'den fazlasının toksijenik olduğu tespit edilmiştir. Kansorejenik etkisi olan mikotoksinlerin çoğu etkisini deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına yol açarak gösterirler.

Mikotoksinlerin neden olduğu akut ve kronik zehirlenmelerle meydana gelen hastalıklara mikotoksikozis denir. Bilinen ilk mikotoksikozis vakası, Claviceps

purpurea adlı mikotoksinle kontamine olmuş tahılın tüketilmesiyle meydana gelen ve bazı organlarda çesitli nekrozlara ve kangrene sebep olan 'ergotizm' zehirlenmesidir.

Bu rahatsızlık ortaçağ Avrupası'nda uzun yıllar 'holy fire' yani 'kutsal ateş' adıyla anılmıştır. Bu fungus; buğday, arpa, çavdar, yulaf ve yabani otlar üzerinde gelişerek toksik karakterli alkaloidler üretmektedir. Kol ve bacaklarda kangrene, korkunç ağrılara, kasılmalara, üşüme ve halüsinasyonlara neden olan rahatsızlık hamilelik döneminde olan kadınlarda çocuk düşürmeye kadar giden ciddi sonuçlar ortaya çıkarmaktadır [26].

Mikotoksikozisin genel özellikleri ise şöyledir; mikotoksikozis bulaşan bir rahatsızlık olmamakla beraber bu rahatsızlığa ilaç tedavisi fayda vermemektedir. Mikotoksikozis rahatsızlığının sık görülmesi mevsimsel bir durumdur. Birçok kişide aynı anda görülmesi Aflatoksinin bulaşmış olduğu gıda maddesiyle yahut yem ile alakalı olabilir. Mikotoksikozisin mertebesi ise bulunan canlının yaşı, cinsi ve diyet faktörüne bağlıdır [27].

Mikotoksinler canlıların organizmasına sindirim sisteminden girerek etkisini gösterirler. Toksinler sindirim kanalına ulaşınca bağırsaktan emilerek kana geçer ve bu yolla bütün doku ve organlara yayılırlar. Genellikle karaciğer ve kaslarda dağılım gösterirler.

Gıdaları küflenmesiyle oluşan mikotoksin türevlerinin insanda iyileşmesi imkansız hastalıklar yapabileceği görüşü epidemiyolojik bulgulara göre kesinlik kazanmıştır ve bu konuda yapılan çalışmalar hızlanmıştır. Bu alanda kullanılabilen en büyük bilgi aflatoksinler ile ilgilidir [28,29].

Aflatoksinlerde, insan ve hayvanlarda oldukça zehirli etkiye sahiptirler. Aflatoksinlerin insan ve hayvanlarda meydana getirdiği zehirlenme olayına 'aflatoksikozis' denir. Bilinen en güçlü karaciğer kanserojeni olan aflatoksinler insan ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara ve hasara sebep olmaktadır. Sebep olduğu hastalıklar ve verdiği zararlar ise şöyledir; karaciğer, kolon ve böbreklerde kanserojenik etki, protein sentezinin inhibisyonu ile canlılarda sakat veya ölü doğumlar, karaciğerde yağlanma, soluk renk, nekroz, kanamalar, sarılık ve siroz etkileri yanında böbreklerde zayıflama, genel durum bozukluğu ve hayvanlarda ciddi verim düşüklüğü gibi sıralanabilir [30].

Bulaşık yem ve besinlerle alınan aflatoksinler, sindirim kanalında emilerek karaciğer ve yumuşak dokulara dağılırlar. Çok az bir kısmı idrar, dışkı ve sütle atılır Kısmen

makromoleküllere bağlanırlar ve önemli bir bölümü de suda çözünen metabolitlere çevrilirler. Bir defada alınan aflatoksinin %85-90'i ilk 5-24 saatte diski, idrar ve sütle dışarı atılır. AFB_1 özgün bileşik olarak etkisizken karaciğerde mikrozomal enzim sistemi ile epoksit türevlerine çevrilerek toksik etki kazanmaktadır. Bunun sonucunda Deoksiribonükleik asit (DNA) ve Ribonükleik asit (RNA) polimeraz enzimleri hızla inhibe olurlar. Özellikle RNA sentezindeki değişiklikler sonucunda protein sentezi ciddi bir şekilde bozulur [31].

Aflatoksinler akut toksik, bağışıklılığı baskılayıcı, mutajen, teratojen ve karsinojen etkili bileşiklerdir. Akut nekroz ve siroz'a neden olurlar. Toksik ve karsinojen etkilerini gösterdikleri başlıca hedef organ karaciğerdir. Hepatokarsinoma da hepatit B virüs enfeksiyonu gibi aflatoksinler de önemli bir risk oluşturmaktadır. Aflatoksinle alakalı laboratuvar sonuçları 1987 yılında Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından değerlendirilmiştir. İnsanda doğal oluşan aflatoksinin karsinojenite'siyle (AFM_1 dışında) ilgili yeterince donenin varlığı esas alınarak Grup 1 başlığı altında sınıflandırılmıştır. Aflatoksinlerin özellikle AFB_1'in en potansiyel kimyasal kansorejen olduğu kabul görmüştür [32]. Aflatoksinlerle zehirlenme, canlının türü, yaşı, cinsiyeti, alınan toksinin miktarı ve alınan süreye bağlı olarak değişiklik gösterir.

Aflatoksinlerin insan sağlığı üzerindeki etkileri, aniden ortaya çıkan belirtiler ve kalıcı olabilen belirtiler olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Ani rahatsızlıklar, aflatoksin içeren gıdaların tüketilmesinden sonra genellikle zehirlenme belirtileri ile ortaya çıkmakta, fakat bu vakaların çok sık görülmediği açıklanmakta fakat literatür taraması yapıldığında literatüre geçmiş ölüm vakalarının da bulunduğu belirtilmektedir.

Bunun yanında ABD'de kalın bağırsak ve karaciğer kanseri olan bir erkek hastanın karaciğerinden 0,52 μg/kg düzeyinde AFB_1 izole edildiği bildirilmektedir. Fransa'da ise, ölen kişilerden elde edilen 50 karaciğer örneğinin 3 adedinde, AFB_1 izole edildiğini bildiren raporlar da söz konusudur.

Aflatoksinlerin insan sağlığı üzerinde meydana getirdiği kalıcı zararlar ile ilgili araştırmalarda ise özellikle ılıman bölgelerde yaşayan insanlarda bu tip rahatsızlıkların görüldüğü saptanmış ve araştırmacılar söz konusu kalıcı zararları sınıflandırmışlardır. Bunlar şu başlıklar altında toplanmaktadır: Birincil karaciğer kanserleri, akciğer

kanserleri ve Reye's sendromu denilen, küçük çocuklarda görülen ve karaciğerin aşırı yağlanması olarak ifade edilen bir hastalıktır [33].

Yapılan çalışmalar neticesinde, birçok canlı türünde aflatoksinlerin sebep olduğu kanserojen etkisiyle birçok ülkede aflatoksinle kontamine olmuş gıdaların tüketimi sonucu canlılarda görülen karaciğer kanseri rahatsızlığının artması düşünüldüğünde olabildiğince aflatoksinle kontamine olmuş gıdalardan uzak kalmak gerekliği görülmüştür. Birçok ülkenin gıda ürünlerinde kabul edilebilir limit düzeyleri, aflatoksinin kontrolü açısından önemli olmakla birlikte canlıların bu kabul edilen limitlerin de altında kaliteli ürünlerin tüketimiyle sağlıklarının koruma altına alınması sağlanmalıdır.

Aflatoksinlerin toksisitesini anlamamız için vücuttaki metabolizmalarının ve hayvan türünün savunma mekanizmasının iyi bilinmesi gerekir. Bu mekanizmaların farklılığı aflatoksinlerin izlenmesinde geviş getiren hayvanlarla getirmeyen hayvanlar arasında farklılık gözlenmektedir.

Geviş getirenler mikotoksinlerin etkilerine karşı genellikle daha dayanıklıdırlar. Laboratuvar ortamında yapılan çalışmalarda bakterilerin mikotoksinleri ayrıştırabilme özelliği olduğu gösterilmiştir. Mikotoksinlerin detoksifikasyonu için bu metabolik yol araştırılmaktadır.

Aflatoksinlerin kanserojenik etkisi özellikle tropik ve subtropik ülkelerde insan ve hayvan sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Aflatoksinlerin toksik etkileri canlının türüne, yaşa, cinsiyete ve alınan doza göre değişkenlik göstermektedir. Aflatoksinlerin karsinojenik etkileri deneysel olarak evcil hayvanlarda gözlenmiştir. Bu deneyler sonucunda aflatoksinlerin daha fazla etki gösterdiği organ karaciğerdir. Karaciğerin DNA ve RNA sentezlenmesini etkileyerek tüm metabolizmanın faaliyetini ekilemiş olmaktadır. Diğer bazı organlarda da çeşitli lezyonlara sebep olmaktadır.

Hindistan'da çoğrafi bakımdan komşu iki bölgede meydana gelen ve yüzlerce insanın etkilendiği bir akut hepatit salgını kayıtlara geçmiştir. Bu olayın sebebi ise yüksek derecede aflatoksinle kontaminasyona uğramış mısırların tüketimiyle olduğu açıklanmıştır. Elde edilen birtakım mısır örneğindeki analiz sonuçlarına göre aflatoksin mg/kg düzeyindedir hatta maksimum 15 mg/kg aflatoksin bulunmuştur [33].

2.2.5. Aflatoksin Sınır Değerleri

Günümüzde gıdalardaki en önemli bulaşanlar olarak mikotoksinler en ön sırada gelmektedir. Bu yüzden mikotoksinlern analizi ve belirlenmesi tarımsal ürün ve gıda ticaretinde önemlidir.

Gıdalarda izin verilen aflatoksin miktarı ilk olarak WHO ve FAO gibi organizasyonlarda 30 µg/kg olarak belirlemiş olup bu değerin üzerindeki aflatoksin içerikli ürünlerin ticareti insan sağlığı açısından önerilmemiştir. Fakat belirlenen bu değer yıllar içinde insan ve hayvan sağlığı açısından yüksek bulunduğu için düşürülmüştür. Düşürülen kabul edilebilir limit gıda ürünlerinin ticaretini de zorlaştırmıştır.

Kabul edilebilir limit değerlerin belirlenmesi

Bazı ülkelerde belirlenen limit değer bütün gıdalar için geçerli olurken bazılarında ise her gıda grubunda değişiklik göstermektedir. Limit değerlerin belirlenmesinde mühim olanı, ülkeler arası ticarette tarım ürünleri, gıda ve yemlerde ortak normların oluşturulmasıyla uluslararası ticaretin adil rekabet ortamında yapılması ve tüketicilerin özellikle de hassas gruplar olan çocuk, hamile ve yaşlıların iyi korunmasıdır [34].
Gıdalarda aflatoksin için belirlenen limit değerlerine maksimum limit düzenlenmesi de denmektedir. Bu maksimum limitler aşağıdaki maddelere göre belirlenmiştir.

- Bahse konu olan bulaşan maddenin, canlı sağlığına ciddi tehtid oluşturması ve uluslararası ticaretlerde sıkıntıya sebep vermesi gereklidir.
- Bulaşanı olduğu gıda ürününün canlılar tarafından oldukça fazla tercih edilen ve tüketilen bir ürün olmalıdır.
- Ulaşılabilecek en düşük seviye ilkesi, belirli toksik çalışmalarının neticesinde belirlenmiş olan maksimum limitin tüketicinin sağlığına olumsuz yönde etki ettiği biliniyor olmalıdır.
- Belirlenen maksimum limit, değişik ülkelerin ve çeşitli kaynaklardaki veri bilgilerinin araştırılması neticesinde bildirilmelidir. Fakat bir ürünün sadece tek bölgeye ait olması ve sadece orada yetişmesi durumunda az miktarda verinin kullanılmasına izin verilebilir.

- Bulaşan maddenin bulunduğu ürünlerin grubu için bulaşanın ne kadar olduğu bilinmekteyse o gruptaki tek gıdada da belirlenen yöntemler uygulanarak maksimum limit bulunabilir.
- Maksimum limit, çıkan partinin şehit numunesine uygulanabilir.
- Maksimum limit, tayin yöntemlerinin tespitini yapabileceği alt limitinin aşağısında olmaması gerekir.
- Çevre faktörlerine dikkat edilerek gıda ürünün bulaşanla teması engellenmelidir.
- Gıda ürününün üretim, işleme, hazırlama, paketleme, taşıma ve depolama basamaklarında olması gereken kontrollü uygulamalarla olmalıdır.
- Fiziksel işlemlerle bulaşan gıdaların ayrılması sağlanarak bulaşanın olduğu ürünlerin tüketime çıkması engellenmelidir.

AB'de aflatoksinler için uygulanan yasal limit değer her gıda grubu için değişiklik göstermektedir.

Türk Gıda Kodeksi'nin 2011 yılında resmi gazetede yayınladığı Türk Gıda Kodeksi bulaşanlar yönetmeliğine göre, bazı gıdalardaki aflatoksin miktarları için kabul edilebilir değerler ve Avrupa Birliği ülkelerinin 2010 yılında uygulamaya koyduğu limit değerler aşağıdaki tabloda karşılaştırmalı bir biçimde verilmiştir.

Tablo 2.5. Aflatoksin Sınır Değerleri [35]

	TÜRK GIDA KODEKSİ(TGK)-2011			AVRUPA BİRLİĞİ(AB)-2010		
AFLATOKSİN Maksimum Limit	**AFB_1 (µg/kg) ppb**	**AFB_1+AFB_2+ AFG_1+AFG_2 (µg/kg) ppb**	**AFM_1 (µg/kg) ppb**	**AFB_1 (µg/kg) ppb**	**AFB_1+AFB_2 +AFG_1+AFG_2 (µg/kg) ppb**	**AFM_1 (µg/kg) ppb**
Fındık ve Brezilya fındığı (doğrudan insan tüketimine sunulmadan evvel ayıklama veya diğer fiziksel işlemlerden geçirilecek kısım) Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılacak fındık hariç	8,0	15,0	—	8,0	15,0	—
Fındık ve Brezilya fındığı (doğrudan insan tüketimine sunulacak yahut gıdada bileşen olarak kullanılacak) Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	5,0	10,0	—	5,0	10,0	—
Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulacak yahut gıdada bileşen olarak kullanılacak)	8,0	10,0	—	8,0	10,0	—
Mısır ve pirinç (doğrudan insan tüketimine sunulmadan evvel ayıklama veya diğer fiziksel işlemlerden geçirilecek kısım)	5,0	10,0	—	5,0	10,0	—
Kurutulmuş meyveler Kuru incir (doğrudan insan tüketimine sunulacak yahut gıdada bileşen olarak kullanılacak)	8,0	10,0	—	2,0	4,0	—

Tahıllar, bunlardan elde edilen ürünler ve bunların işlenmiş ürünleri	2,0	4,0	—	2,0	4,0	—
Sert kabuklu meyveler (doğrudan insan tüketimine sunulmadan evvel ayıklama veya diğer fiziksel işlemlerden geçirilecek kısım)	8,0	15,0	—	5,0	10,0	—
Sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulacak yahut gıdada bileşen olarak kullanılacak)	5,0	10,0	—	2,0	4,0	—
Yerfıstığı, diğer yağlı tohumlar ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulacak yahut gıdada bileşen olarak kullanılacak) Rafine edilecek bitkisel ham yağ ve rafine bitkisel yağ hariç	5,0	10,0	—	2,0	4,0	—
Baharatın aşağıdaki türleri için; Kırmızıbiber (Capsicum spp.) (bunların kurutulmuş meyveleri, tüm ve öğütülmüş halleri dahil) Karabiber (Piper spp.) (bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) Hintcevizi/Muskat (Myristica fragrans) Zencefil (Zingiber officinale) Zerdeçal (Curcuma longa)Bunların bir veya birkaçını içeren karışım Baharat	5,0	10,0	—	5,0	10,0	—
Çiğ süt, ısıl işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	—	—	0,050	—	—	0,050
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0,10	—	—	0,10	—	—
Bebek formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	—	—	0,025	—	—	0,025
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0,10	—	0,025	0,10	—	0,025

2.2.6. Aflatoksin Önlenmesi ve Giderilmesi

Mikotoksin oluşumunu önlemek ve en aza indirmek için kesin çözüm küf ve mikotoksin oluşumuna yol açan koşulların giderilerek kontamine olma riskinin başlamadan sona ermesidir. Tarımsal ürün henüz tarlada iken bile küf ile kontamine olabilmektedir. Bu nedenle ham mahsulün erken hasat edilmemesi, olgun mahsulün yağmur ve kar altında bırakılmaması, hasattan önce böceklere karşı etkin mücadele ilaçlarının kullanılması, az küflü ürünlerin hasat sırasında ayrılıp sağlam ürüne karıştırılmaması gibi ilk önlemlerle toksin oluşumun büyük ölçüde önüne geçilebilmektedir.

Ürünün kurutma aşaması toksin oluşumu açısından oldukça önemli bir aşamadır. Özellikle ülkemizde başta üzüm, kayısı, incir gibi ürünler olmak üzere birçok tarım ürünü ekonomik olması nedeni ile açık havada, güneşte kurutulmaktadır. Bu durum kontrollü bir durum olmamakla birlikte açıkta kurutulan ürün alanda çeşitli böcek, kuş v.b. hayvanın zararına uğramaktadır. Bunun yerine yapılacak olan kontrollü ve koşulları kendimiz oluşturabileceğimiz bir yapay kurutmada bu sakıncalar ortadan kalkmaktadır [36].

Toksin oluşumunun önemli ölçüde gözlendiği diğer bir önemli aşama ise depolama sürecidir. Ürünü depolamadan önce belirli bir nem oranında kurutmak, toksin üretimini durdurabilmekte veya önemli ölçüde azaltabilmektedir. Ancak bu kontrol metotlarının başarılı olması iyi depolama koşullarına bağlıdır.

Gıda maddesine bulaşmış olan aflatoksinlerin giderilmesi için fiziksel ve kimyasal yöntemlere başvurulmaktadır.

Fiziksel yöntemler ile ilgili yapılan uygulamalar ve örnekler şöyledir; Sıcaklıkla aflatoksinlerin yok olması için şiddetli sıcaklıklar gerekmekte fakat sıcaklığın etkisiyle aflatoksinin yok edilmesinin pek imkânı yoktur.

Örneğin; yer fıstığında AFB_1'i %80, AFB_2'yi %60 oranlarında yok edebilmek istendiğinde 150°C sıcaklıkta 30 dakikayı bulan bir uygulama yapmak gereklidir. Aflatoksinler pişirme sıcaklıklarına karşı dirençli yapıya sahip olduğu bilinmektedir. Ultraviyole ışın yöntemi, ışının iletim şiddetinin yeterli olmaması sebebiyle gıdalarda aflatoksin inaktiasyonunu başaramamakta, sadece ince tabaka halindeki süte uygulandığında olumlu sonuçlar vermektedir.

Amonyak gazı yöntemi mısır ürününde olumlu sonuçları vardır. Fakat yöntemin uygulanmasının ardından mısır renginde farklılaşma olması sebebiyle bulunan yöntem sadece hayvanların yeminde yararlanılacak olan ürünlerde uygulanabilmektedir [37].

2.2.7. Aflatoksinin analiz metotları

Aflatoksinlerin tespitinin ilk olarak yapıldığı 1960 yılından günümüze birçok analiz yöntemleri bulunmuştur. Bulunan yöntemlerden bazısı: İnce tabaka kromatografisi (TCL), yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), fluorimetri, enzim bağlı immuno sorbent deneyi (ELISA) ve radio immuno deneyi (RIA)' dir.

Aflatoksinlerin tayinerinde sık olarak TCL ve HPLC metotu kullanılmaktadır. TCL yöntemi HPLC yöntemine kıyasla ucuz olup aynı zamanda kolaydır. Fakat az miktar analizlerinde güvenirliliği düşüktür. TLC' de kullanımı gerekli olan kimyasal madelerin çevreye yol açtığı olumsuz durumlar ve analizi fazla sürede sonuçlandırması gibi dezavantajlara da sahiptir [38-40].

HPLC yöntemi ucuz olmayan bir yöntem olmasına rağmen analiz süresi kısa olan, yanılma payı düşük olan ve tayin sınırının TLC yöntemine kıyasla daha duyarlı olmasıyla daha çok kabul görmektedir.

İmmunokimyasal yötemler ELISA ve RIA' dır. ELISA yönteminin esası, belirlenmiş aflatoksinlerle tayini yapılacak Aflatoksinin arasında gerçekleşen rekabete bağlıdır. Bütün bu yöntemler arasında ELISA yöntem olarak çok basit ve hızlıdır. Geçmişten güümüze dek ELISA yöntemi aflatoksin belirleme için en çok kullanılmış ve kullanılmakta olan bir yöntemdir. Fakat çok düşük miktarlarda hassasiyeti düşük olacağından tercihi ona göre yapılmaktadır.

RIA yönteminin esasıda ELISA yöntemi gibidir. Farklılık aflatoksinin belirlenmesi aşamasında radyoaktif madde kullanılmasıdır. Bu nedenden ötürü tayin sonunda ortaya radyoaktif atıklar çıktığından RIA yöntemi kullanılan bir yöntem değildir [39,40].

Fakat bu yöntemlerden daha hassas ve daha az maliyetli bir yöntem olan fluorimetri yöntemi çok fazla kullanılmamaktadır. Bunu nedeni ise aflatoksinlerin fluorimetri cihazıyla tayini için geçerli ve sağlıklı bit metotun olmayışıdır. Bizim bu çalışmayla amacımız AFB_1' in fluorimetri cihazıyla tayini için geçerli bir metot geliştirmektir.

2.2.7.1. Fluorimetrik yöntem

Fluoresans metotunun esası, madde çözeltisinin üzerine ışın ererjisi verilerek maddenin uyarılmasıdır. Alınan enerjinin geriye verilerek temel duruma dönerken görülen farklılıklar önemlidir. Uyarılmak istenen maddenin üzerine gönderilecek ışın daha çok ultraviyoledir. Gönderilen ışın maddece az zamanda absorplanarak hemen ardından fluoresans ışını şeklinde çevreye yayılır.

Fluoresans yöntemi hassas bir yöntemdir. Az olan konsantrasyonlarda bile uygulama imkânı bulmaktadır. Fluoresans cihazının mekanizması ultraviyole ve görünür bölge cihazlarınınkiyle çok benzerdir [40].

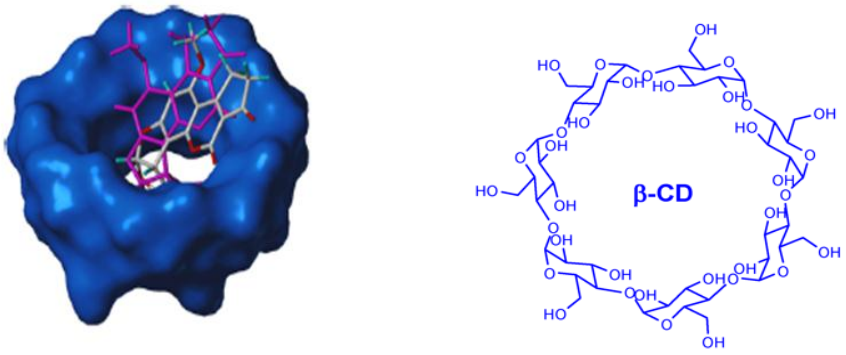
2.2.8. β-Siklodekstrin yapısı ve AFB_1 ile oluşturduğu kompleks yapı

Siklodekstrinler (SD) α(1-4) glikozidik bağlı glikoz birimlerinden oluşan siklik oligosakkaritlerdir. Glikoz birimlerinin sayısınca adlandırılan siklodekstrinlerin sık olarak kullanılan ve bilinenleri 6, 7 ve 8 glikoz biriminden oluşan α-SD, β-SD ve γ-SD' lerdir [41].

Siklodekstrin halkasına ait hidrofilik olan ikincil hidroksil grupları halkanın dış kısmında, hidrojen atomları ve oksijen köprüleri de hakanın iç kısmına yerleşmesi neticesinde halkanın iç kısmı hidrofobik, dış kısmı ise hidrofilik nitelik kazanmış olur. Sonuç olarak SD' lerin 3 boyutlu yapıları ve şekli hidrofobik karakterdeki moleküller yahut fonksiyonel gruplarla kompleks oluşturmasında mühim bir değişkendir [42,43].

Kompleks oluşumu sırasında, konakçı SD molekülünün iç kısmına konakçı moleküller tutunarak ve kompleksleşme konakçı molekülün fizikokimyasal niteliklerinde faydalı farklılıklar meydana gelmesini sağlamış olur [43].

AFB_1' in verdiği doğal fluoresans şiddeti siklodekstrinler kullanılarak değiştirilmesi ve daha belirgin hale getirilmesi mümkündür. Çalışmamızda β-siklodekstrinin hidrofilik hidrofobik özelliğinden yararlanılarak AFB_1 ile kompleks oluşturmasını sağlayarak numunelerdeki düşük konsantrasyondaki AFB_1 değeri tespit edilmeye çalışılmıştır.



Şekil 2.3. β-Siklodekstrin'in AFB_1 ile oluşturduğu kompleks yapı

BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1. Yararlanılan kimyasal maddeler

Polimerik sensörde kullanılacak reaktif monomerin hazırlanması için, β-Siklodekstrin (β-SD), Akriloil klorür (AC), N,N-dimetil formamit (DMF), trietilamin (TEA).

Polimerik optik sensör çalışmaları kısmında, 2-Hidroksietil metakrilat (HEMA), Hekzandioldiakrilat (HDDA), 2-Hidroksi-2-metilpropiyofenon (HMPP)

Tayin kısmında AFB_1, yabancı iyon kısmında AFB_2, AFG_1 ve AFG_2 kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan bütün kimyasal maddeler Sıgma-Aldrich (St. Louis, MO 63103 USA) adlı firmadan teminatı yapılmıştır.

3.1.2. Kullanılan cihazlar

Spektrofluorimetre: Bu tezde yapılan spektrofluorimetrik analizler Xenon lambalı Varian Eclipse marka Spektrofluorimetre ile yapılmıştır.

Ultra saf su cihazı: Yapılan deneylerde kullanılan saf su Millipore Direct-Q®- 3 Ultra Saf Su Cihazı'ndan temin edilmiştir.

Terazi: Yapılan çalışmalardaki alınan tartımlar için Pressica (0,0001 gram hassasiyetli) marka terazi kullanılmıştır.

pH-metre: Hazırlanan çözeltilerin ve örneklerin pH ölçümleri WTW marka pH 7110 set 2 model masa üstü pH metre kullanılarak yapılmıştır.

UV lamba: Çalışmalarda kullanılan polimer karışımın sertleştirilerek jel haline getirilmesinin sağlanması için OSRAM (300 W λ_{max}=365 nm) UV lamba kullanılmıştır.

Vakum etüvü: Sentezlenmiş olan polimerik membranın kurutma işleminin gerçekleştirilmesi için vakum etüvü kullanılmıştır.

ATR-FTIR Spektrofotometre: Hazırlanmış olan jellerin fonksiyonel gruplarının karakterizasyonu için Perkin- Elmer marka ATR- FTIR Spektrofotometre kullanılmıştır.

SEM: Hazırlanmış olan jellerin morfolojik özelliklerinin belirlenmesi için Philips XL30 ESEM-FEG/EDAX cihazı kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Polimerik fluoresans sensörün hazırlanması

Akriloil β-siklodekstrin' in sentezlenmesi Constantin ve arkadaşları tarafından yayınlanan '*Poly(NIPAAm-co-β-cyclodextrin) microgels with drug hosting and temperature-dependent delivery properties*' adlı makaledeki yönteme göre yapılmıştır [44].

3.2.1.1. Acryloyl β-Siklodekstrin monomerinin sentezi

Geliştirilen yöntemde kullanılacak olan akrillenmiş β-siklodekstrin monomerinin hazırlanması için yukarı bahsi geçen makaleye uygun bir şekilde; 11,38 gram β-siklodekstrin üç boyunlu balona tartılıp üzerine 30 mL DMF ilave edilerek 50° C' de magnetik karıştırıcıda bir saat kadar çözünmesi sağlanmıştır. Bu çözelti üzerine 12 gram TEA ilave edildikten sonra 50 mL DMF'nin içine 10,8 gram AC eklenerek elde edilen karışım reaksiyona damla damla 2 saatte bitecek şekilde eklenmiştir. Süre sonunda reaksiyon durdurulmuş ve adi süzgeç kağıdından süzülerek oluşan tuz ayrılmıştır. Daha sonra süzüntü aseton üzerine damla damla dökülerek beyaz çökeltiler elde edilmiş ve bu şekilde tüm süzüntü asetonda çöktürülmüştür. Çökelti liyofilizatörde kurumak için bir gece bekletildikten sonra elde edilen ürünün FT-IR spektrumunda görülen piklerden akrilleme işleminin gerçekleştiği anlaşılmıştır. Elde edilen monomerin FT-IR spektrumu Şekil 4.1' de verilmiştir.

3.2.2. Polimerik fluoresans sensörün hazırlanması

Polimerik fluoresans sensörün hazırlanışında; (%1) Akrillenmiş β-siklodekstrin, (%25) 2-Hidroksietil metakrilat (HEMA), (%74) Hekzandioldiakrilat (HDDA) beherde homojen bir karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Karışımın üzerine fotobaşlatıcı olarak (%3) 2-Hidroksi-2- metilpropiyofenon konularak ve Teflon® (G x U x K: 12 mm x 40 mm x 2 mm) kalıba dökülerek UV (OSRAM 300 W, λmax = 365 nm) ışığı altında 3 dakikada polimerik fluoresans sensör elde edilmiştir. Elde edilen membranların şeffaf ve herhangi bir kabarcık içermeyen homojen şekilde elde edildiği gözlemlenmiştir.

3.2.3. Polimerik fluoresans sensörün karakterizasyonu

3.2.3.1. ATR- FTIR ölçümleri

Sentezlenen polimerik sensöre ait FTIR spektrumu, ATR-FTIR kullanılarak 4000–400 cm^{-1} aralığında tarama yapılarak elde edilmiştir. İlgili FTIR spektrumu Şekil 4.1' de verilmiştir.

3.2.3.2. Yüzey özellikleri

Aflatoksin tayininde kullanılacak olan sensörün yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak belirlenmiştir. Farklı büyütme seçenekleriyle ele alınmış SEM görüntüleri Şekil 4.2' de verilmiştir.

3.2.4. Polimerik fluoresans sensörün AFB_1 için kullanılabilirliğinin araştırılması

3.2.4.1. Spektral karakterizasyon çalışmaları

Çalışmalar için hazırlanan polimerik fluoresans materyale ait fluoresans ölçümleri Varian Eclipse spektrofluorimetre cihazı ile Xenon ışık kaynağı kullanılarak yapılmıştır. Polimerik sensörün AFB_1' e vereceği cevabın ölçülmesi bir uyarma dalga boyuna karşılık gelen emisyon dalga boyunda fluoresans şiddetinde meydana gelen artış veya azalışın belirlenmesi için ölçümler farklı slit aralıkları ve farklı fotoçoğaltıcı tüp (PMT) voltajlarında gerçekleştirilerek en uygun şartlar oluşturulmaya çalışılmıştır. Yapılan spektrum tarama sonuçlarında tespit edilen en uygun dalga boyu spektrumu Şekil 4.3.'de gösterilmektedir.

3.2.4.2. Çözücü etkisinin araştırılması

Bu amaçla spektral karakterizasyon çalışmalarıyla eş zamanlı bir şekilde yürütülecek şekilde farklı yüzdelerde metanol çözücüleri kullanılarak, çözelti ortamı olarak her bir çözücü ve çözücüye ait yüzde konsantrasyonlarda, ortamda AFB_1 bulunması ve AFB_1 bulunmaması durumları için fluoresans şiddetleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre AFB_1 ve hazırlanan polimerik membran arasında maksimum fluoresans şiddetini veren çözücüye ve çözücüye ait yüzde konsantrasyona karar verilmiştir. İlgili sonuçlar Bölüm 4.4'te yer almaktadır.

Çalışmalar AFB_1'in sulu ortamda kolaylıkla hidrolizlenmesi sebebiyle pH tamponu içeren sulu ortamda yapılamamıştır.

3.2.4.3. Polimerik fluoresans sensörün cevap verme süresi

Sensörün 1 ppb AFB_1 varlığında fluoresans şiddetindeki değişim 10 saniye aralıklarla 30 dakika boyunca ölçülmüş olup süre-fluoresans şiddeti grafiği çizilerek Şekil 4.5' de polimerik fluoresans sensörün kullanılabileceği en uygun bekleme süresine karar verilmiştir.

3.2.4.4. Kalibrasyon aralığı, tespit ve tayin sınırı

Kalibrasyon grafiğini oluşturmak için saf metanol içinde hazırlamış olduğumuz 0,5 ppm stok AFB_1 çözeltisinden %10 metanol ile 0,3 – 3,0 ppb konsantrasyon aralığındaki 5 farklı çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltilerin karar verilen şartlarda fluoresans şiddeti ölçülerek kalibrasyon grafiği çizilerek Şekil 4.6' da gösterilmiştir.

3.2.4.5. Sensörün rejenerasyonu ve yeniden kullanılabilirliği

Yaptığımız çalışmalarla belirlenen en uygun şartlar altında sensörün rejeneresyonu için çözücü seçimi yapılmış ve tekrar kullanılabilirliği incelenmiştir.

3.2.4.6. Sensörün ömrü

5 ay boyunca karanlıkta, desikatör içinde saklanan sensörün AFB_1 çözeltisine karşı fluoresans şiddeti farklı zaman aralıklarında ölçülerek sensörün kullanım ömrü belirlenmiştir. İlgili grafik Şekil 4.3'te verilmiştir.

3.2.4.7. Girişim yapabilecek aflatoksin türevlerinin etkileri

Hazırlanan sensörün fluoresans şiddeti üzerine girişim yapabilecek aflatoksin türevleri içeren çözeltilerin 1 ppb AFB_1 varlığında ayrı ayrı fluoresans şiddetleri ölçülerek tayinin doğruluğunu etkilemeyecek aflatoksin türevlerinin konsantrasyonlarına karar verilmiştir.

3.2.4.8. Gerçek örnekte AFB_1 tayini

Çalışmamız için aflatoksin içerme ihtimali yüksek ve insanların sık tüketmekte olduğu gıdalardan fındık, yer fıstığı ve soslu yer fıstığı örnekleri yerel market ve pazarlardan temin edilmiştir. Bu örneklerin AFB_1 içerikleri HPLC cihazı ile belirlendikten sonra geliştirilen yöntemle de tayin edilerek elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonuçları ve % bağıl hatalar Tablo 4.2'de verilmiştir.

3.2.4.9. Geliştirilen yöntemin diğer yöntemlerle karşılaştırılması

Tablo 3.1. Aflatoksin analizinde kullanılan farklı metotların karşılaştırılması

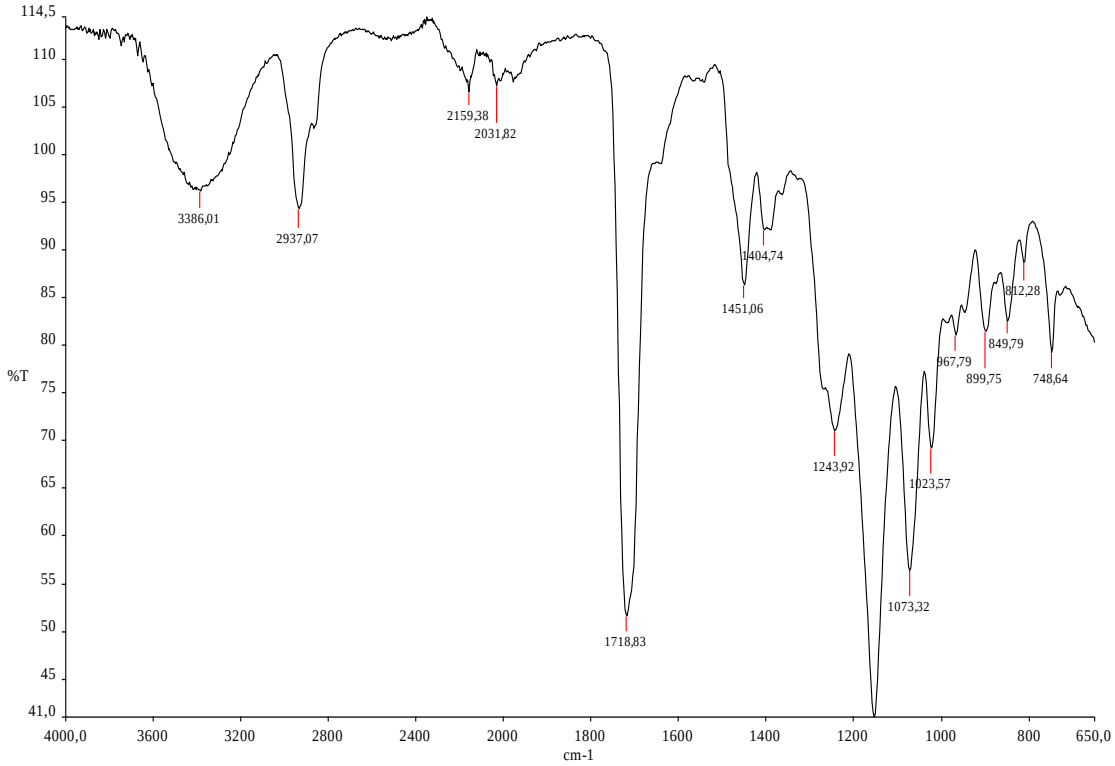
λ ex/em (nm)	Metot	LOD	Kullanılan cihaz	Tayin edilen AF türevi	kaynak
420-460	Manyetik katı faz ekstraksiyonu	0.01M	Spektrofotometre	AFM_1	10
362-433	Spektrofluorimetrik	$4.8x10^{-8}$M	Spektrofluorimetre	AFB_1	41
362-433		$1.1x10^{-5}$M	Spektrofluorimetre	AFB_1	17
365-425	Sıvı faz ekstraksiyon	$2x10^{-3}$ M	HPLC	AFB_1	43
376-423	Fluorimetrik	$3.84x10^{-10}$ M	Spektrofluorimetre	AFB_1	Bu çalışma

BÖLÜM 4. DENEYSEL SONUÇLAR VE BULGULAR

4.1. Polimerik Fluoresans Sensörün Karakterizasyonu

4.1.1. ATR-FTIR analiz sonuçları

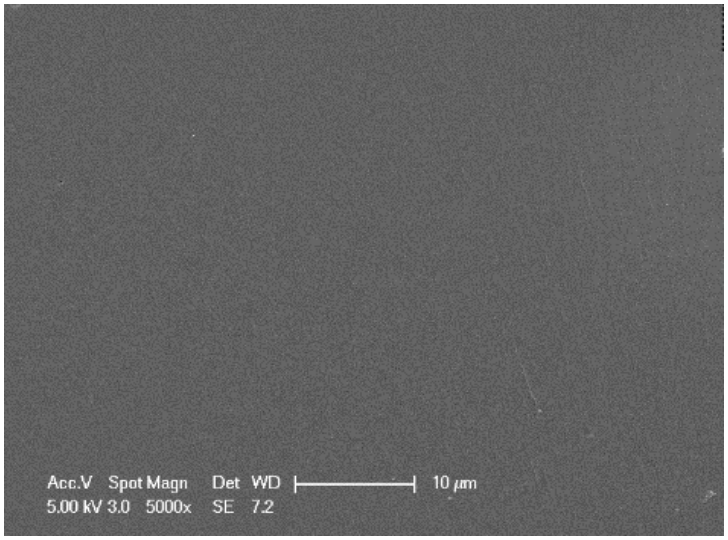
FTIR spektrumunda 4000 cm^{-1} - 400 cm^{-1} dalga boyları aralıklarında yapılan tarama sonucunda kaydedilen polimerik membranın fonksiyonel grupları Şekil 4.2' de verilmiştir. Spektrumda 3386,01 cm^{-1}' deki pik HEMA' nın hidroksil grubunu; 2937,07 cm^{-1}' deki pik C-H bağını; 1718,83 cm^{-1}' de görülen keskin pik ise karbonil grubunu göstermektedir.



Şekil 4.1. Polimerik fluoresans sensörün FTIR spektrumu

4.1.2. SEM görüntü sonuçları

Hazırlanan membrana ait 5000x büyütme faktöründe elde edilen SEM görüntüleri Şekil 4.2'de verilmiştir. SEM sonuçları tam da istendiği gibi hazırlanan membran sensörün kırıksız, çatlaksız, homojen bir yüzeye sahip olduğunu göstermektedir.

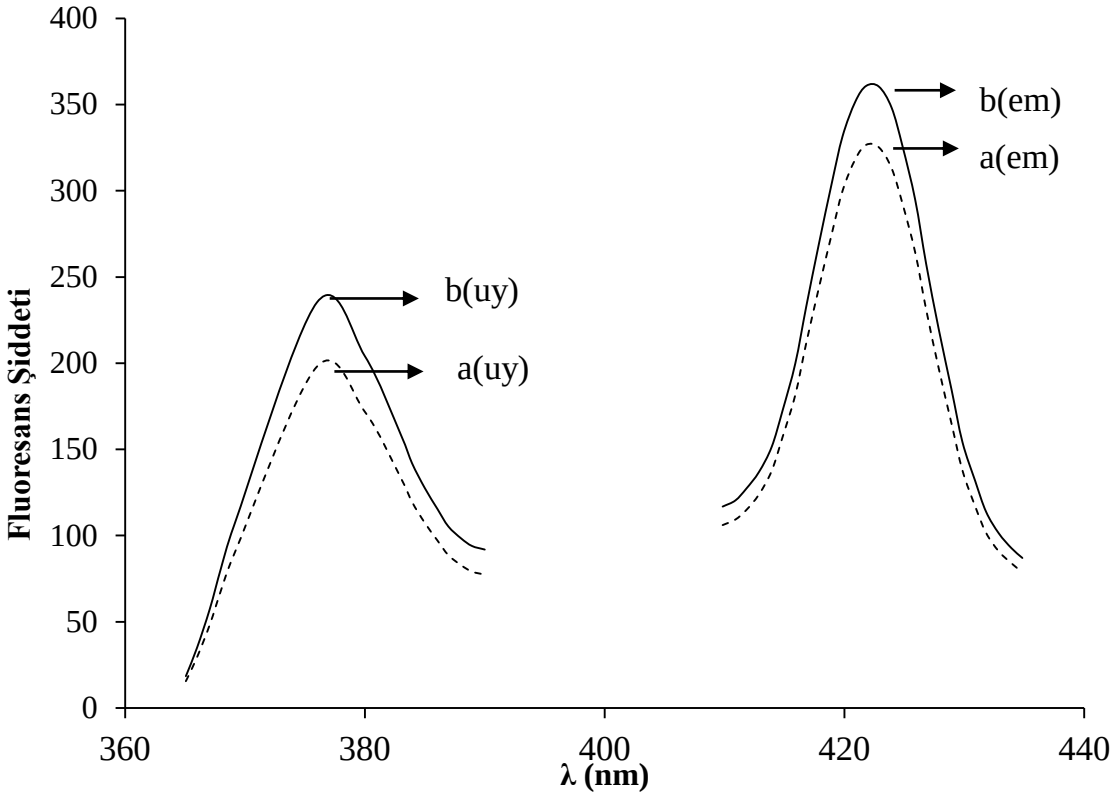


Şekil 4.2. AFB_1 için hazırlanan polimerik fluoresans sensörün 5000 kat büyütülmüş SEM görüntüsü

4.2. Polimerik Fluoresans Sensörün AFB_1 Tayini İçin Kullanılabilirliğinin Tespiti

4.2.1. Spektral karakterizasyon çalışmaları

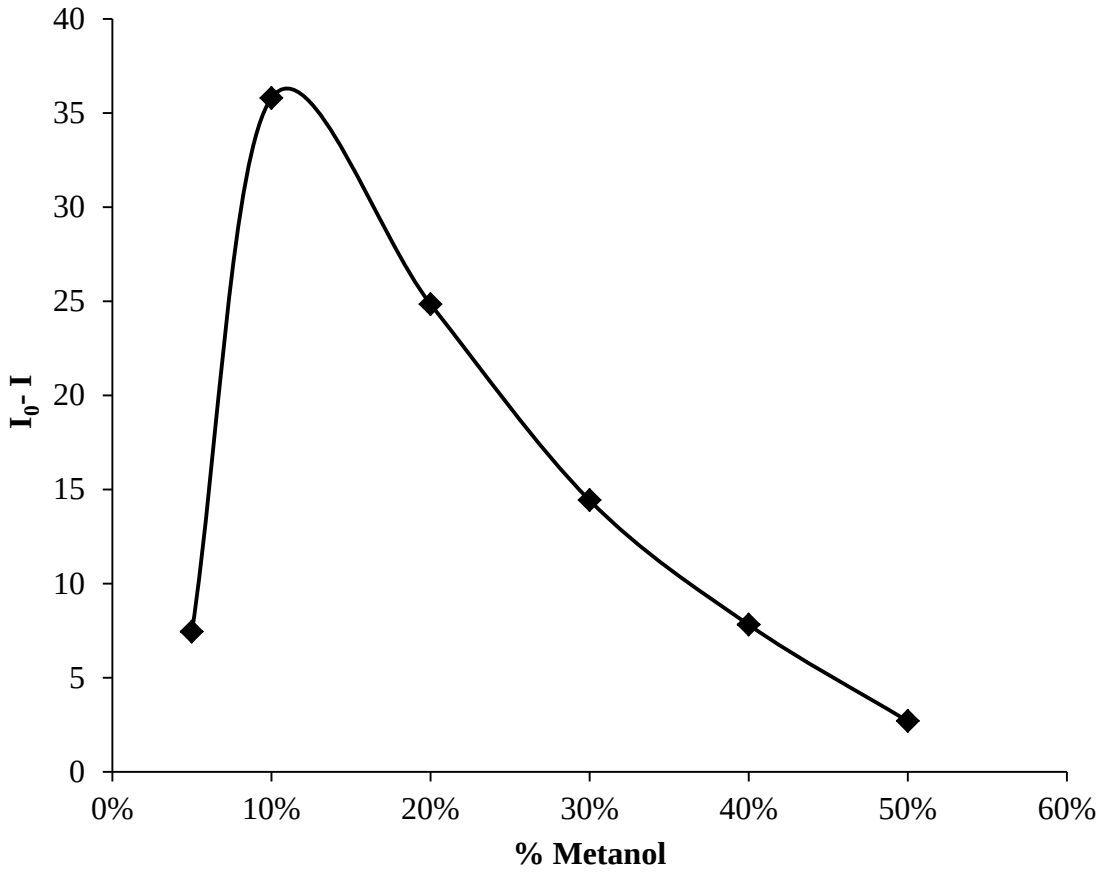
Hazırladığımız polimerik fluoresans sensör 1 ppb AFB_1 varlığında fluoresans şiddeti dalga boyuna karşı ölçülerek elde edilen spektrum tarama grafiği Şekil 4.3 'de verilmiştir. Polimerik fluoresans sensörün spektrum taramaları sonucunda uyarma dalga boyu ve emisyon dalga boyu sırasıyla 376 nm, 423 nm olarak neticelendirilmiştir.



Şekil 4.3. Polimerik fluoresans sensörün uyarma ($\lambda_{uy.}$ = 376 nm) ve fluoresans spektrumları ($\lambda_{em.}$ = 423 nm) AFB_1 yokluğunda düz çizgi, 1 ppb AFB_1 varlığında kesikli çizgi.

4.2.2. Polimerik fluoresans sensörün cevabına uygun çözücü konsatrasyonunun etkisi

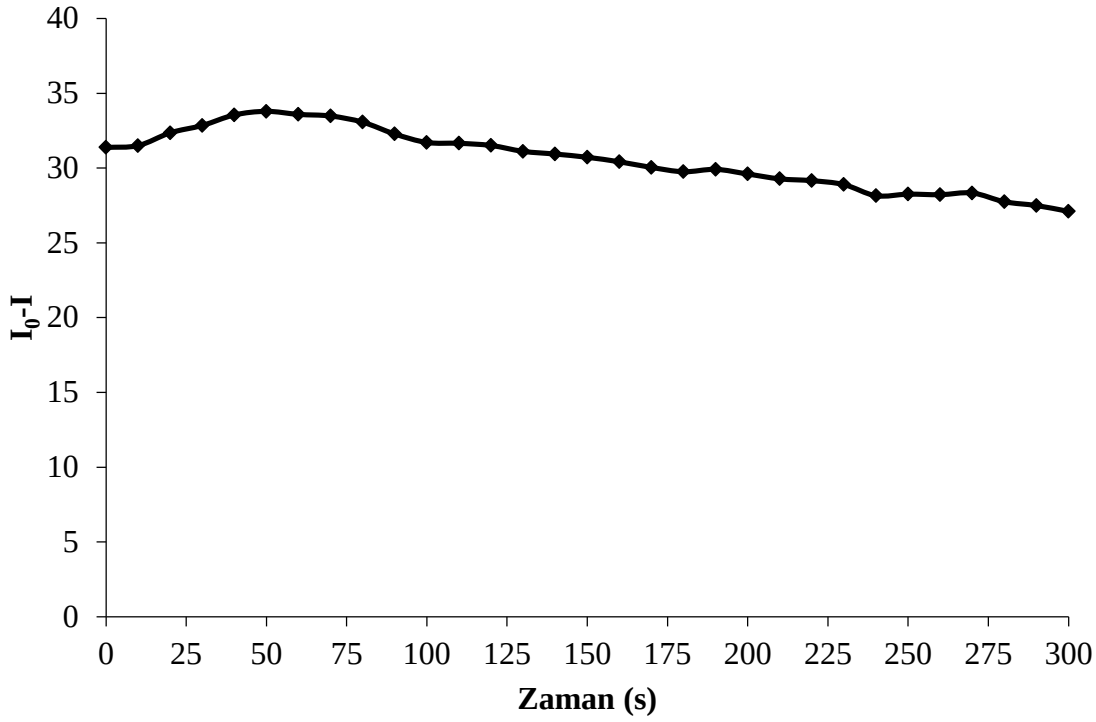
Ölçüm için en iyi ölçüm koşullarını elde etmek için aflatoksin çalışmalarının çözünebildiği metanol içinde olması gerektiği görülmüştür. Metanol yüzde konsantrasyonun etkisi %1 ve %50 (v/v) arasında değişen metanol-su konsantrasyonlarında incelenmiştir. Fluoresans şiddetinin metanol yüzdesi %5-%10 arasında arttığı, %10'un üzerine çıktığında AFB_1' in fluoresans şiddetinin azaldığı görülmüştür. Bu nedenle %10 metanol yüzdesi ile çalışmanın uygun olduğuna karar verilmiştir.



Şekil 4.4. Polimerik fluoresans sensörün fluoresans şiddeti üzerine etkisi.

4.2.3. Polimerik fluoresans sensörün cevap verme süresinin tespiti

Sensörün AFB_1'e karşı vermiş olduğu fluoresans şiddetindeki değişim 10 saniye aralıklarla 30 dakika boyunca ölçülmüş olup fluoresans şiddetinin 0-40 saniye arasında arttığı 40-70 saniye arasında sabit kaldığı sonrasında ise azaldığı gözlenmiştir. Bu nedenle ölçüm süresi olarak 40 saniye seçilmiştir.



Şekil 4.5. 30 dakika boyunca AFB_1 polimerik fluoresans sensörünün zamana bağlı fluoresans şiddetindeki değişimi (1 ppb AFB_1 varlığında)

4.2.4. Polimerik fluoresans sensörün rejenerasyon ve yeniden kullanılabilirliği

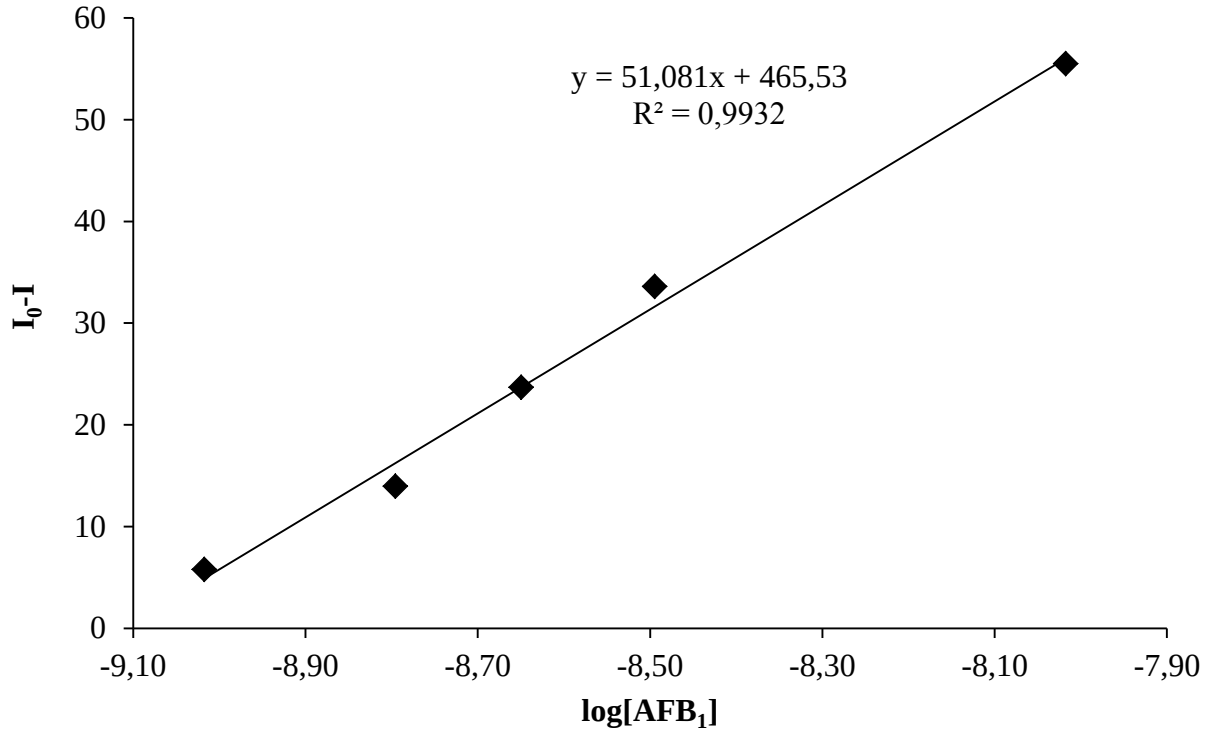
Hazırlamış olduğumuz polimerik fluoresans sensörün rejenerasyonu için farklı çözeltiler denenmiştir. Denenmiş olan çözeltilerden bir kısmı membranın yapısını bozmuş bir kısmı ise yıkama işleminden sonra AFB_1'in ortamda bulunmadığı başlangıç halindeki fluoresans şiddetine geri dönüş sağlayamamıştır. Yapılan denemeler sonucunda yıkama çözeltisi olarak %10 'luk metanol çözeltisinin en uygun olduğu görülmüştür. Yıkama işlemi %10'luk metanol ile 1 dakika yapılarak başlangıçtaki fluoresans şiddeti elde edilmiştir. Bu şartlar göz önüne alındığında tek bir polimerik fluoresans sensörün rejenere edilerek 40 defa kullanılabildiği tespit edilmiştir.

4.2.5. Kalibrasyon aralığı, tespit ve tayin sınırı

Çalışmamızda kalibrasyon grafiğinin oluşturulabilmesi amacıyla hazırlanan AFB_1 içeren çözeltilerin konsantrasyonlarının logaritmasına karşılık değişen fluoresans şiddetlerinin grafiğe geçirilmesiyle en uygun çalışma aralığı 0,3-3,0 ppb AFB_1

konsantrasyonunda belirlenmiştir. Daha büyük AFB_1 konsantrasyonlarında grafiğin doğrusallığı bozulmakta olup bu değerler grafikte gösterilmemiştir.

Tespit ve tayin sınırları için ise $9,6x10^{-10}$ M (0,3 ppb) konsantrasyonundaki AFB_1 içeren %10'luk metanol içerisinde hazırlanmış olan 6 adet çözelti kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda tespit ve tayin sınırı değerleri sırasıyla $3.84x10^{-10}$ - $9,6x10^{-10}$ M (0,12- 0,3 ppb) olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.6. AFB_1 analizi için oluşturulan polimerik fluoresans sensörün kalibrasyon eğrisi (λ ex/em =376 nm/ 423 nm); ($I - I_0$, I_0 ve I sırasıyla çözeltiye AFB_1 ilave edilmeden önceki ve ilave edildikten sonraki fluoresans şiddetlerini göstermektedir).

4.2.6. Polimerik fluoresans sensörün kullanım ömrü ve kararlılığı

Hazırladığımız polimerik esaslı fluoresans sensörün kararlılığının belirlenmesi için polimerik membran karanlık bir ortamda bekletilmiş olup daha önce karar verilen en uygun çalışma şartları kullanılarak belirli zaman aralıklarında fluoresans şiddeti ölçümleri yapılmıştır. Sensörün kullanım ömrü ve kararlılığının incelenmesi

çalışmalarına başlama tarihi itibariyle ilk ölçülen değerden ±%5 değişimin olmadığı süre 6 ay olarak belirlenmiştir.

4.2.7. Girişim yapan aflatoksin türevlerinin etkileri

Polimerik fluoresans sensörün seçiciliğinin belirlenmesi için farklı aflatoksin türevlerinin fluoresans şiddetine olan etkisi araştırılmıştır. Bu deneyler 3,2 x 10^{-9} (1ppb) AFB_1 çözeltisine belirli oranlarda AFB_1 ile aynı anda bulunabilecek farklı aflatoksin türevlerinin ilavesiyle gerçekleştirilmiş ve fluoresans şiddetlerinde en fazla ±%5 değişikliğe sebep olan farklı aflatoksin türevlerinin üst limitleri Tablo 4.1 'de verilmiştir.

Aflatoksin Türevi	Kabul Edilebilir Üst Limit M (ppb)
AFB_2	1,59 x 10^{-8} M (5 ppb)
AFG_1	1,50 x 10^{-7} M (50 ppb)

Tablo 4.1. Girişim yapabilecek farklı aflatoksin türevlerinin kabul edilebilir üst limitleri (1 ppb AFB_1 konsantrasyonu varlığında)

4.2.8. Polimerik fluoresans sensörün analitik uygulamaları

Gerçek değerleri HPLC cihazı ile ölçülmüş olan 4 ayrı örnek alınarak bizim çalışmamız için belirlenmiş şartlarda hazırlanmış olan kalibrasyon grafiği aralığına girebilecek konsantrasyonlara seyrelttikten sonra gerçek örneklerin tayini yapılmıştır.

4.2.8.1. Numunelerin analize hazırlanması

Çalışmamızdaki numunelerin analize hazırlanması AOAC-999.07 metodu kullanılarak yapılmıştır. İlk olarak 50 g öğütülmüş yer fıstığı, fındık füresi ve soslu yer fıstığından ayrı ayrı tartılıp 3 ayrı cam blendıra konulmuştur. Üzerlerine 4 gr NaCl tartılır 150 mL metanol ve 100 mL su ilave edilerek yüksek devirde 2 dakika boyunca karıştırılmıştır. Hazırlanan bu çözeltiler Whatman No:113/4 filtre kağıtından 250 mL' lik erlenlere süzülmüştür. Süzüntülerden 5 mL alınarak 5 mL pbs pH 7.2 ile karıştırılır. 10 mL süzüntü immunoaffinite kolondan saniyede 1 damla olacak şekilde geçirilir. Akış

tamamlandıktan sonra iki defa 10 mL destile su kolondan geçirilerek kolon yıkanmıştır. Kolonun yıkanması sonucu kolonda tutulan aflatoksinler 1 mL metanol ve destile su yardımıyla 2 mL'lik balonjojelere alınmıştır. Balonjojedeki çözeltiler 0,2 mikron filtreden süzülerek 2 mL'lik balonjojelere alınmıştır.

Gerçek değerleri önceden ölçülmüş olan 3 ayrı numune uygun hacimlerde seyreltilerek çalışmamız için kabul edilen ölçüm şartlarında şahit olarak %10'luk metanol varlığında 1 ppb AFB_1 konsantrasyonunda AFB_1 kullanılarak gerçek numunelerin analizleri yapılmıştır. Tüm sonuçlar incelendiğinde polimerik fluoresans sensör ile yapılan çalışmada bağıl hata Tablo 4.2 'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Gerçek numunelerdeki AFB_1 analizi sonuçları

Örnek Adı	**Gerçek Değer (M)(ppb)**	**Analiz Değeri (M)(ppb)**	**Bağıl Hata (%)**
Yer Fıstığı	$4{,}457 \times 10^{-8}$ M 13,93ppb	$4{,}409 \times 10^{-8}$ M 13,78ppb	1,09
Fındık Füresi	$4{,}8 \times 10^{-8}$ M 15ppb	$4{,}217 \times 10^{-8}$ M 13,18ppb	12,10
Soslu Yer Fıstığı	$1{,}248 \times 10^{-6}$ M 390ppb	$1{,}242 \times 10^{-6}$ M 388,32ppb	0,43

BÖLÜM 5. SONUÇLAR

Aflatoksinler başlıca fındık, fıstık, mısır, süt ve süt ürünleri, baharatlar, pamuk tohumu ve kuru incir olmak üzere birçok tarımsal üründe gözlemlenmektedir.

Aflatoksinlerin genel olarak hasat öncesi meydana gelmeye başladığı yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu zararlı toksinin oluşumu nem, yüksek sıcaklık ve bitkinin zararlı canlılar tarafından zarar görmesi ile olmaktadır.

Bu tip bulaşanlar ürünün yetiştirilme döneminde ortamda bulunabilir. Bu nedenle bulaşma riskinin en aza indirilmesi için alınması gereken tedbirler vardır. Sağlıklı bir tarımsal ürünün hasat öncesi ve hasat sonrası işleme, kurutma ve depolama aşamalarında dikkat edilmesi gereken hususlar vardır. Bu hususlarda üreticinin de yeterince bilgilendirilmesi gerekmektedir. Bir tarım ülkesi olan ülkemiz için bu konularda üreticisini eğiterek daha iyi ve kaliteli ürün elde edilmesi için önemlidir.

Yapılan çalışmalar neticesinde aflatoksinle kirlenmiş tarımsal ürünlerin kanserojen olduğu insan ve havan sağlığına ciddi zararlar verdiği görülmektedir. Tarımsal ürünlerin uluslararası ticaretinde gelişmiş ülkeler insan ve hayvan sağlığını ön planda tutarken gelişmekte olan ülkeler ise ticaret kısmına önem vermektedir.

Bu nedenle ihracatın eşit şartlarda, kaliteli ve tüm insanlığın sağlığını koruyarak olması için maksimum limitler konmuştur. Uluslararası ticarette belirlenen aflatoksin limitlerine uyulması ihracatı yapan ülke açısından üretimin kalitesini arttırmaya yönelik olurken, tüketici açısından da daha güvenilir ve sağlıklı ürün tüketimi gerçekleşmektedir.

Yapılan bu çalışmada AFB_1 tayini için fluoresans veren bir polimerik esaslı fluoresans sensör geliştirilmiştir. Geliştirilen bu yöntem literatürdeki çalışmalarla kıyaslandığında daha hızlı, hassas, tekrar kullanılabilir, seçimli, ekonomik ve düşük konsantrasyonlarda bile doğru sonuç elde edebileceğimiz bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar maddeler halinde sıralanacak olursa;

İlk olarak polimerik fluoresans sensörün yapımında kullanılacak ana madde olan Ac-β-Cd' nin sentezlenmesi 59 numaralı kaynaktaki yönteme göre yapılmıştır.

Polimerik esaslı fluoresans sensör Ac-β-Cd, HEMA ve HDDA kimyasalları kullanılarak 2-Hidroksi-2-metilpropiyofenon ile UV ışığı altında 3 dakika gibi çok kısa bir sürede sertleştirilerek hazırlanmıştır.

Polimerik esaslı fluoresans membranın yüzey morfolojisi incelendiğinde istenen homojen, pürüzsüz, gözeneksiz ve çatlaksız bir yapıya sahip olduğu görülmüştür.

Sensörün spektral karakteristiği incelendiğinde 376 nm uyarma ve 423 nm emisyon dalga boyunda fluoresans şiddeti verdiği AFB_1 varlığında fluoresans şiddetinde azalma olduğu gözlemlenmiştir.

AFB_1 varlığında fluoresans şiddetinin %10 metanol çözeltisi varlığında maksimuma ulaştığı saptanmıştır. Sensörün cevap verme süresinin ise 40 saniye olduğu tespit edilmiştir.

Polimerik esaslı fluoresans sensörün rejenerasyonu amacıyla %10' luk metanol ile 1 dakikalık bir yıkama işleminin yeterli olduğu görülmüştür.

Poimerik sensörün çalışma aralığı $9.6x10^{-10}$ M ve $9.6x10^{-9}$ M (0,3-3,0 ppb) AFB_1 konsantrasyonu bulunmuş olup tespit ve tayin sınırları sırasıyla $3.84x10^{-10}$ M ve $9,6x10^{-10}$ M (0,12 - 0,3 ppb) olarak hesaplanmıştır.

Polimerik fluoresans sensör karanlık bir ortamda muhafaza edildiği takdirde 6 ay boyunca fluoresans şiddetinde anlamlı bir değişme olmadığı görülmüştür.

Polimerik fluoresans sensörün seçiciliğinin belirlenmesi için girişim yapabilecek çeşitli aflatoksin türevlerinin kabul edilebilir üst limitleri AFB_2 için $1,59\ x10^{-8}$ M (5 ppb) ve AFG_1 için $1,5\ x10^{-7}$ M (50 ppb) olarak bulunmuştur.

Geliştirdiğimiz sensörün gerçek örneklere uygulanabilirliği fındık, yer fıstığı ve soslu yer fıstığı gibi çeşitli tarımsal ürünlerde denenmiş olup HPLC sonuçlarıyla kıyaslandığında %0,43 - %12,10 hata aralığında sensörün gerçek örneklere uygulanabilir olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak geliştirdiğimiz yöntem seçiciliği yüksek, kolay hazırlanabilir analiz materyali, hızlı, hassas, güvenilir ve ekonomik bir yöntem olup bu alanda gerçekleştirilen sınırlı sayıdaki çalışmalara katkı sağlamakla birlikte alternatif olarak da bu konuda yapılacak diğer çalışmalara yol gösterici niteliktedir.

KAYNAKLAR

1 Food and Nutrition Paper (1990). Manuals pf Food Quality Control 10. Training in Mycotoxins Analysis, Food and Aqriculture Organization of the United Nations, Rome.

2 Mostrom M., (2016). Mycotoxins: Toxicology. Encyclopedia of Food and Health, 43-48.

3 Bennet J.W., Moore G.G., (2015). Mycotoxins, Reference Module in Biomedical Sciences.

4 Calleri, E., Marrubini, G., Brusotti, G., Massolini, G., Caccialanza, G. (2007). Development and İntegration of an İmmunoaffinity Monolithic Disk for the On-Line Solid-Phase Extraction and HPLC Determination with Fluorescence Detection of Aflatoxin B_1 in Aqueous Solutions. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 44, 396-403.

5 Chun, H.S., Kim, H.J., Ok, H.E., Hwang, J.B., Chung, D.H. (2007). Determination of Aflatoxin Levels in Nuts and their Products Consumed in South Korea. Food Chemistry, 102, 385-391.

6 Piletska, E., Karim, K., Coker, R., Piletsky, S. (2010). Development of the Custom Polymeric Materials Specific for Aflatoxin B_1 and Ochratoxin a for Application with the Toxiquant T1 Sensor Tool. Journal of Chromatography A, 2543-2547(1217).

7 Richard, J.L. (2007). Some Major Mycotoxins and their Mycotoxicoses-An Overview Int. J. Food Microbiol. 119, 3–10.

8 Carvajal, M., Rojo, F., Mendez, I., Bolanos, A. (2003). Aflatoxin B_1 and its İnterconverting Metabolite Aflatoxicol in Milk. Food Addit. Contamination, 20, 1077–1086.

9 Hasemi, M., Taherimaslak, Z., Rashidi, S. (2014). Enhanced Spectrofluorimetric Determination of Aflatoxin M_1 in Liquid Milk After Magnetic Solid Phase Extraction. Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 128, 589-590.

10 Tabari, M., Tabari, K., Tabari, O. (2012). Aflatoxin M_1 Determination in Yoghurt Produced in Guilan Province of Iran Using İmmunoaffinity Column and High-Performance Liquid Chromatography. Toxicology and Industrial Health, **29**, 72-76.

11 IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, (1993). *Food Items and Constituents Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins*, **56**, 245–395.

12 Stroka, J., Ankların, E., Jorissen, U., Gılbert, J. (2000). Immunoaffinity Column Cleanup with Liquid Chromatography Using Post-Column Bromination for Determination of Aflatoxins in Peanut Butter, Pistachio Paste, Fig Paste, and Paprika Powder. Journal of AOAC International, 83(2), 320-340.

13 Park, D.L., Ayala, C.E., Perez, S.E.G., Garcıa, R.L., Trujıllo, S. (2000). Algal, Fungal and Bacterial. Microbial Toxins in Foods.

14 Dall'asta, C., Ingletto, G., Corradını, R., Galaverna, G., Marchellı, R. (2003). Fluorescence Enhancement of Aflatoxins Using Native and Substituted Cyclodextrins. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 45, 257-263.

15 Maragos, C.M., Appell, M., Lippolis, V., Visconti, A., Catucci, L., Pascale, M. (2008). Use of Cyclodextrins as Modifiers of Fluorescence in the Detection of Mycotoxins. Food Additives and Contaminants, 25(2), 164-171.

16 Evren, M. (1999). Aflatoksinlerin Etki Şekilleri, Gıdalarda Bulunma Durumları ve Önleme Çareleri. O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, Samsun, Türkiye, 14, 2.

17 Aghamohammadi, M., Hashemi, J., Asadi Kram, G., Alizadeh, N. (2007). Enhanced Synchronous Spectrofluorimetric Determination of Aflatoxin B_1 in Pistachio Samples Using Multivariate Analysis. Analytica Chimica Acta, 582, 288-294.

18 *www.**tuik**.gov.tr/*

19 World Health Organization (1979). Environmental Health Criteria 11, Mycotoxins. Cenevre.

20 Şen, L., & Nas, S. (2010). Fındık ve Antep Fıstığının Mikotoksin Problemi. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, **5**, 49-56.

21 Carlson, M.A., Bergeron, C.B., Benson, R.C., Fraser, A.B., Phıllıps, T.E., Velky, J.T., Groopman, J.D., Strıckland, P.T., Ko, H.W. (2000). Automated biosensor for aflatoxin, Biosens. Bioelectron; 14, 841-848.

22 Ekonomi Bakanlığı İhracat Genel Müdürlüğü Tarım Ürünleri Daire Başkanlığı. (2014). Antepfıstığı. Sektör Raporları.

23 Şen, L., & Nas, S. (2010). Kuru İncir, Üzüm ve Kırmızıbiberlerde Mikotoksin Varlığı. Akademik Gıda, 24-32.

24 Ekonomi Bakanlığı İhracat Genel Müdürlüğü Tarım Ürünleri Daire Başkanlığı. (2014). Kuru İncir. Sektör Raporları.

25 http://www.canlibilimi.com/aflatoksinler-nedir.asp.

26 Egmond, V.H.P., Paulsch, W.E. (1986). Determination of mycotoxins. *Appl. Chem.*,**2**, 315-326.

27 Shıbamoto, T. (1998). Chromatographic analysis of environmental and food toxicants.

28 Bullerman, L.B. (1979). Significence of mycotoxins to food safety and human health. J. Food Protect.**42(1)**, 65–86.

29 Peraıca, M., Radıc, B., Ludc, A., Pavlovıc M. (1999). Toxic effects mycotoxins in human, Bull. Health Org., **77(9)**, 754-766.

30 Kardeş, E. (2000). türk silahlı kuvvetleri'ne bağlı birliklere alınan peynirlerde aflatoksin b1 ve m1 varlığının ve seviyelerinin saptanması, Yüksek Lisans Tezi, A.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

31 Balcı, F. (1998). Yüksek su aktivitesinde depolanan yerfıstıklarında aspergillus flavus gelişimi ve aflatoksin oluşumu üzerine depo şartlarının etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

32 Donma, M.M., Donma, O. (2005). Phytonutrients and children: the other side of the medallion, *Food Res. Int.*, **38**: 681–692.

33 WHO Environmental Health Criteria, (1979). Mycotoxins printed in the United Kingdom; 1-98.

34 Özçakmak, S., & Dervişoğlu, M. (2007). Fındıkta Aflatoksin Oluşumuna Etkili Faktörler, Avrupa Birliğinin Limit Değerlerle İlgili Düzenlemeleri ve Türk Fındığı İhracatına Etkileri. 33-40.

35 Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği, 29.12.2011-28157. http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/kodeks_yonetmelik/bulasanlar _yonetmelik.html, 12 Mayıs 2012.

36 Karaali, A. (1986). Gıdalarda Küf ve Mikotoksin Gelişmesini Önleyici ve Giderici Yöntemler ve Bunların Gıdalar Üzerine Etkileri, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Diyabet Yıllığı, 291, 29.

37 http://services.leatherheadfood.com/mycotoxins.

38 Stroka, J., Ankların, E. (2002) New Strategies for the Screening and Determination of Aflatoxins and the Detection of Aflatoxin-Producing Moulds in Food and Feed. Trends in Analytical Chemistry, 21(2), 90-94.

39 Trucksess, M.W., Stack, M.E., Nesheim, S., Albert, R.H., Romer, T.R. (1994). Multifunctional Column Coupled with Liquid Chromatography for Determination of Aflatoxins B_1, B_2, G_1 and G_2 in Corn, Almonds, Brazil Nuts, Peanuts and Pistachio Nuts. Journal of AOAC International, 77, 1512.

40 Zheng, M.Z., Richard, J.L., Binder, J. (2006). A review of Rapid Methods for the Analysis of Mycotoxins. Mycopathologia, 161, 261-273.

41 Aghamohammadi, M., Alizadeh, N. (2007). Fluorescence Enhancement of the Aflatoxin B1 by Forming İnclusion Complexes with some Cyclodextrins and Molecular Modeling Study. Journal of Luminescence, 127, 575-582.

42 Amadasi, A., Dall'asta, C., Ingletto, G., Pela, R., Marchelli, R., and Cozzini, P. (2007). Explaining Cyclodextrin–Mycotoxin İnteractions Using a 'Natural' Force Field. Bioorganic and Medicinal Chemistry, 15, 4585-4594.

43 Chiavaro, E., Dall'Asta, C., Galaverna, G., Biancardi, A., Gambarelli, E., Dossena, A., Marchelli, R. (2001). New Reversed-Phase Liquid Chromatographic Method to Detect Aflatoxins in Food and Feed with Cyclodextrins as Fluorescence Enhancers Added to the Eluent. Journal of Chromatography A, 937, 31-40.

44 Constantin, M., Bucatariu, S., Ascenzi, P., Simionescu, B.C., Fundueanu, G. (2014). Poly(NIPAAm-co-β-cyclodextrin) Microgels with Drug Hosting and Temperature-Dependent Delivery Properties. Reactive and Functional Polymers, 84, 1-9.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sümeyra KALYONCU
Doğum Yeri ve Tarihi : Fatih/1990
Yabancı Dili : İngilizce
E-Posta : smyr_klync17@hotmail.com

Öğrenim Durumu

Derece	Bölüm/Program	Üniversite/Lise	Mezuniyet Yılı
Lise	**Sayısal**	**Kemal Atatürk And. Lisesi**	**2007**
Üniversite	**Kimya**	**Sakarya Üniversitesi**	**2012**
Y. Lisans	**Analitik Kimya**	**Marmara Üniversitesi**	**2016**

KONGRE/SEMPOZYUM

KALYONCU S., ÇUBUK S., ERCAN Ö., YETİMOĞLU E.K., KAHRAMAN M.V. (2016). *Aflatoksin B_1 Analizi İçin Polimer Esaslı Optik Sensör Geliştirilmesi.* IV. Eser Analiz Kongresi. Sakarya, Türkiye.