T.C
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÜRETİM VE SAKLANMALARINDA FARKLILIK GÖSTEREN BİBER VE DOMATES SALÇALARINDA AFLATOKSİN MİKTARLARININ YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOGRAFİSİ VE ELISA YÖNTEMLERİ İLE TAYİNİ

LEYLA ÖNER

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK PROGRAMI

DANIŞMAN
PROF. DR. SEZGİN ÇELİK

İSTANBUL, 2018

T.C

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÜRETİM VE SAKLANMALARINDA FARKLILIK GÖSTEREN BİBER VE DOMATES SALÇALARINDA AFLATOKSİN MİKTARLARININ YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOGRAFİSİ VE ELISA YÖNTEMLERİ İLE TAYİNİ

Leyla ÖNER tarafından hazırlanan tez çalışması 19.06.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Sezgin ÇELİK

Yıldız Teknik Üniversitesi

Eş Danışman

Doç. Dr. Tülin ARASOĞLU

Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Sezgin ÇELİK

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Banu MANSUROĞLU

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin SERVİ

Altınbaş Üniversitesi _____

Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 877 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında, Türkiye'de fazla miktarda tüketilen domates ve biber salçalarındaki aflatoksin seviyelerinin ELISA ve HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) yöntemleriyle araştırılması ve karşılaştırılması amaçlanmıştır. Yapılan araştırmalar neticesinde aflatoksinle kontamine olmuş yiyeceklerin tüketimi ile karaciğer kanserinin görülme sıklığındaki artış arasında tespit edilen pozitif korelasyon nedeniyle Dünya Kanser Araştırma Merkezi (IARC)'nce; aflatoksin B1, grup I kanserojenler içinde değerlendirilmektedir. Araştırmalar göstermektedir ki; birçok gıdaya bulaşabilen ve halk sağlığını tehdit eden aflatoksin seviyelerinin belirlenmesi, bu çalışmanın önemini arttırmaktadır.

Tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda yardımını ve desteğini esirgemeyen tez danışman hocam Prof. Dr. Sezgin ÇELİK'e ve tez çalışmam sırasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, her zaman yardımcı olan eş danışman hocam Doç. Dr. Tülin ARASOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez çalışmam sürecinde yanımda olan aileme sonsuz teşekkürler.

Haziran, 2018

Leyla Öner

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KISALTMA LİSTESİ viii
ŞEKİL LİSTESİ x
ÇİZELGE LİSTESİ xi
ÖZET xii
ABSTRACT xiv
BÖLÜM 1
GİRİŞ 1
1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 2
1.3 Hipotez 2
BÖLÜM 2
FUNGUSLAR VE GENEL ÖZELLİKLERİ 4
2.1 Aspergillus Cinsinin Özellikleri 7
2.2 Mikotoksinler 7
2.3 Mikotoksinlerin İnsana Geçme Yolları 8
2.4 Mikotoksinlerin Çeşitleri 8
2.4.1 Okratoksinler 8
2.4.2 Zearalenonlar 9
2.4.3 Patulin 9
2.4.4 Trikotesenler 9
2.4.5 Fumonisinler 10
2.4.6 Aflatoksinler 10
2.4.6.1 Aflatoksinlerin kimyasal yapıları 11
2.4.6.2 Aflatoksin oluşumuna neden olan etmenler 12
2.4.6.3 Aflatoksinlerin bulunduğu gıdalar 13
2.4.6.4 Aflatoksinlerin insan sağlığına etkileri 14
2.4.6.5 Aflatoksinlerin mekanizması 18
2.4.6.6 Aflatoksinden arındırma işlemleri 18
2.4.6.7 Aflatoksin analiz yöntemleri 19
2.4.6.7.1 ELISA yöntemi 20
2.4.6.7.2 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi 21

2.4.6.8 Gıdalarda sınır değerler 22
2.5 Dünyada ve Türkiye'de Salça Tüketimi 25
2.6 Salçalarda Aflatoksin Riski 26

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT 27

3.1 Materyal 27
3.1.1 Örneklerin Toplanması 27
3.1.2 Örneklerin Saklanması ve Etiketlenmesi 28
3.1.3 Örneklerin Toplandığı Yerlerin Listesi 29
3.2 Analiz Metotları 32
3.2.1 ELISA Yöntemi 32
3.2.1.1 Kullanılan kimyasallar ve araçlar 32
3.2.1.2 Örneklerin hazırlanması (Ekstraksiyon hazırlama) 32
3.2.1.3 Analiz 34
3.2.1.4 Sonuçların yorumlanması 38
3.2.2 HPLC Yöntemi 39
3.2.2.1 Kullanılan alet ve ekipmanlar 39
3.2.2.2 Kullanılan kimyasallar 39
3.2.2.3 Çözeltiler 40
3.2.2.4 Aflatoksin karışımı referans standart ara stok /2. Düzey stok standart çözeltileri 40
3.2.2.5 Aflatoksin karışım (mix)- 3. Düzey stok standart, Kalibrasyon – Günlük çalışma çözeltileri 40
3.2.2.6 Ekstraksiyon 41
3.2.2.7 İmmunoaffiniti kolon kromatografisi 42
3.2.2.8 HPLC çalışma aşaması ve kolon sonrası türevlendirme 42
3.2.2.9 Hesaplama 42
3.2.2.10 Kullanılan HPLC cihazı 43
3.3 İstatistiksel Veriler 43

BÖLÜM 4

DENEYSEL SONUÇLAR 44

Analiz Sonuçları 44

4.1 ELISA Metodu 44
4.1.1 ELISA Metodu Toplam Aflatoksin Çalışma Standartlarının Ortalaması 45
4.1.2 ELISA Metodu Toplam Aflatoksin Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması 46
4.1.3 ELISA Metodu Toplam Aflatoksin Sonuçları 46
4.1.4 ELISA Metodu Aflatoksin B1 Çalışma Standartlarının Ortalaması 50
4.1.5 ELISA Metodu Aflatoksin B1 Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması 51
4.1.6 ELISA Metodu Aflatoksin B1 Sonuçları 51
4.1.6.1 ELISA metodu toplam aflatoksin geri kazanım çalışması 53
4.2 HPLC Metodu Sonuçları 54
4.2.1 HPLC Metodu Toplam Aflatoksin Sonuçları 54
4.2.2 HPLC Metodu Aflatoksin B1 Sonuçları 56
4.3 ELISA ve HPLC Sonuçlarının Karşılaştırılması 58
4.4 İstatistiksel Veriler 62

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER 63

KAYNAKLAR 69
EK- A
ELISA VE HPLC SONUÇLARININ TABLO HALİNDE GÖSTERİMİ 73
EK- B
TÜRK GIDA KODEKSİ BULAŞANLAR YÖNETMELİĞİ 78
ÖZGEÇMİŞ 94

KISALTMA LİSTESİ

AFB1	Aflatoksin B1
AFB2	Aflatoksin B2
AFG1	Aflatoksin G1
AFG2	Aflatoksin G2
AFM1	Aflatoksin M1
AFM2	Aflatoksin M2
DMSO	Dimetilsülfoksid
ELISA	Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay
FAO	Food and Agriculture Organization
FB1	Fumonisin B1
FPIA	Flouresans Polarization Immunoassay
H_2O_2	Hidrojen peroksit
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IAK	Immunoafinite Kolon
IARC	International Agency for Research on Cancer
kg	Kilogram
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
µl	Mikrolitre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
NaCl	Sodyum klorür
NH_3	Amonyak
ng	Nanogram
nm	Nanometre
PBS	Phosphate Buffer Saline
ppb	Parts per billion
RIA	Radio Immunoabsorbent Assay
rpm	Revolutions per minute (Dakikada devir sayısı)
SO_2	Kükürt dioksit
O_3	Ozon
OD	Optik Dansite
OH^-	Hidroksit

OTA	Okratoksin A
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TLC	Thin Layer Chromatography
UNICEF	United Nations International Children’s Emergency Fund
UV	Ultra Viyole
WHO	World Health Organization
ZON	Zearalenon

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 Tarımsal ürünlerde ve gıdalarda sık görülen funguslar 6
Şekil 2.1 Aspergillus cinsinin mikroskopta görünümü 7
Şekil 2.2 Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapıları 12
Şekil 3.1 İstanbul ili semt pazarlarında satışa sunulan domates ve biber salçaları 27
Şekil 3.2 Semt pazarlarından elde edilen örneklerden bazıları 28
Şekil 3.3 Örneklerin 3.500 rpm de 5 dk santrifüj yapılmış şekli 33
Şekil 3.4 Örneklerden santrifüjden sonra sıvı bölümden alınan kısımlar 33
Şekil 3.5 Örneklerin 1:10 oranında yıkama tamponu ile seyreltilmiş hali 34
Şekil 3.6 Standart ve örneklerin karıştırma kuyucuklarından antikor kaplı kuyucuklara aktarılması 35
Şekil 3.7 Aflatoksin HPR-bağlayıcısı (conjugate), antikor kaplı çukurcuklara eklenmesi.36
Şekil 3.8 Standart ve örneklere substrat solüsyonu eklenmesi 36
Şekil 3.9 Standart ve örneklere stop solüsyonu eklenmesi 37
Şekil 3.10 Standart ve 27-36. örneklerin 450 nm filtreyle ELISA cihazında okunması ... 37
Şekil 3.11 Kullanılan ELISA cihazı (Power Wave XS2) 38
Şekil 3.12 Agilent 1100 serisi HPLC cihazı 43
Şekil 4.1 ELISA metodu toplam aflatoksin kalibrasyon eğrisi 46
Şekil 4.2 ELISA metodu toplam aflatoksin içeren ve içermeyen örneklerin yüzdeleri.. 50
Şekil 4.3 ELISA metodu aflatoksin B1 kalibrasyon eğrisi 51
Şekil 4.4 ELISA metodu aflatoksin B1 içeren ve içermeyen örneklerin yüzdeleri 53
Şekil 4.5 HPLC metodu toplam aflatoksin içeren ve içermeyen örneklerin yüzdeleri .. 56
Şekil 4.6 HPLC metodu aflatoksin B1 içeren ve içermeyen örneklerin yüzdeleri 58
Şekil 4.7 ELISA ve HPLC'de toplam aflatoksin ve AFB1 değerleri arasındaki farklılıklar 61
Şekil 4.8 ELISA ve HPLC 'de AFB1 ve toplam aflatoksin (ppb) 62

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 Bazı ülkelerde karaciğer kanseri ve aflatoksin tüketimi arasındaki ilişki 15
Çizelge 2.2 Gıdalarla aflatoksine maruz kalan kişilerde karaciğer hastalık raporları ... 17
Çizelge 2.3 Türk Gıda Kodeksi'ne göre aflatoksinlerle bulaşık bazı gıdaların maksimum limit değerleri 23
Çizelge 2.4 Çeşitli Ülkelerde Gıdalardaki Maksimum Aflatoksin Limitleri 24
Çizelge 3.1 İstanbul'da bazı semt pazarlarından elde edilen örneklerin yer, tarih ve tür listesi 29
Çizelge 3.2 Çalışma- Kalibrasyon Standartları Hazırlama Tablosu 41
Çizelge 4.1 Çalışma standart eğrisi için kullanılan kit verileri 44
Çizelge 4.2 Standartların %B/B0 oranına karşılık gelen ppb değerleri 45
Çizelge 4.3 ELISA metodu toplam aflatoksin çalışılan standartların ortalaması 45
Çizelge 4.4 ELISA metodu toplam aflatoksin sonuçları 47
Çizelge 4.5 ELISA metodu aflatoksin B1 için çalışılan standartların ortalaması 50
Çizelge 4.6 ELISA metodu aflatoksin B1 sonuçları 52
Çizelge 4.7 ELISA metodu toplam aflatoksin geri kazanım sonuçları 53
Çizelge 4.8 HPLC metodu toplam aflatoksin değerleri 54
Çizelge 4.9 HPLC metodu aflatoksin B1 değerleri 56
Çizelge 4.10 ELISA ve HPLC yöntemlerinde toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) ile kontamine olmuş örneklerin sayılarının karşılaştırılması 59
Çizelge 4.11 ELISA ve HPLC yöntemlerinde aflatoksin B1 (AFB1) ile kontamine olmuş örneklerin sayılarının karşılaştırılması 59
Çizelge 4.12 ELISA ve HPLC pozitif çıkan sonuçlar arasındaki farklılıklar 60

ÖZET

ÜRETİM VE SAKLANMALARINDA FARKLILIK GÖSTEREN BİBER VE DOMATES SALÇALARINDA AFLATOKSİN MİKTARLARININ YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOGRAFİSİ VE ELISA YÖNTEMLERİ İLE TAYİNİ

Leyla ÖNER

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sezgin ÇELİK

Eş Danışman: Doç. Dr. Tülin ARASOĞLU

Bu çalışmanın amacı İstanbul ilinde semt pazarlarında satılan domates ve biber salçalarındaki toplam aflatoksin ve aflatoksin B1 miktarlarını ölçmek ve aflatoksin konsantrasyonunun standartlarının içinde olup olmadığı ve halk sağlığını tehlikeye sokacak seviyelerde olup olmadığını değerlendirmektir.

Bu amaçla İstanbul ilinin bazı ilçelerinin semt pazarlarından 34 adet domates salçası ve 53 adet biber salçası olmak üzere toplam 87 adet örnek temin edilmiş olup, üretim ve saklanmalarında farklılık gösteren domates ve biber salçalarında toplam aflatoksin ve aflatoksin B1 miktarlarının tayini amaçlanmıştır.

Aflatoksin miktarlarının saptanmasında HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ve ELISA yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen bulgulara göre ELISA yöntemi ile analizi yapılan 87 örneğin % 44,82'sinde toplam aflatoksin (35 örnekte 1 ppb, 4 örnekte 1-2,5 ppb) ve bunun % 53,85'inde ise AFB1 (1 ppb) tespit edilmiştir. HPLC yöntemi ile analiz yapılan toplam 64 örneğin % 32,81 'inde toplam aflatoksin (0,21-2,34 ppb değerleri arasında) , %25'inde ise AFB_1 (0,22-2,34 ppb değerleri arasında) varlığı tespit edilmiştir.

HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) ve ELISA yöntemi sonuçları arasında anlamlı farklılığın olduğu belirlenmiştir.

Her iki yöntemde de toplam aflatoksin ve aflatoksin B1 düzeylerinin Türk Gıda Kodeksi (TGK) sınır değerleri içinde olduğu ve halk sağlığı açısından herhangi bir tehlike içermediği saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Toplam aflatoksin, aflatoksin B1, Salça örnekleri, ELISA, HPLC.

ABSTRACT

DETERMINATION BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY AND ELISA METHODS OF THE AMOUNT AFLATOXINS OF PEPPER AND TOMATOES PASTE WHICH ARE DIFFERENT IN PRODUCTION AND STORAGE

Leyla ÖNER

Department of Molecular Biology and Genetics

Msc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Sezgin ÇELİK

Co Adviser: Assoc. Prof. Dr. Tülin ARASOĞLU

The purpose of this study is to measure the amounts of total aflatoxin and aflatoxin B1 in tomato and pepper paste sold in farmer's markets in Istanbul and to evaluate whether aflatoxin concentration is within the standards and whether it will put public health in danger.

A total of 87 samples including 34 tomato paste and 53 pepper paste were obtained from the farmer's markets of some of the provinces of Istanbul and the total amount of total aflatoxin and aflatoxin B1 was determined in tomato and pepper paste which differed in production and storage.

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) and ELISA method were used to determine aflatoxin quantities. According to the findings, were detected total aflatoxin (1 ppb in 35 samples, 1-2,5 ppb in 4 samples) and AFB1 (1 ppb) in 53.85% of the 87 samples analyzed by ELISA method. A total of 64 samples were found to contain total aflatoxin (between 0.21-2.34 ppb) at 32.81% and AFB1 (between 0.22-2.34 ppb) at 25% analyzed by HPLC method.

It has been determined that there is a significant differences between the results of HPLC (High Performance Liquid Chromatography) and ELISA method.

In both methods, it was determined that total aflatoxin and aflatoxin B1 levels were within the limits of Turkish Food Codex (TFC) and that they did not present any danger in terms of public health.

Keywords: Total aflatoxin, aflatoxin B1, paste samples, ELISA, HPLC.

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Günlük yaşantımızda sık rastlanılan ve hemen hemen her çeşit gıda maddesinde üreyebilen küfler, son yıllarda üzerinde önemle durulan bir araştırma konusu olmuştur. Küfler için uygun koşullar oluştuğunda ham ve işlenmiş gıdalarda çoğalarak bir yandan ürünün kalite ve kantitesini değiştirip bozulmasına sebep olmakta diğer yandan da insan sağlığına zararlı toksik maddeler oluşturmaktadır. Funguslar (küfler) geniş bir grup olup, bu organizmalar bitki, hayvan ve insanlarda birçok hastalığa neden olduğu gibi ayrıca her yıl tarımsal ürünlerin büyük bir çoğunluğunu da kayba uğratmaktadırlar [1].

Aflatoksinler, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* küflerinin sekonder metabolitleridir. Ultraviyole ışık altında mavi floresans verenler aflatoksin B1 (AFB_1) ve aflatoksin B2 (AFB_2), yeşil floresans verenler ise aflatoksin G1 (AFG_1) ve aflatoksin G2 (AFG_2) olarak adlandırılır [2]. Bu aflatoksin çeşitleri, oluşturdukları toksik etki gücüne AFB1>AFG1>AFB2>AFG2 şeklinde sıralanır [2].

AFB1, Dünya Kanser Araştırma Merkezince (IARC), kanserojen sınıfında yer alan ve sınıflandırılan aflatoksin türüdür [3]. Bu toksinler, insan ve hayvan sağlığı üzerinde karsinojenik, teratojenik ve mutajenik etkilere sebep olabilirler [2].

Bu mantarların belirli besinlerde gelişerek, aflatoksin üretmesi sonucu insan ve hayvanlarda hastalıklara ve ölüme neden olabilir, bu sebeple halk sağlığını önemli derecede tehdit etmektedir.

Türkiye'de, süt ürünleri, yer fıstığı, diğer kabuklu kuru yemişler, kurutulmuş meyveler, incir, susam, tahıllar (özellikle mısır) ve bazı baharatlarda aflatoksin bulunduğu araştırıldı. Ayrıca bebek mamalarında ve anne sütünde aflatoksin bulunduğu raporlandı [3].

Dünya da ve Türkiye de çeşitli şekillerde mutfaktan ilaçlara kadar giren işlenmiş ve yarı işlenmiş olarak tüketilen kırmızıbiber ayrıca salçalık olarak da üretilmektedir [4].

Türkiye'de geleneksel besin olan biber salçası, genellikle açık havada güneş altında üretilir. Domates salçası da biber salçası gibi aynı yolla üretilir. Biber salçası Türk mutfağında önemlidir ve çoğunlukla tüketilmektedir. Hatalı üretim işleminde, kurutma aşamasında ve kötü depolama koşulları sonucunda büyük oranda mikrobiyal kontaminasyona maruz kalır, kurutulma işlemi açık havada olduğundan uygun olmayan koşullara bağlı olarak aflatoksin oluşmasına neden olur. Kırmızıbiberden biber sosu da yapıldığından AFB1 riski, kırmızı pul biber ve biber salçası dışında biber sosunu da kapsamaktadır.

Avrupa ülkelerinde kırmızıbiber ve ürünlerinde AFB1 maksimum düzeyi 5 ppb (µg/kg)'yi aşmamaktadır. Türkiye'de Türk Gıda Kodeksi (TGK)'ne göre salçada AFB_1 düzeyi 5 ppb'nin üzerinde olamaz. Hammadde riskine bağlı olarak AFB_1 için TGK'nin kabul edilen değeridir [3].

1.2 Tezin Amacı

Bu çalışmada, Türkiye'de İstanbul ilinde semt pazarlarından toplanan, üretim ve saklanmalarında farklılık gösteren biber ve domates salçalarında aflatoksin seviyelerinin ELISA ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemleriyle incelenmesi, sonuçlarının karşılaştırılması ve TGK'nin maksimum limit seviyelerinin içinde olup olmadığını belirlemektir.

1.3 Hipotez

Çalışmanın birinci hipotezi, HPLC ve ELISA metoduyla incelenen biber ve domates salçalarının Türk Gıda Kodeksi (TGK) maksimum limit değerlerinin üzerinde olup olmadığının belirlenmesidir.

İkinci hipotez, HPLC ve ELISA metodu birbirinden farklı metotlardır. Bu nedenle ELISA ve HPLC metotları ile incelenen toplam aflatoksin ve aflatoksin B1'in tespitinde anlamlı bir farklılığın olup olmadığının belirlenmesidir.

BÖLÜM 2

FUNGUSLAR VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Funguslar; fotosentetik olmayan, geniş dağılıma sahip ökaryotik canlılardır. Mantar hücreleri membran zarıyla çevrili nukleusa ve membran zarıyla çevrili sitoplazmik organellere sahiptirler. Funguslar karakteristik olarak uç kısımlarından uzama gösteren hif denilen filamentöz yapı sayesinde gelişirler. Bu hiflerin uç kısımlarından birleşerek oluşturduğu ağsı yapıya misel denir.

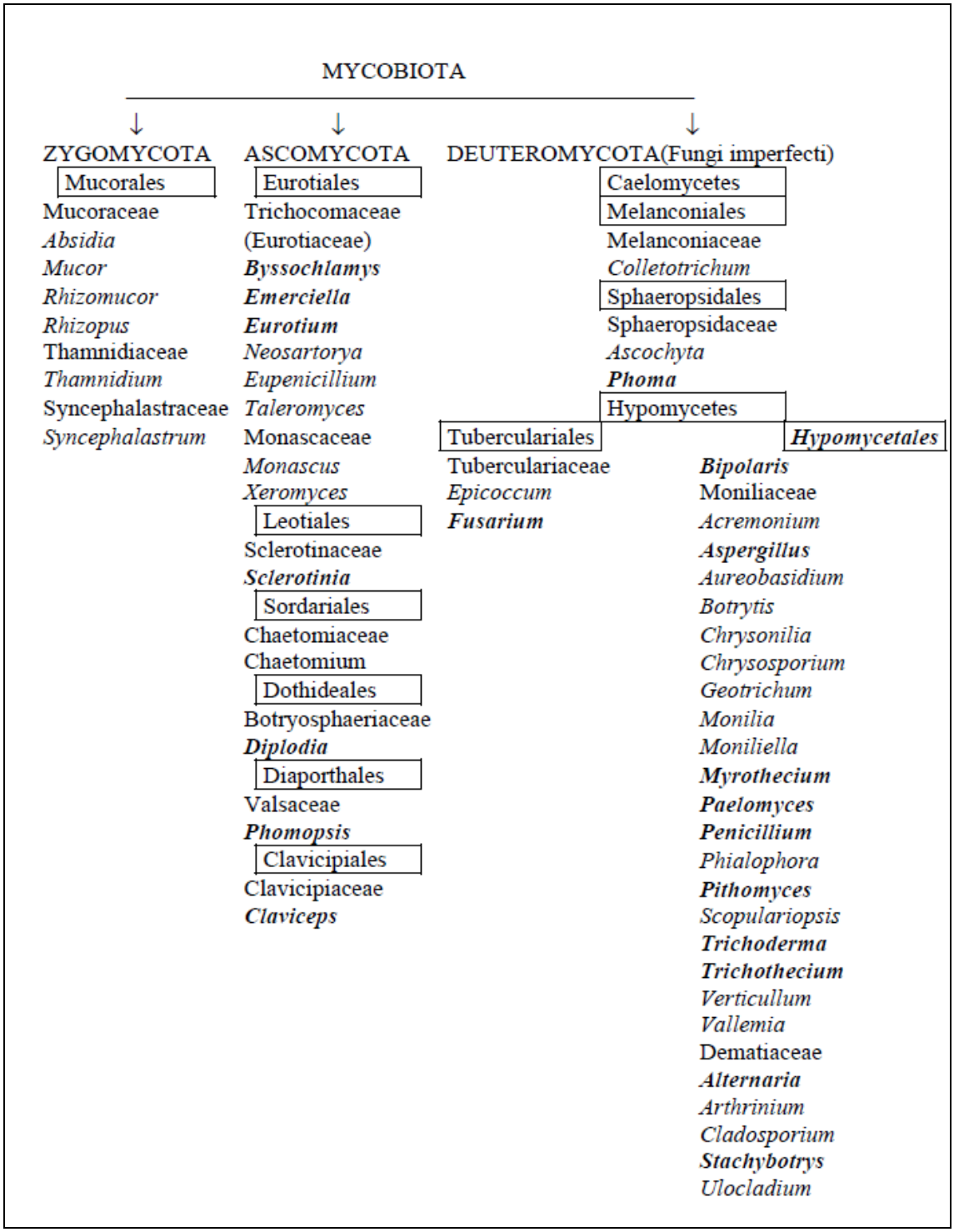
Funguslar heterotrof canlılardır. Hücre sentezi için karbon ve enerji ihtiyaçlarını önceden oluşturulmuş karbon kaynaklarından karşılar. Hücre duvarına sahip olması sebebiyle fagositoz yoluyla besin alamazlar. Bu nedenle basit absorbsiyon yoluyla hücre duvarı ve hücre zarında çözünebilen maddeleri doğrudan alır. Funguslar genellikle hiflerde üretilen salgı enzimleri sayesinde depolimerizasyonu gerçekleştirerek kompleks moleküllerin basit moleküllere dönüşmesini sağlar.

Mantarlar genellikle hücre duvarlarında glukan (ağırlıklı olarak β-1,3 ve β-1,6) ve kitin maddelerini bulundurur. Bazı mantarların hücre duvarında kısa uzunluklarda selülozun varlığı tespit edilmiştir, fakat selülozca zengin değildir. Bu mantarların bitkilerden ayırt edilmesini sağlar.

Mantarları diğer ökaryotik canlılardan ayıran en önemli özellik, genellikle haploid nükleusa sahip olmalarıdır. Fakat bazı tomurcuklanma yoluyla çoğalan mayalar diploid nüklusa sahiptir. Mantarlar eşeyli ve eşeysiz çoğalabilirler. Çoğunlukla spor üreterek çoğalırlar. Fungal sporların şekil, büyüklük ve diğer özellikleri farlılık gösterir [5].

Hemen her ortamda yaşayabilen küfler, toprakta, soluduğumuz havada, içtiğimiz sularda sporları bulunabilir. Aynı zamanda taze meyve ve sebzelerde de uygun beslenme ortamı oluşturmaktadır [6]. Gıdalar üretim, depolama, işleme, saklama ve tüketim aşamalarında küflerle kontamine olabilmektedir [6]. Funguslar, gıdalarda protein, yağ ve karbonhidratların enzimatik yollarla parçalanmasına gıdanın dokusunun değişmesine, besinin yağ içeriğinin azalmasına, serbest yağ asidi miktarının artmasına, proteinlerin parçalanmasına, aminoasitlerin bileşiminde değişime, renginin ve tadının değişmesine, kötü koku oluşumuna ve ağırlık kaybına neden olmaktadır [6].

Gıdalarda ve yemlerde bulunan flamentli funguslar (hifli funguslar) denildiğinde taksonomide Mycobiota (funguslar alemi) içinde Zygomycota, Ascomycota, Deuteromycota bölümleri altında değerlendirilen değişik cins ve türdeki funguslar akla gelmektedir. Şekil 2.1'deki koyu renkli verilen funguslar en önemli mikotoksin (Küflerin ürettiği toksik etki gösteren sekonder metabolitler) üreticileridir Mikotoksin üreten en önemli türler; Deuteromycota (Fungi imperfecti) içinde Hypomycetes sınıfında yer alan *Aspergillus, Penicillium, Alternaria* ve *Fusarium* cinsleridir [7].



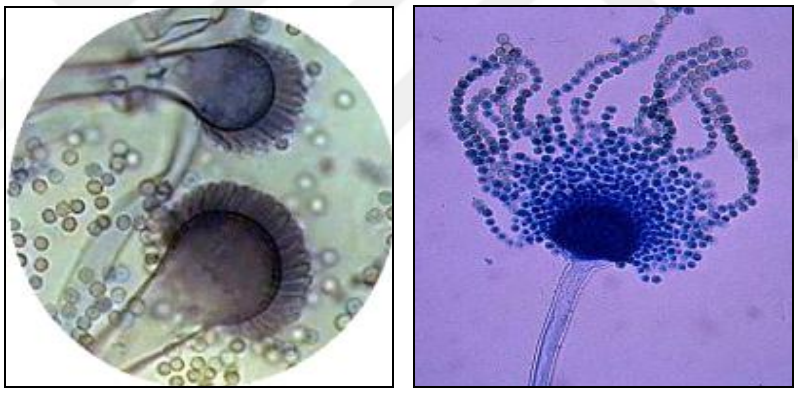
Şekil 2.1 Tarımsal ürünlerde ve gıdalarda sık görülen funguslar [7].

2.1 *Aspergillus* Cinsinin Özellikleri

Aspergillus türleri, mantarlar âleminin Moniliaceae ailesi, Hyphomycetes sınıfı içinde bulunur. Doğada, toprakta ve çürümüş bitkiler üzerinde yaygın olarak bulunurlar [6].

Aspergillus türlerinin mikroskop görünümünde hifleri bölmeli, iyi gelişmiş bir taban hücresi üzerinde düzgün kenarlı ve dik konidiyoforları, apikal kısmında genişleme yapmakta ve dallanma göstermemektedir. Konidiyumları (sporları) tek hücreli ve hidrobiktir [6]. *Aspergillus* kolonileri, türe ve fungusun ürediği besine bağlı olarak kahverengi, siyah, sarı ve yeşil renkte görünebilirler. Koloni rengi tanımlama *Aspergillus* türlerini tanımlamada önemli bir kriterdir [6].

Aspergillus; mezofilik karakterli olup 6-8 °C'den 50-60 °C 'ye kadar gelişebilirler. Optimum gelişme gösterdikleri sıcaklık aralığı 35-38 °C' dir. 10-13 °C sıcaklıkların altında ve 41-42 °C sıcaklıkların üzerinde aflatoksin oluşumu azalır. En yüksek toksin oluşumu ise 25-30 °C sıcaklıkta görülür [1], [8].



Şekil 2.3 Aspergillus cinsinin mikroskopta görünümü [6].

2.2 Mikotoksinler

Mikotoksinler; *Aspergillus, Penicillium, Alternaria* ve *Fusarium* cinslerine mensup funguslar tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir ve çeşitli tarımsal ürünlerde hasat öncesinde ya da hasattan sonraki herhangi bir aşamasında oluşabilirler [9], [2], [10]. Olumsuz şartlara maruz kalmış ve toksijenik küf gelişimi sonucu mikotoksin oluşumu gerçekleşmiş tarımsal ürünler tüketildiğinde insan ve hayvanlarda toksik etkiler oluşabilmektedir. "Mikotoksikozis" denilen mikotoksin oluşmuş gıda ve yemlerin tüketilmesiyle ortaya çıkan hastalıklar bu etkiler arasındadır [11]. Gıda ve yem

maddelerindeki mikotoksin oluşumu hem hayvan hem de insan sağlığını tehdit etmektedir [12]. Birleşmiş Milletler Gıda ve Ziraat Örgütü (FAO) dünya gıda ürünlerinin her yıl en az %25'inin mikotoksinler tarafından etkilendiğini rapor etmiştir [13], [14]. Kimyasal yapısı bilinen ilk mikotoksin çeşidi, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* türleri tarafından oluşturulan "Aflatoksin"dir [1].

2.3 Mikotoksinlerin İnsana Geçme Yolları

Mikotoksinlerin insanlara geçiş yolu primer ve sekonder olarak ikiye ayrılmaktadır [6].

Primer mikotoksikoz, insanlar ve hayvanların doğrudan mikotoksin ile bulaşmış gıda ve yem maddelerini tüketmesiyle oluşmaktadır. Sekonder mikotoksikoz ise, mikotoksin bulaşmış yem ile beslenen hayvanların et, süt ve yumurta gibi ürünlerine bu toksinler geçmesiyle ve bu hayvansal gıdaların tüketimi ile mikotoksinin dolaylı olarak insanlara geçmesine denir [6].

2.4 Mikotoksinlerin Çeşitleri

Günümüzde 300 civarında mikotoksin izole edilip tanımlanmış fakat gıda ve yemlerde bunların yaklaşık 20 tanesine sıkça ve önemli miktarlarda rastlanılmaktadır [15], [16]. En sık karşılaşılan mikotoksinler; aflatoksinler, okratoksin, trikotesen, zearelenon, patulin, fumonisin olarak sıralanabilir [2].

İnsanlar sağlığı açısından en çok risk oluşturan mikotoksinlerin başında aflatoksinler gelmektedir [6].

2.4.1 Okratoksinler

Okratoksinler; *Aspergillus ochraceus, A. melleus, A. alliaceus, A. ostanus, A. sclerotorium, A. albertensis, A. wentii, A. auricomus, A. niger* var. *niger, A. sulphureus* ve *P. viridicatum* mantarları tarafından üretilen mikotoksin türüdür. Okratoksin A (OTA), doğada sık bulunan ve patolojik durumlara neden olan önemli bir okratoksindir [17]. İlk kez 1965'te *Aspergillus ochraceus* türünün sekonder metaboliti olarak tespit edilmiştir [18]. Bulgaristan, Yunanistan ve Romanya gibi bazı Balkan ülkelerinde, OTA'nın, "Balkan Endemik Nefropatisi"olarak adlandırılan öldürücü böbrek

hastalıklarına ve aynı zamanda üriner bölgede çeşitli tümörlere neden olduğu bilinmektedir [19].

2.4.2 Zearalenonlar

Zearalenonlar (ZON); *Fusarium graminearum* türü tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir. Mısır, arpa, yulaf, buğday gibi gıdalarda bol miktarda bulunduğu saptanmıştır [6], [17], [18], [20]. Zearalenonlar, diğer mikotoksinlere göre daha düşük akut toksisitesinin yanında çoğu hayvan türünde belirgin östrojenik ve anabolik etkileri olduğu bilinmektedir [17].

2.4.3 Patulin

Patulin; *Aspergillus clavatus*, *Penicillium expansum*, *Penicillium patulum* türleri başta olmak üzere birçok *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsleri tarafından üretilmektedir [17].

Penicillium expansum, elmalarda çokça rastlanan bir mikrorganizmadır. Patulin esas olarak elma, elma suyu, elma suyu konsantresi, elma reçeli ve şekerlemesi gibi ürünlerde bulunur. Aynı zamanda armut, kayısı, şeftali, domates, portakal ve bu meyvelerden elde edilen ürünlerde de bulanabilmektedir [17].

2.4.4 Trikotesenler

Trikotesenler; *Fusarium*, *Stachybotry*, *Trichothecium*, *Kerticimosporium, Cephalosporium, Cylindrocarpen* mantarlarının sekonder metabolitleridir ve bu mantarlar diğer mikotoksinler gibi belirli sıcaklık ve nemin olduğu ortamlarda gelişirler [2]. Bu mikotoksinler mısır başta olmak üzere; taze fasulye, bezelye ve pirinçte bulunurlar [20].

Birçok trikotesen hem mikotoksik hem de zootoksik ajanlardır. Bazı trikotesenler ise antifungal, antiviral ve antibakteriyeldir. Ciltte yanma, kaşıntı, şişlik, kuruma, çatlama, pul pul dökülme; ayrıca enterit, kusma, oral ve gastroenterik nekroz gibi toksisite belirtileri gösterebilirler [17]. Trikotesenler, belirli miktarın üzerinde alınması zehirlenmeye neden olduğundan kolaylıkla tanımlanmaktadırlar. Bu nedenle alınan

trikotesen miktarına ve alım süresine bağlı olarak sindirim sistemi hastalıklarına, ödem, kanamalara ve kemik iliğinde yapısal bozukluklara sebep olmaktadır [20].

2.4.5 Fumonisinler

Fumonisinler; *Fusarium maniliforme* ve *F. proliferatum* gibi dünyada çok yaygın görülen küfler tarafından üretilen mikotoksinlerdir. Fumonisinler, lökoensefalomalazi olarak bilinen hastalığın yıllarca araştırılması sonucu bulunmuştur. Yaklaşık 10 tane kadar tipi tanımlanmıştır, bunlar arasında en çok bilineni fumonisin B1 (FB1)'dir [2].

Fusarium maniliforme, F. proliferatum ve *F. nygamai'*yi de içinde bulundurduğu *Fusarium* türleri mısır, mısır içeren gıdalarda dünyanın genelinde yaygın olarak bulunmuştur [2]. Fumonisin B1, mısırda en yaygın olarak bulunan doğal kontaminanttır. "Grup IIB"karsinojen sınıfında yer alan FB1'in sıçanlarda hepatotoksik, hepatokarsinojenik, nefrotoksik olduğu belirlenmiştir [2]. Hayvanlarda pek çok hastalığa ve insanlarda da ösafagal kansere sebep oldukları tespit edilmiştir [2], [21].

Toksik ve kanserojen etkisi olan fumonisinler, ısıya dayanıklı mikotoksinlerdir. Bu nedenle insan sağlığı açısından potansiyel risk taşımaktadırlar [21].

2.4.6 Aflatoksinler

Aflatoksinler (AF), *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* küflerinin sekonder metabolitleridir [2], [22], [23]. *Aspergillus flavus, Aspergillus parasiticus, Aspergillus nomius ve Aspergillus flavus*'un iki alt suşu *A. flavus* var. *columnaris* ile *A.parasiticus* var. *globosus* tarafından üretilen aflatoksinler, toksisitesi yüksek olan mikotoksinler arasında yer almaktadır. Bunların karsinojenik, teratojenik ve mutajenik özellikleri ortaya konmuştur [15], [24], [25]. Aflatoksinlerin başlıcaları; B1, B2, G1, G2, M1 ve M2'dir. Bunların ilk dördü değişik oranlarda olmak üzere genellikle birlikte bulunurlar. İçlerinde en yaygın ve toksik olanı aflatoksin B1'dir. Aflatoksin B1 (AFB1) birçok hayvan türünde en etkili hepatokarsinojendir [12]. 20 farklı aflatoksin türü tanımlanmış olmasına rağmen tarımsal ürünlerde en sık rastlanan aflatoksinler AFB1, AFB2, AFG1, AFG2'dir [26]. Ultraviyole ışık altında mavi floresans verenler AFB_1 ve AFB_2, yeşil floresans verenler ise AFG1 ve AFG2 olarak adlandırılır. AFB1 ve AFB2 içeren yemlerle

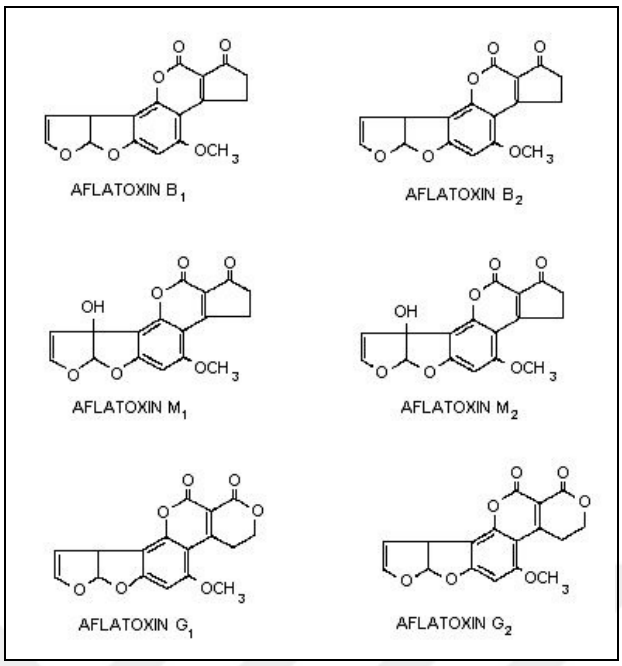
beslenen ineklerin sütünde rastlanan, ana moleküle benzer fakat daha az biyolojik etki gösteren türevler ise AFM1 ve AFM2'olarak adlandırılmaktadır. Oluşturdukları toksik etki gücüne göre sıralama AFB1>AFG1>AFB2>AFG2 şeklindedir [2].

Aflatoksinler çeşitli mantarlar tarafından üretilen insan ve hayvanlar tarafından yenildiklerinde akut, subakut ve kronik nitelikte zehirlenmelere yol açan açabilen maddelerdir. Aflatoksinler, insanlarda karaciğer kanseri oluşturma potansiyeli en fazla olan maddelerdir [27], [28], [29]. Asya ve Afrika'daki birçok ülkede aflatoksinle kontamine olmuş yiyeceklerin tüketimi ile karaciğer kanserinin görülme sıklığındaki artış arasındaki pozitif korelasyon nedeniyle Uluslararası Kanser Araştırma Örgütü (IARC) tarafından grup 1A kanserojenler sınıfına dahil edilmiştir [15]. Aflatoksinler karaciğer kanseri dışında immün sistemi baskılama, protein metabolizmasında bozulmaya yol açma gibi birçok önemli zehirli etkileri de bulunmaktadır [27], [30].

Aflatoksin üreten mantarlar tarımsal ürünlerin ve çeşitli gıda maddelerinin florasında yer alabilmekte veya değişik şekillerde bu ürünlere bulaşabilmekte; gelişmeleri için uygun koşullar oluştuğunda tarım ürünlerinde ve gıda maddelerinde bozulmayla birlikte aflatoksin oluşumuna neden olmaktadır [31].

2.4.6.1 Aflatoksinlerin kimyasal yapıları

Aflatoksinlerin kimyasal yapısı, bifuran halkası lakton bağlantısı bulunan yüksek yapılı kumarin bileşiklerdir. Difuranokumarin olarak bilinmektedirler (Şekil2.3). Renksiz veya sarımsı, iğne şeklinde kristal yapıya sahiptir [6], [32].



Şekil 2.4 Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapıları [6], [17], [33].

2.4.6.2 Aflatoksin oluşumuna neden olan etmenler

Aflatoksinlerin oluşması bazı çevresel etmenlere bağlı olarak kontaminasyonun miktarı, coğrafi yerleşime, tarımsal çalışmalara, hasat, depolama ve işleme sürelerine göre değişebilir [6], [34].

Aflatoksin çoğunlukla hasat öncesinde tarlada ekinlerde oluşabilir. Ekinin kurutulması aksatılırsa ve depolama sırasında küf gelişimi için su miktarının sınır değeri aşılırsa hasat sonrasında kontaminasyon görülür. Ürün nemi, kurutma hızı, ortamın nisbi rutubeti, sıcaklık, ortamda bulunan fungus veya sporların yoğunluğu, gelişen türlerin toksin oluşturma güçleri, mikroorganizmalar arası rekabet, ürünün direnci, böcek veya diğer zararlıların faaliyeti, bitki stresi, hava sıcaklığı, atmosferik gazların bileşimi gibi birçok faktör aflatoksin oluşumunu etkileyebilir [6], [34].

Ortam Neminin Aflatoksin Oluşumuna Etkisi: Aflatoksin oluşturan küf mantarının besinde gelişmesi için uygun nem miktarının araştırmalar sonucu % 14-30 oranları arasında olduğu saptanmıştır. Küflerin gelişebilmesi için havanın bağıl nemi en az % 65, nispi nemi ise % 75-80 arasında olmalıdır [6], [32].

Sıcaklığının Etkisi: Küf mantarlarının en uygun gelişme sıcaklıkları 20-30 °C' dir. Bununla birlikte küf türüne göre en düşük veya en yüksek gelişme sıcaklıkları değişebilir. Aflatoksin oluşma sıcaklığının 25-30 °C arasında olduğu, ancak 10 °C sıcaklığın altında olduğunda durumda aflatoksin oluşumunun durduğu belirlenmiştir [6], [32].

Oksijenin Etkisi: Mantarlar gelişimleri için oksijene ihtiyaç duyar. Küf mantarı, % 1 gibi düşük oksijen varlığında bile gelişip ve toksin üretebilmektedir [6], [32].

pH'ın Etkisi: Küf mantarlarının gelişebilmeleri için genellikle nötr veya nötre yakın değerlerde pH dereceleri gerekir. Bu nedenle pH 6,5-8,5 derecelerinde gelişmeleri için uygun olduğu belirlenmiştir. Aflatoksin oluşturan küf mantarlarının gelişebilmeleri için ise en uygun pH aralığı 3-4,5 arasında olduğu saptanmıştır [6], [32].

Bu faktörlerin dışında; tarlada, hasatta ve depolamada görülen mekanik hasarlar, ürün karıştırma, süre, ortamın bileşimi, madensel elementler, kimyasal işlemler, bitki dayanıklılığı, küf enfeksiyonu, bitki varyete farklılığı toksin oluşumu üzerinde etkili diğer faktörler arasındadır [6].

2.4.6.3 Aflatoksinlerin bulunduğu gıdalar

Ülkemizde yetiştirilen fındık, yer fıstığı, Antep fıstığı, incir, kuru üzüm, kahve, kakao, kırmızı pul biber başta olmak üzere çeşitli baharatlar, mısır, pirinç, buğday gibi hububatlar, elma suyu, süt ve süt ürünlerinde var olan aflatoksinler insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadır [8], [19]. Bunların yanında meyve ve sebzelerle, bunlardan elde edilen ürünlerde de aflatoksin oluşabilir. Gıdalarda aflatoksin üremesine neden olan önemli toksin üreticileri arasında *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* bulunur [26]. *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* domates ve domates ürünlerinden izole edilmiş olup ve iki mantar türü de aflatoksin üretebilir [35]. Brezilya'da ticareti yapılan domates ürünlerindeki (ketçap, püre, salça) aflatoksin kontaminasyonunu belirlemek amacıyla Brezilya'nın beş şehrinde üretilen 63 domates ürününü ve bir tane ithal edilen (ketçap) ürün örnekleri ince yüzey kromotografisi ile incelenmiştir. Çözümleyici yöntem göstermiştir ki iki başatlama seviyesinde ortalama %86 oranında aflatoksin yenilenmesi meydana

gelmiştir. Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2 için belirlenen sınır 2 ile 7 µg/kg arasında ürünlerde değişiklik göstermiştir. Değerlendirilen ürünlerde aflatoksin belirlenmemesi, hammaddede toksik mantar veya toksin üretimi için uygun ortam olmaması insan sağlığı için bir tehdit oluşturmayacağını göstermektedir [35].

Kırmızıbiber ve kırmızıbiber ürünlerinde de aflatoksin yaygın olarak bulunabilmektedir [8]. Kırmızıbiber ürünleri (pul biber, biber sosu, salça) de hatalı üretim işleminde, kurutma aşamasında ve kötü depolama koşulları sonucunda aflatoksin oluşmasına duyarlı hale gelir. Kırmızıbiber ve ürünlerinde yapılan araştırmada Ankara'daki süpermarketlerden 90 kırmızıbiber salçası, 50 kırmızıbiber sosu ve 50 kırmızı pul biber olmak üzere toplam 190 adet temin edilmiş ve sonuçlar değerlendirildiğinde, kırmızıbiber örneklerinde, AFB_1 düzeylerinin bir örnek dışında TGK sınır değerleri içinde olduğu saptanmıştır [3].

2.4.6.4 Aflatoksinlerin insan sağlığına etkileri

Aflatoksinler, bilinen en etkili kanserojenler sınıfında yer almaktadır. Aflatoksinler arasında en yüksek toksik etkiye sahip olan aflatoksin B1'dir. Aflatoksin B1'i toksik etkisine göre azalan sırayla G1, B2 ve G2 izler. Aflatoksin türevi olan aflatoksin M1 ise aflatoksin B1'e yakın toksisiteye sahiptir [36].

Aflatoksinlerle zehirlenme, canlının türü, yaşı, cinsiyeti, alınan toksin miktarı ve alınan süreye bağlı olarak farklılık gösterir. Aflatoksinler en fazla karaciğer organını etkiler [20].

Çizelge 2.1 Bazı ülkelerde karaciğer kanseri ve aflatoksin tüketimi arasındaki ilişki [6].

Ülke	Belirlenen aflatoksin konsantrasyonu (mg/kg = ppm)	Şüpheli aflatoksin taşıyıcı gıda	Yaş grubu	Karaciğer hastalığı olgu sayısı	Karaciğer hastalığının çeşidi ve sonucu
Senegal	0,5 - 1	Yer fıstığı	4-6 yaşlar	2	Sarılık ve bunun sonucu bir durumda karaciğer hücre aralarındaki lifli bağ dokusunun artması (hepatik fibrosis).
Çin	0,2	Pirinç	Bütün yaşlar	26	Akut karaciğer hastalığı ve 3 çocukta ölüm.
Uganda	1,7	Cassava	15 yaşlar	1	Ölüme neden olan akut sarılık.
Hindistan	0,3	Yer fıstığı	1,5 - 5 yaşlar	20	Karaciğer büyümesi, karaciğer yetmezliği ve 3 vakada ölüm. Bazı durumlarda sonuç olarak siroz (genç siroz).
Hindistan	0,25 - 15	Mısır	Bebekler dışında tüm insanlar	Birkaç yüz	Akut sarılık ve 100'ün üzerinde insanda ölüm.

Aflatoksinler çok düşük ppb (µg/kg) seviyesinde bile vücuda alındığında kanserojenik, mutajenik, teratojenik ve hepatotoksik etkiler gösterebilir [20].

Kanserojenite: Aflatoksinler karaciğer, kolon ve böbrekte kansere neden olurlar [6].

Mutajenite: Aflatoksin B1 en mutajen mikotoksin türüdür. DNA kırılmasına ve kromosomal yanılmaya sebep olur [6].

Teratojenite: Protein sentezini inhibe eder ve canlılarda ölü veya sakat doğumlara neden olurlar [6].

Nefrotoksisite: Aflatoksin B1 böbreklerde hasar, tümör oluşumu, nefropati ve böbrekte ani kanamaya neden olur [6].

Hepatotoksisite: Aflatoksin B1, karaciğerin hepatik dokularına zarar vererek, akut hastalığa ve ani ölüme sebep olur. Ayrıca serum enzimlerini artırır, serum proteinlerini azaltır ve kanın pıhtılaşma mekanizmasını bozulmasına neden olur [6].

Aflatoksinler, insanlarda immun sistemi baskılayıcı etkiye de sahiptir. İmmunosupresyon, enfeksiyon hastalıklarına karşı duyarlılığı artırır [20].

Aflatoksinlerin Tayland, Tayvan ve Hindistan gibi ülkelerde, insanlarda akut zehirlenmelere neden olduğunu bildiren yayınlar literatüre geçmiştir. Asya ve Afrika'nın çeşitli bölgelerinde ise karaciğer kanserine rastlama sıklığı ile aflatoksinlerle kontamine olmuş gıdaların alınma miktarı arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir [6].

Çizelge 2.2 Gıdalarla aflatoksine maruz kalan kişilerde karaciğer hastalık raporları [6].

Ülke	Günlük tüketilen tahmini aflatoksin miktarı (erişkinlerde ng/kg vücut ağırlığı başına)	Karaciğer Kanseri	
		Kaydedilmiş Olgu Sayısı	100 Kişilik Popülasyonda 1 Yılda Görülme sıklığı
Kenya	3,5	4	1,2
Kenya	5,9	33	2,5
Kenya	10	49	4
Tayland	5	2	2
Tayland	4,5	6	6
Swaziland	5,1	11	2,2
Swaziland	8,9	29	3,8
Swaziland	15,4	4	4,3
Swaziland	43,1	42	9,2
Mozambik	222,1	>100	13

Aflatoksinler insanlarda akut, subakut ve kronik etkilere neden olur. Bu etkiler, alınan doza ve toksinin vücuda alınma sıklığına bağlı olarak farklılıklar gösterebilir [32].

Akut etkiler: Akut zehirlenmeler, karaciğerde yaygın olarak sentrilobüler nekrozlar ve yağ birikimi oluşumu ile kendini gösterir [32].

Akut zehirlenmelerde, ani ölüm iştahsızlık, solunum güçlüğü, burun akıntısı, bitkinlik, anemi, öksürük, kanlı ishal, akut karaciğer hasarı, kapiller damar dayanıklılığında azalma görülebilir [4]. Aflatoksinlerin akut toksisitesi üzerinde yapılan araştırmalar, en kuvvetli etkiye aflatoksin B1'in sahip olduğunu belirlemiştir [32].

Subakut etkiler: Subakut etkilerde sarılık, hematom, kanamalı bağırsak yangısı ve trombosit sayısında azalma görülebilir. Ayrıca karaciğerde nekroz, pıhtılaşma mekanizmasında bozulma görülebilir [6].

Kronik etkiler: Aflatoksin bulaşmış gıda maddelerinin uzun süre alınmasıyla görülür. Kronik etkilerde siroz ve sarılık hastalıkları belirgin ortaya çıksa da, primer karaciğer kanseri, kalın bağırsak kanseri, mide kanseri ve akciğer kanseri de görülebilir [6].

Aflatoksin molekülü, karaciğer hücreleri ile reaksiyona girdiğinde, DNA ve RNA polimerazları inhibisyona uğratır, özellikle mRNA' daki değişiklik proteinin büyük ölçüde bozulmasına neden olur, böylece RNA sentezi ve bazı proteinlerin sentezi azalır ve hücre ölür [32].

Kısaca aflatoksinler, insanlarda karaciğer kanserine ve gen yapısında değişikliklere, vücudun hormon dengesinde bozmalara, bağışıklık sisteminin zayıflamasına, kısırlığa ve sakat doğumlara neden olurlar [6].

2.4.6.5 Aflatoksinlerin mekanizması

Aflatoksin B1'in, reaktif oksijen de dahil olmak üzere serbest radikallerin salınımını uyardığı belirlenmiştir. Bu serbest radikallerin kromozomlarda hasara neden olduğu saptanmıştır [37].

Yapılan bazı araştırmalara göre, yüksek miktarda aflatoksin içeren gıdalarla beslenen, hepatit B ve C virüsü taşımayan, karaciğer kanserine yakalanmış insanların karaciğerinden alınan örneklerde yapılan incelemelerde, aflatoksin B1'in p53 kanser baskılayıcı genin 249. kodundaki guanin yerine timin geçmesine ve karaciğer primer kanser oluşumuna neden olduğu belirlenmiştir. Buna "Hot Spot Mutasyon" adı verilir ve yüksek miktarda aflatoksinli gıda bulunan bölgelerde yaşayan karaciğer kanserine yakalanmış hastaların toplamının %50'sinde görülmektedir. Ancak bu mutasyona düşük miktarda aflatoksin bulunan bölgelerde ise %25'den daha az oranda rastlanılmıştır [6].

2.4.6.6 Aflatoksinden arındırma işlemleri

Gıdalara bulaşmış olan aflatoksinlerin giderilmesi için fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler araştırılmıştır [32].

Fiziksel olarak; aflatoksinlerin normal sıcaklık derecelerine dayanıklı olduğu bilinmektedir. Sıcaklık ile aflatoksinlerin inaktivasyonu için yüksek dereceler gerekmektedir. Normal ısı derecelerine son derece dayanıklıdır. Tamamıyla

parçalanabilmeleri için 300 °C veya daha yüksek ısı derecelerine gereksinim duyarlar [6]. Örneğin; yer fıstığında aflatoksin B1'i %80, aflatoksin B2'yi %60 oranında inaktivasyonunu için 150 °C'de 30 dakikalık bir işlem gerekir. Ultraviyole ışın uygulaması, ışınların iletim gücünün az olması nedeniyle birçok gıdada aflatoksin inaktivasyonunu başarısızlıkla sonuçlandırmakta, ince tabaka halindeki sütte uygulandığında ise olumlu sonuçlar vermektedir [32].

Kimyasal işlemler; asitler, alkaliler, aldehitler, oksitleyiciler, Cl_2, SO_2, O_3, NH_3 gibi gazlar ile peroksit, osmiyum tetrosit, NaCl, H_2O_2 gibi kimyasal maddelerin aflatoksinleri inaktive ettiği bildirilmiştir [32].

Aflatoksinler; kloroform, metanol, etanol, dimetilsülfoksid (DMSO), aseton ve propilen glikolde kolayca çözünebilirler ancak petrol, eterde ve suda çözünmezler [6], [32].

Kimyasal inaktivasyonda, üründe kalabilecek sağlığa zararlı olan reaksiyon ürünlerinin kontrol edilmesi gerekmekte ve gıdanın besin değeri korunmalı, koku, tat ve renk tüketici tarafından kabul edilebilir olmalıdır [32].

Amonyak gazı (NH_3) uygulaması (%0,5-2 arasında) mısırda denenmiş başarılı sonuçlar vermiş, ancak bu işlemden sonra mısırın kahverengiye dönüşmesi yüzünden bu işlem daha çok hayvan yemi olarak kullanılacak ürünlere uygulanmaktadır [32].

M1 toksinin inaktivasyonu için H_2O_2'nin ışıkla birlikte uygulanmasının etkili olduğu bilinmektedir [32].

Biyolojik olarak ise, birçok mikroorganizmanın aflatoksinler üzerinde olan etkisi araştırılmıştır. Bu araştırmalar sonucunda *Flavobacterium aurantiacum*'un sıvı ortamda aflatoksinleri yok ettiği saptanmıştır. Bu konudaki çalışmalar hala devam etmektedir [32].

2.4.6.7 Aflatoksin analiz yöntemleri

Mikotoksinlerin analizleri için; İnce Tabaka Kromatografi (TLC), Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC), Enzim Bağlanmış Immunoabsorbent Yöntemi (ELISA), Radio Immunoabsorbent Assay (RIA) ve son yıllarda yeni geliştirilen bir yöntem olan Flouresans Polarization Immunoassay (FPIA) yöntemi kullanılmaktadır [38].

2.4.6.7.1 ELISA yöntemi

ELISA (Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay), antijen - antikor reaksiyonlarının doğrudan saptandığı bir enzim immunoassay yöntemidir. Mikotoksinler antijenik özellik göstermezler, mikotoksinlerin antijenik özellik göstermeleri için bir protein ya da polipeptit zincirine bağlanmaları gerekir. Protein olarak genellikle serum albumini, gamma globulin ve polilizin kullanılmaktadır. Okratoksin, patulin, penisilik asit gibi reaktif gruplara sahip mikotoksinler doğrudan bağlanma reaksiyonları gösterirken, aflatoksin, trikotesen gibi birçok toksin reaktif gruplara sahip olmadığından reaktif karboksil veya başka bir grubun öncelikle toksine bağlanması gerekmektedir. Antijenler antikorlara hidrojen bağları, elekrostatik etkileşimler, hidrofobik etkileşimler ve Van der Walls güçleri gibi kovalent olmayan bağlarla geri dönüşümlü olarak bağlanırlar. ELISA yönteminde ilk aşama diğer yöntemlerde olduğu gibi ekstraksiyon işlemidir. ELISA yönteminde son yıllarda mikotoksin analizlerinde sep-pak kartuş kullanılmaktadır. Bu işlem üç aşamada gerçekleştirilir. Birinci aşamada örnekler kartuşa ilave edilir. Daha sonra uygun çözücü kullanılarak örnekte bulunan kirlilik maddeleri ortamdan uzaklaştırılır ve son olarak uygun çözücü kullanılarak toksin kartuştan alınır [39].

Ekstrakt temizlendikten sonra yapılan işlem basamakları aşağıdaki şekilde olur.

1. Heterojenik yarışmalı ELISA yönteminde ilk olarak spesifik antikorlar katı yüzeye iki ayrı set halinde bağlanırlar.

2. İki ayrı set halinde 96'lık kuyucuklara bağlanmış serbest antikorlar yıkama tamponu ile yıkanır.

3. Birinci sete belirli miktarda enzim bağlanmış mikotoksin ile aynı miktarda ekstrat çözeltisi aynı anda inkübasyona bırakılır. İkinci sete ise sadece enzim bağlanmış mikotoksin inkübe edilir ve 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakılır. Bu yöntemde yarışma, örnekteki serbest mikotoksin ile spesifik antikora bağlanmaya çalışan mikotoksin–enzim konjugatı arasındadır.

4. İnkübasyon sonunda 96'lık kuyucuklar tekrar yıkama tamponu ile yıkanır.

5. Enzim ile spesifik olarak reaksiyona giren substrat ortama ilave edilir, 37 °C'de 1 saat inkübasyona bırakılır. Sürenin sonunda asit ya da alkali kullanılarak reaksiyon durdurulur.

6. Enzim-substrat reaksiyonu sonucu oluşan ürün konsantrasyonu ELISA okuyucusuna kaydedilir ve standartlarla karşılaştırılarak miktar tayini yapılır.

Mikotoksin analizlerinde antijenlerin işaretlenmesinde genellikle peroksidaz ve alkali fosfataz enzimleri kullanılır. Bu enzimlerle reaksiyon veren substrat, reaksiyon sonunda renkli maddeler oluşturarak rekasiyon sonucunun gözle görülebilir olarak saptanmasına da olanak sağlar. ELISA Yönteminin farklı mikotoksin analizlerinde kullanılması, farklı mikotoksinlere karşı spesifik antikor üretimine bağlıdır [39].

2.4.6.7.2 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), mikotoksinler ve mikotoksinler gibi düşük molekül ağırlığına sahip bileşiklerin analizlerinde son yıllarda en çok çalışılan cihazdır. HPLC cihazı temel olarak, hareketli faz, pompa, enjektör bloğu, kolon, detektör kısımlarından oluşur [39].

Hareketli Faz: Hareketli faz olarak kullanılan çözgenler uygulanan kromatografi şekline bağlıdır. Solvent rezervuarının çalışma esnasında ağzının kapalı olmasına özen gösterilmelidir. Buharlaşmadan dolayı hareketli fazın şekli değişebilir. Örneğin kloroform hareketli faz çözeltisinde aflatoksin B'ler, aflatoksin G'lere göre daha az fluoresans göstermektedir. Aflatoksin analizlerinde hereketli faz olarak genellikle asetonitril ve su (28+72) kullanılmaktadır [39].

Kolon: HPLC cihazında kullanılan kolonlar 4,5-5 mm iç çaplı ve 10-30 cm uzunluğunda, 5-10 µm sabit faz partikülleriyle paketlenmiş şekildedir. Kolonlar paslanmaz çelikten yapılmıştır [39].

Kolon Dolgu Maddesi: dolgu maddesi seçerken tanecik büyüklüğü, tanecik büyüklüğünün dağılımı, gözenek hacmi ve yüzey alanı gibi özellikler dikkate alınır. Sabit faz olarak poröz (gözenekli) maddeler kullanılmaktadır. Kullanılan dolgu maddeleri silika ve alümina esaslıdır [39].

Detektör: İdeal bir detektör, geniş konsantrasyon aralığında yüksek duyarlığa, düşük gürültü seviyesine ve bilinen seçiciliğe sahip olmalı ve kromatografik resolüsyona kötü etki yapmadan kolon akıntısındaki bileşiklere duyarlı olması gerekir. Aflatoksinler hem normal hem de ters faz sistemlerinde UV absorbsiyon, fluoresans ve MS detektörü ile HPLC'de analiz edilebilirler. Aflatoksin çalışmalarında genellikle fluoresans detektör kullanılır [39].

Immunoaffinite kolonla örnek hazırlama: Ekstraksiyon hazırlanan örneklerden alınan 10 mL filtrat immunoaffinite kolona aktarılır. Kolonun çıkışına bir toplama kabı konulur. Kolonu yıkamak için 2 defa 10 mL distile su kolondan geçirilir ve aflatoksinleri kolondan almak için 1 mL metanol uygulanır, aflatoksinler kolondan alınır. Mikroenjektör ile örnek, cihaza enjekte edilir ve örneğe ait kromatogram alınır. İkinci olarak aflatoksin standardı enjekte edilir ve standarda ait kromatogram alınır. Kromatogramlardaki alıkonma zamanlarına bakılarak kalitatif ve kantitatif tayin yapılmaktadır [39].

2.4.6.8 Gıdalarda sınır değerler

Aflatoksin içerikli gıdaların arındırılmasında çok başarılı yöntemlerin bulanamaması, birçok tarımsal ürün ihraç eden ülke ürünlerinin mikotoksinlerle bulaşık olması gıdaların kontrol edilmesini gerekli kılmıştır. İlk olarak WHO ve FAO organizasyonlar, gıdalarda tolere edilebilecek aflatoksin miktarını 30 ppb olarak belirlemişlerdir. Bu miktardan daha fazla aflatoksin içeren gıdaların ithal edilmemesi kararı alınmıştır. Bu sınır değerler zamanla düşürülmüştür. Aynı tarihlerde bazı Avrupa ülkeleri WHO ve FAO'dan daha düşük miktarları benimsemiş ve UNICEF gibi kuruluşların da çocuklar tarafından tüketilen gıda maddelerinde daha düşük sınır değerlerin belirlemesine katkıda bulunmuştur [1].

Çizelge 2.3 Türk Gıda Kodeksi'ne göre aflatoksinlerle bulaşık bazı gıdaların maksimum limit değerleri [6].

Aflatoksin	Gıda maddesi	Kabul edilebilir en yüksek değer (pbb=µg/kg)
B1	Baharatlar	5
B1	Hububatlar	2
B1	Hububat unları	2
B1	Tüm gıda maddeleri	5
M1	Peynir	0,25
M1	Süt ve süt ürünleri	0,05
M1	Bebek mamaları ve devam formülleri	0,02
(B1+B2+G1+G2)	Bebek gıdaları ve hazır karışımlar	0,01
(B1+B2+G1+G2)	Tüm gıda maddeleri	10

Avrupa ülkelerinde kırmızıbiber ve ürünlerinde AFB_1 maksimum düzeyi 5 µg/kg (ppb)'yi aşmamaktadır. Türk gıda kodeksi'ne göre kırmızı pul biberde AFB1 için kabul edilen maksimum limit değeri 5 ppb'dir. Buna göre TGK maksimum limit değerine göre kırmızıbiber salçası ve kırmızıbiber sosunda AFB1 düzeyi 5 ppb'nin üzerinde olamaz [3].

Çizelge 2.4 Çeşitli Ülkelerde Gıdalardaki Maksimum Aflatoksin Limitleri [6].

Aflatoksin	Gıda maddesi	Kabul edilebilir en yüksek değer (pbb=µg/kg)	Ülkeler
B1	Tüm gıda maddeleri	2	Almanya
B1	Tüm gıda maddeleri	5	Hollanda
B1	Tüm gıda maddeleri	1	Avusturya
B1	Tüm gıda maddeleri	1	İsviçre
B1	Mısır ve tahıllar	2	İsviçre
B1	Tahıllar, fındık	2	Avusturya
(B1+B2+G1+G2)	Tüm gıda maddeleri	4	Almanya
(B1+B2+G1+G2)	Fındık ve kuru incir	4	İngiltere
(B1+B2+G1+G2)	Tüm gıda maddeleri	10	Fransa
(B1+B2+G1+G2)	Tüm gıda maddeleri	20	ABD
M1	Süt	0,05	Almanya
M1	Bebek maması	0,02	İsviçre
M1	Süt ve süt ürünleri	0,05	İsviçre
M1	Çocuk sütü	0,1	Çek Cumhuriyeti
M1	Erişkin sütü	0,5	Çek Cumhuriyeti

2.5 Dünyada ve Türkiye'de Salça Tüketimi

Salça; domates ve kırmızıbiberin kışın kullanılmak üzere saklanması amacıyla ezilerek suları çıkarıldıktan sonra kaynatılarak elde edilen püre halindeki yiyecektir.

Taze ya da işlenmiş (salça, kurutulmuş, dilimlenmiş vb.) halde tüketilen domates, Türkiye yaş sebze meyve üretiminde ilk sırada yer almaktadır. Örneğin; 2006 yılında 9 854 877 ton domates üretimi yapılmış; bu üretimin yaklaşık %83.26 'sı taze olarak tüketilmiştir, %16.74'ü ise işlenmek üzere ayrılmıştır. İşlenmek üzere ayrılan kısmın %85'i domates salçası, %10'u konserve ve geriye kalan kısmı ise ketçap, domates suyu, kurutulmuş domates ve diğer ürünlerin üretiminde kullanılmıştır [40].

Domates salçasından elde edilen domates sosları batı ülkelerinde daha yaygın tüketilmektedir [8].

Salça üretiminde domates kadar olmasa da biber kullanımı da oldukça yaygındır. Türkiye de 2012 yılı itibariyle salçalık biber üretimi 748 422 ton, salçalık domates üretimi 3 652 034 ton civarındadır.

Türkiye'de domates üretiminin en fazla yapıldığı bölge; sofralık domates (7 697 961 ton) Akdeniz Bölgesi (%45,82) ve salçalık domates (3 652 039 ton) ise Ege (% 39,05) Bölgesi'dir [8]. Türkiye de salçalık domatesin en çok yapıldığı iller; Bursa, İzmir ve Manisa iken, salçalık biberin yoğun olduğu bölgeler ise; Akdeniz, Ege, Marmara ve Güneydoğu Anadolu bölgeleridir [8]. Adana ilinde 26 565 ton salçalık biber üretimi ve 420 ton salçalık domates üretimi yapılmaktadır [8].

Dünyada salça, ABD ve Çin başta olmak üzere İspanya, İtalya, Türkiye, Şili, Portekiz, Yunanistan ve Brezilya'da üretilmektedir. 1990 öncesine kadar önemli bir ithalatçı ülke olan ABD üretimini artırarak öncelikle ülke ihtiyacını karşılamaya başlamış ve üretimin artmasıyla salça ihracatı yapmaya başlamıştır. Çin ise düşük maliyet ile dünya piyasalarına büyük miktarlarda ürün sürmekte ve dünya domates salçası stoklarını artırmaktadır. ABD ve Çin ile diğer önemli üretici ülkeler olan AB'nin Akdeniz ülkeleri ve Türkiye'de salça üretiminde yaşanan herhangi bir olumsuz durum dünya piyasalarını önemli ölçüde etkileyebilir [8].

2.6 Salçalarda Aflatoksin Riski

Domates, mantar kontaminasyonuna duyarlı yumuşak bir yüzeye sahip gıdadır. Domatesin üretim ve depolama süreçlerinde birçok mantar çeşidinin toksin üreten suşlarının da var olduğu bilinmektedir. Amerikada domateste bulunan temel mantarlar; *Alternaria, Aspergillus, Botrytis, Cladosporium, Colletotrichum, Fusarium, Geotrichum, Mucor, Penicillium, Phytophthora, Rhizophus* ve *Stemphylium* olduğu saptanmıştır [35].

Türkiye'nin çoğu bölgesinde kırmızıbiber; kırmızı pul biber, kırmızıbiber salçası ve kırmızıbiber sosu olarak tüketilir. Kırmızı pul biber, hatalı üretim işleminde, kurutma aşamasında ve kötü depolama koşulları sonucunda büyük oranda mikrobiyal kontaminasyona maruz kalır. Kurutulma işlemi açık havada olduğundan uygun olmayan koşullara bağlı olarak aflatoksin üremesine duyarlıdır [3].

Türkiye'de geleneksel besin olan biber salçası, genellikle açık havada güneş altında üretilir. Domates salçası da biber salçası gibi aynı yolla üretilir. Biber salçası Türk mutfağında önemlidir ve insanlar tarafından çoğunlukla tüketilmektedir. Kırmızıbiberden biber sosu da yapıldığından AFB1 riski, kırmızı pul biber ve biber salçası dışında biber sosunu da kapsamaktadır [3].

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Örneklerin Toplanması

Araştırma materyalini, İstanbul ilinde satışa sunulan domates salçası (34 tane), acı biber salçası (35 tane) ve tatlı biber salçası (18 tane) olmak üzere toplam 87 adet salça örnekleri oluşturdu. Örnekler, gelişigüzel örnekleme yöntemine göre İstanbul semt pazarlarında açıkta satılan gıda maddelerinden toplandı.



Şekil 3.1 İstanbul ili semt pazarlarında satışa sunulan domates ve biber salçaları

3.1.2 Örneklerin Saklanması ve Etiketlenmesi

Örnekler, alındıktan hemen sonra kapalı kaplar içerinde buzdolabında +4 ^{o}C saklandı. Örneklerin alındığı yer, tarih, saat, sıcaklık değerleri ve türü her numunenin üzerine alındığı tarihte yazılarak etiketlendi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Semt pazarlarından elde edilen örneklerden bazıları

3.1.3 Örneklerin Toplandığı Yerlerin Listesi

İstanbul ilinde farklı semtlerden elde edilen numunelerin yer, tarih, derece, saatleri ve türü çizelge 3.1 listelenmiştir. Örneklerin bazıları güneşli bazıları ise bulutlu ve yağmurlu günlerde temin edilmiştir.

Çizelge 3.1 İstanbul'da bazı semt pazarlarından elde edilen örneklerin listesi

YER	MAHALLE	TARİH	SAAT	DERECE	TÜR
BAYRAMPAŞA	YILDIRIM MAHALLESİ	02.10.2015	16.53	20 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
GÜNGÖREN	MERKEZ MAHALLESİ	02.10.2015	14.32	20 ^{0}C parçalı bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
GÜNGÖREN	MERKEZ MAHALLESİ	02.10.2015	14.32	20 ^{0}C parçalı bulutlu	DOMATES SALÇASI
GÜNGÖREN	MERKEZ MAHALLESİ	02.10.2015	14.38	20 ^{0}C parçalı bulutlu	DOMATES SALÇASI
GÜNGÖREN	MERKEZ MAHALLESİ	02.10.2015	14.38	20 ^{0}C parçalı bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
GÜNGÖREN	GÜNEŞTEPE MAHALLESİ	04.10.2015	17.35	24 ^{0}C Güneşli	ACI BİBER SALÇASI
GÜNGÖREN	GÜNEŞTEPE MAHALLESİ	04.10.2015	17.35	24 ^{0}C Güneşli	DOMATES SALÇASI
ESENLER	HAVAALANI MAHALLESİ	04.10.2015	15.24	25 ^{0}C Güneşli	ACI BİBER SALÇASI
ESENLER	HAVAALANI MAHALLESİ	04.10.2015	15.24	25 ^{0}C Güneşli	DOMATES SALÇASI
ESENLER	HAVAALANI MAHALLESİ	04.10.2015	15.40	25 ^{0}C Güneşli	TATLI BİBER SALÇASI
ESENLER	HAVAALANI MAHALLESİ	04.10.2015	15.40	25 ^{0}C Güneşli	ACI BİBER SALÇASI
ESENLER	HAVAALANI MAHALLESİ	04.10.2015	15.31	25 ^{0}C Güneşli	ACI BİBER SALÇASI
ESENLER	HAVAALANI MAHALLESİ	04.10.2015	15.31	25 ^{0}C Güneşli	DOMATES SALÇASI
ESENLER	ORUÇREİS MAHALLESİ	04.10.2015	16;05	25 ^{0}C Güneşli	DOMATES SALÇASI
ESENLER	ORUÇREİS MAHALLESİ	04.10.2015	16;05	25 ^{0}C güneşli	TATLI BİBER SALÇASI
ESENLER	ORUÇREİS MAHALLESİ	04.10.2015	16.15	25 ^{0}C güneşli	ACI BİBER SALÇASI
ESENLER	ORUÇREİS MAHALLESİ	04.10.2015	16.15	25 ^{0}C güneşli	DOMATES SALÇASI
BAĞCILAR	GÖZTEPE MAHALLESİ	03.10.2015	15.55	23 ^{0}C güneşli	DOMATES SALÇASI
BAĞCILAR	GÖZTEPE MAHALLESİ	03.10.2015	15.55	23 ^{0}C güneşli	ACI BİBER SALÇASI
BAĞCILAR	YAVUZSELİM MAHALLESİ	03.10.2015	17.07	22 ^{0}C güneşli	DOMATES SALÇASI
BAĞCILAR	YAVUZSELİM MAHALLESİ	03.10.2015	15.07	22 ^{0}C güneşli	ACI BİBER SALÇASI
BAĞCILAR	YAVUZSELİM MAHALLESİ	03.10.2015	15.19	22 ^{0}C güneşli	ACI BİBER SALÇASI
BAĞCILAR	YAVUZSELİM MAHALLESİ	03.10.2015	15.19	22 ^{0}C güneşli	DOMATES SALÇASI
BAKIRKÖY	DİKİLİTAŞ MAHALLESİ	20.10.2015	16.25	21 ^{0}C Güneşli	DOMATES SALÇASI
BAKIRKÖY	DİKİLİTAŞ MAHALLESİ	20.10.2015	16.25	21 ^{0}C Güneşli	ACI BİBER SALÇASI
BAKIRKÖY	DİKİLİTAŞ MAHALLESİ	20.10.2015	16.26	21 ^{0}C Güneşli	TATLI BİBER SALÇASI

Çizelge 3.1 İstanbul'da bazı semt pazarlarından elde edilen örneklerin listesi (Devamı)

BAKIRKÖY	OSMANİYE MAHALLESİ	20.10.2015	14.30	20 ^{0}C Güneşli	DOMATES SALÇASI
BAKIRKÖY	OSMANİYE MAHALLESİ	20.10.2015	14.30	20 ^{0}C Güneşli	ACI BİBER SALÇASI
BAKIRKÖY	OSMANİYE MAHALLESİ	20.10.2015	16.50	20 ^{0}C Güneşli	ACI BİBER SALÇASI
BAKIRKÖY	OSMANİYE MAHALLESİ	20.10.2015	16.50	20 ^{0}C Güneşli	DOMATES SALÇASI
FATİH	ÇARŞAMBA MAHALLESİ	21.10.2015	13.01	16^{0} C Yağmurlu	ACI BİBER SALÇASI
FATİH	ÇARŞAMBA MAHALLESİ	21.10.2015	13.01	16 ^{0}C Yağmurlu	DOMATES SALÇASI
FATİH	KOCAMUSTAFA PAŞA MAH.	03.10.2015	17.15	22^{0} C Güneşli	DOMATES SALÇASI
FATİH	KOCAMUSTAFA PAŞA MAH.	03.10.2015	17.05	22 ^{0}C Güneşli	ACI BİBER SALÇASI
FATİH	KOCAMUSTAFA PAŞA MAH.	03.10.2015	17.15	22 ^{0}C Güneşli	ACI BİBER SALÇASI
FATİH	KOCAMUSTAFA PAŞA MAH.	03.10.2015	17.05	22 ^{0}C Güneşli	DOMATES SALÇASI
FATİH	ŞEHREMİNİ MAHALLESİ	20.10.2015	13.40	20 ^{0}C Güneşli	DOMATES SALÇASI
FATİH	ŞEHREMİNİ MAHALLESİ	20.10.2015	13.40	20 ^{0}C Güneşli	ACI BİBER SALÇASI
FATİH	FINDIKZADE MAHALLESİ	02.10.2015	17.57	20 ^{0}C Bulutlu	DOMATES SALÇASI
FATİH	FINDIKZADE MAHALLESİ	02.10.2015	17.58	20 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
FATİH	FINDIKZADE MAHALLESİ	02.10.2015	18.25	19 ^{0}C Bulutlu	DOMATES SALÇASI
FATİH	FINDIKZADE MAHALLESİ	02.10.2015	18.25	19 ^{0}C Bulutlu	TATLI BİBER SALÇASI
FATİH	FINDIKZADE MAHALLESİ	02.10.2015	18.25	19 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
GAZİOSMANPAŞA	BARBOROS HAYRETTİNPAŞA	29.10.2015	15.10	16 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
GAZİOSMANPAŞA	BARBOROS HAYRETTİNPAŞA	29.10.2015	15.10	16 ^{0}C Bulutlu	TATLI BİBER SALÇASI
GAZİOSMANPAŞA	BARBOROS HAYRETTİNPAŞA	29.10.2015	15.10	16 ^{0}C Bulutlu	DOMATES SALÇASI
GAZİOSMANPAŞA	BARBOROS HAYRETTİNPAŞA	29.10.2015	15.30	16 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
GAZİOSMANPAŞA	BARBOROS HAYRETTİNPAŞA	29.10.2015	15.30	16 ^{0}C Bulutlu	TATLI BİBER SALÇASI
GAZİOSMANPAŞA	BARBOROS HAYRETTİNPAŞA	29.10.2015	15.30	16 ^{0}C Bulutlu	DOMATES SALÇASI
BAYRAMPAŞA	MERKEZ	29.10.2015	16.15	15 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
BAYRAMPAŞA	MERKEZ	29.10.2015	16.15	15 ^{0}C Bulutlu	TATLI BİBER SALÇASI
BAYRAMAPAŞA	MERKEZ	29.10.2015	16.15	15 ^{0}C Bulutlu	DOMATES SALÇASI
BAYRAMAPAŞA	MERKEZ	29.10.2015	16.32	15 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
BAYRAMPAŞA	MERKEZ	29.10.2015	16.32	15 ^{0}C Bulutlu	TATLI BİBER SALÇASI
BAYRAMAPŞA	MERKEZ	29.10.2015	16.32	15 ^{0}C Bulutlu	DOMATES SALÇASI
EYÜP	PARSELLER	30.10.2015	14.40	18 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
EYÜP	PARSELLER	30.10.2015	14.40	18 ^{0}C Bulutlu	TATLI BİBER SALÇASI
EYÜP	PARSELLER	30.10.2015	14.40	18 ^{0}C Bulutlu	DOMATES SALÇASI
EYÜP	PARSELLER	30.10.2015	14.55	18 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI

Çizelge 3.1 İstanbul'da bazı semt pazarlarından elde edilen örneklerin listesi (Devamı)

EYÜP	PARSELLER	30.10.2015	14.55	18 ^{0}C Bulutlu	TATLI BİBER SALÇASI
EYÜP	PARSELLER	30.10.2015	14.55	18 ^{0}C Bulutlu	DOMATES SALÇASI
ZEYTİNBURNU	SEYİTNİZAM	30.10.2015	16.40	17 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
ZEYTİNBURNU	SEYİTNİZAM	30.10.2015	16.40	17 ^{0}C Bulutlu	TATLI BİBER SALÇASI
ZEYTİNBURNU	SEYİTNİZAM	30.10.2015	16.40	17 ^{0}C Bulutlu	DOMATES SALÇASI
KÜÇÜKÇEKMECE	İNÖNÜ MAH.	31.10.2015	14.09	16 ^{0}C Güneşli	ACI BİBER SALÇASI
KÜÇÜKÇEKMECE	İNÖNÜ MAH.	31.10.2015	14.09	16 ^{0}C Güneşli	TATLI BİBER SALÇASI
KÜÇÜKÇEKMECE	İNÖNÜ MAH.	31.10.2015	14.09	16 ^{0}C Güneşli	DOMATES SALÇASI
KÜÇÜKÇEKMECE	İNÖNÜ MAH.	31.10.2015	13.55	16 ^{0}C Güneşli	DOMATES SALÇASI
KÜÇÜKÇEKMECE	HALKALI	31.10.2015	14.42	16 ^{0}C Güneşli	ACI BİBER SALÇASI
KÜÇÜKÇEKMECE	HALKALI	31.10.2015	14.42	16 ^{0}C Güneşli	TATLI BİBER SALÇASI
KÜÇÜKÇEKMECE	HALKALI	31.10.2015	14.42	16 ^{0}C Güneşli	DOMATES SALÇASI
KÜÇÜKÇEKMECE	HALKALI	31.10.2015	15.05	16 ^{0}C Güneşli	ACI BİBER SALÇASI
KÜÇÜKÇEKMECE	HALKALI	31.10.2015	15.05	16 ^{0}C Güneşli	TATLI BİBER SALÇASI
KÜÇÜKÇEKMECE	HALKALI	31.10.2015	15.05	16 ^{0}C Güneşli	DOMATES SALÇASI
KAĞITHANE	MERKEZ	01.11.2015	13.40	14 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
KAĞITHANE	MERKEZ	01.11.2015	13.40	14 ^{0}C Bulutlu	TATLI BİBER SALÇASI
KAĞITHANE	MERKEZ	01.11.2015	13.40	14 ^{0}C Bulutlu	DOMATES SALÇASI
KAĞITHANE	MERKEZ	01.11.2015	13.55	14 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
KAĞITHANE	MERKEZ	01.11.2015	13.55	14 ^{0}C Bulutlu	DOMATES SALÇASI
BEYOĞLU	DOLAPDERE	01.11.2015	15.10	15 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
BEYOĞLU	DOLAPDERE	01.11.2015	15.10	15 ^{0}C Bulutlu	TATLI BİBER SALÇASI
BEYOĞLU	DOLAPDERE	01.11.2015	15.10	15 ^{0}C Bulutlu	DOMATES SALÇASI
BEYOĞLU	DOLAPDERE	01.11.2015	15.25	15 ^{0}C Bulutlu	ACI BİBER SALÇASI
BEYOĞLU	DOLAPDERE	01.11.2015	15.25	15 ^{0}C Bulutlu	TATLI BİBER SALÇASI
BEYOĞLU	DOLAPDERE	01.11.2015	15.25	15 ^{0}C Bulutlu	DOMATES SALÇASI
ÜMRANİYE	AŞAĞI DUDULLU PARSELLER MAH.	22.10 2015	14.30	16 ^{0}C Bulutlu	TATLI BİBER SALÇASI

3.2 Analiz Metotları

3.2.1 ELISA Yöntemi

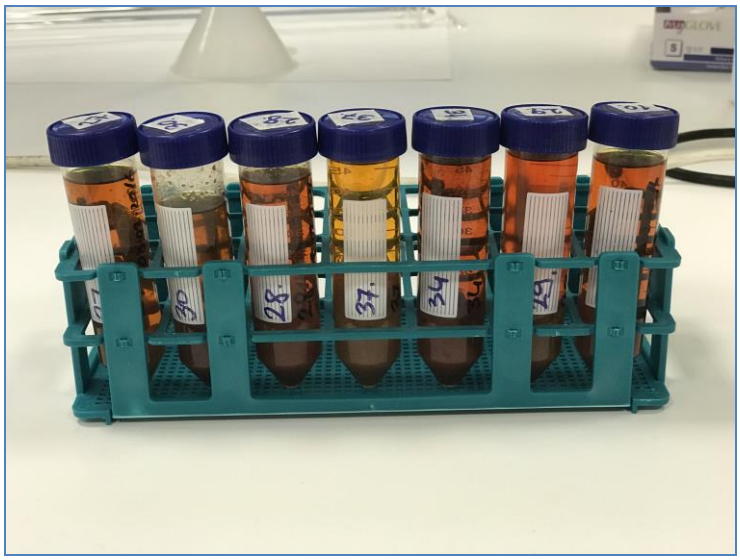
3.2.1.1 Kullanılan kimyasallar ve araçlar

- 150 ml santrifüj tüpü
- PBS (tampon)
- Asetonitril
- 1000 ve 100 µl'lik pipet uçları
- Helica Low Matrix Total Aflatoxin ve Aflatoxin B1 (ELISA KİT)
- 87 adet salça örnekleri
- Power Wave XS2 marka ELISA cihazı kullanıldı.

3.2.1.2 Örneklerin hazırlanması (Ekstraksiyon hazırlama)

Ekstraksiyon hazırlama işlemi, Helica Low Matrix marka kit'in prosedürüne uygun hazırlandı. Helica Low Matrix marka kit prosedürüne göre aşağıdaki işlemler sırayla yapıldı.

- Örneklerden 20 gr alınarak öğütüldü.
- Test edilecek her bir örnek için 80 ml asetonitril ile 20 ml distile ve ya deiyonize su kullanılarak özütleyici çözelti (%80 asetonitril) hazırlandı.
- Çözeltiye 20 gr öğütülmüş örnek eklendi ve 5 dakika ağzı kapalı taşıyıcı içerisindeki karışım çalkalandı (Örneğin özütlenen çözücüye oranı 1:5 dir (w/v).
- Süre sonunda 3.500 rpm de 5 dakika boyunca santrifüj edildi.

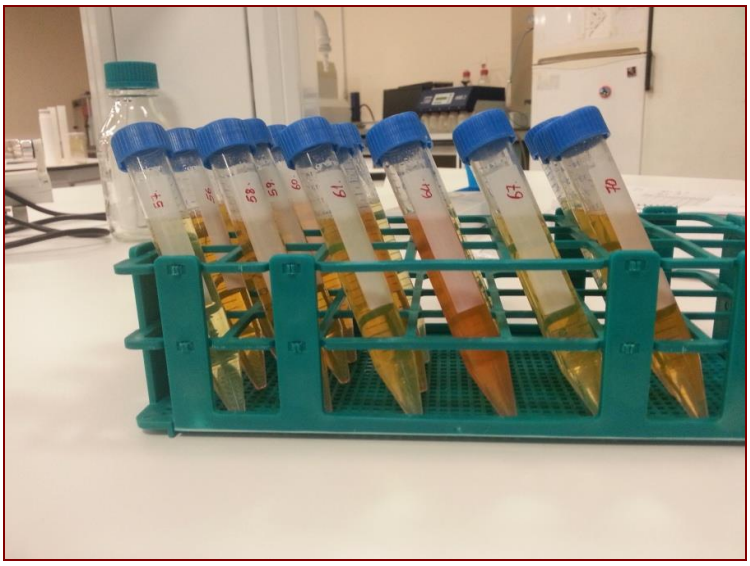


Şekil 3.3 Örneklerin 3.500 rpm de 5 dk santrifüj yapılmış şekli



Şekil 3.4 Örneklerden santrifüjden sonra sıvı bölümden alınan kısımlar

- Süpernatant başka bir tüpe alındı ve 1:10 oranında yıkama tamponu ile seyreltilerek analize hazır hale getirildi.



Şekil 3.5 Örneklerin 1:10 oranında yıkama tamponu ile seyreltilmiş hali

- Standartlar kullanılmadan önce ön seyreltmeye gerek yoktur. Hesaplamada kullanılacak son seyreltme: 1:50 oranındadır.

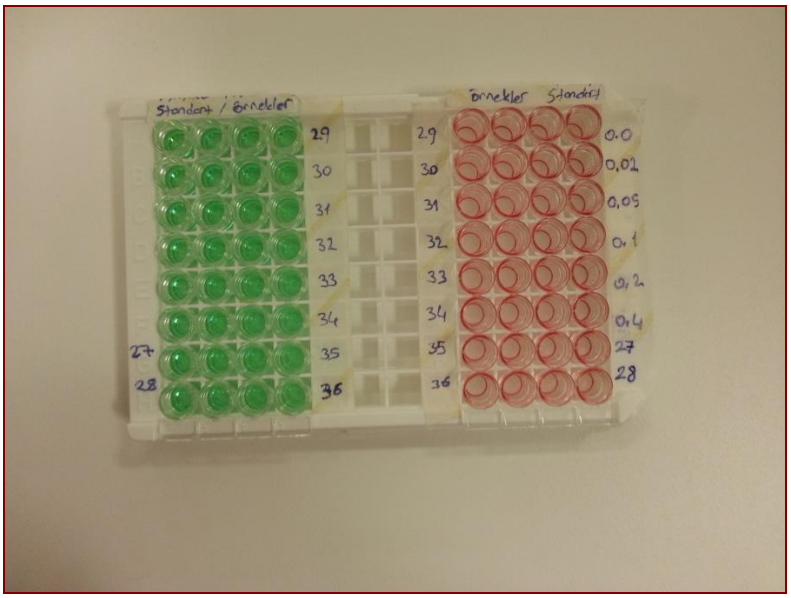
3.2.1.3 Analiz

1. Kullanmadan önce gerekli tüm çözeltiler oda sıcaklığına getirildi. Paket içerisinde bulunan toz haldeki tampon, 1 litrelik taşıyıcı içerisinde distile su ile karıştırılarak tampon çözeltisi oluşturuldu. Kullanılmadığı durumlarda, 1 litre distile su içerisindeki bulundurularak buzdolabında saklandı.
2. Test edilecek maddeler ve her bir standart mikro kuyucuk taşıyıcılar içerisinde iyice karıştırıldı. Eşit sayıdaki boyalı antikor örnekleri farklı mikro kuyucuklar içerisine koyuldu.
3. Örnek çözücü 200 µl mikro taşıyıcı içerisine dağıtıldı.
4. 100 µl standart ve 100 µl hazırlanmış örnek çözücü içeren taşıyıcılara eklendi ve 3 defa karıştırıldı.
5. Her bir karışımdan 100 µl, antikor içeren mikrotiter çukurlarına transfer edilerek oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.

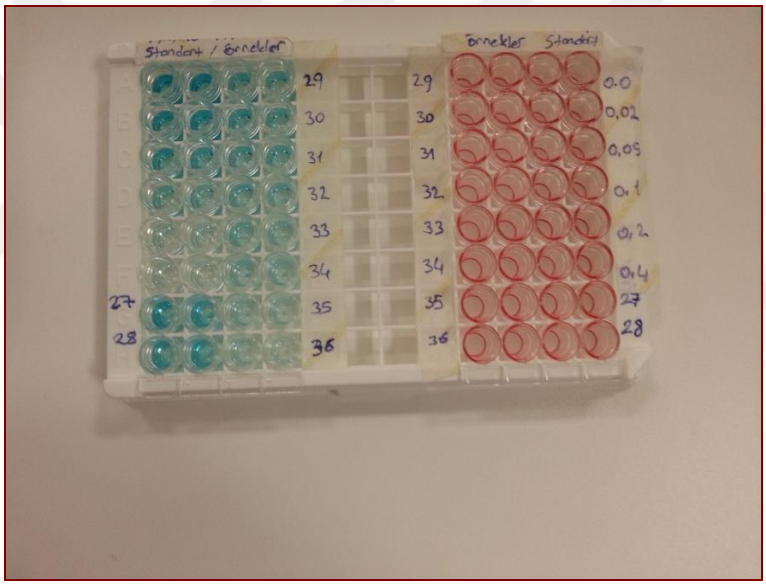
6. Mikro kuyucuklardaki içerik boşaltma kabına aktarıldı. Mikro kuyucuklar tampon çözeltisi (PBS-Tweem) ile tamamen doldurularak yıkandı. Daha sonra yıkanan madde boşaltma kabına aktarıldı. Bu yıkama toplamda üç defa gerçekleştirildi.
7. Mikro kuyucuklar yüzüstü emici havlu üzerine çevrilerek yıkamadan arta kalan tamponlar temizlendi.
8. 100 µl aflatoksin HPR- bağlayıcısı (conjugate) boyalı antikor çukurcuklarına eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Yüzeyi direkt ışıktan uzak tutuldu.
9. 6. ve 7. Basamaklar tekrarlandı (yıkama işlemi).
10. Her bir mikro çukurcuk içerisine 100 µl substrat solüsyonu eklendi. Oda sıcaklığında 10 dakika boyunca inkübe edildi. Yüzeyi direkt ışıktan uzak tutuldu.
11. İnkübasyondan sonra 100 µl durdurma(stop) solüsyonu kuyucuklara eklenerek renklenme ELISA reader kullanılarak 450 nm dalga boyunda ölçüldü.
12. Her bir standart ve örnek için sıfır bağlanma yüzdesi olarak sıfır standardı (içerisinde hiç aflatoksin bulunmayan) %100 B0 bağlayıcısı hazırlanarak % bağlayıcı hesaplandı.



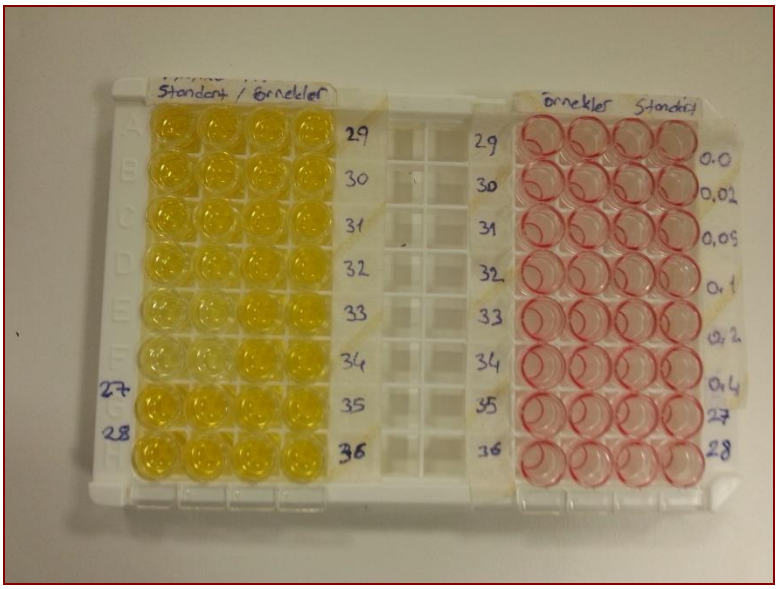
Şekil 3.6 Standart ve örneklerin karıştırma kuyucuklarından antikor kaplı kuyucuklara aktarılması



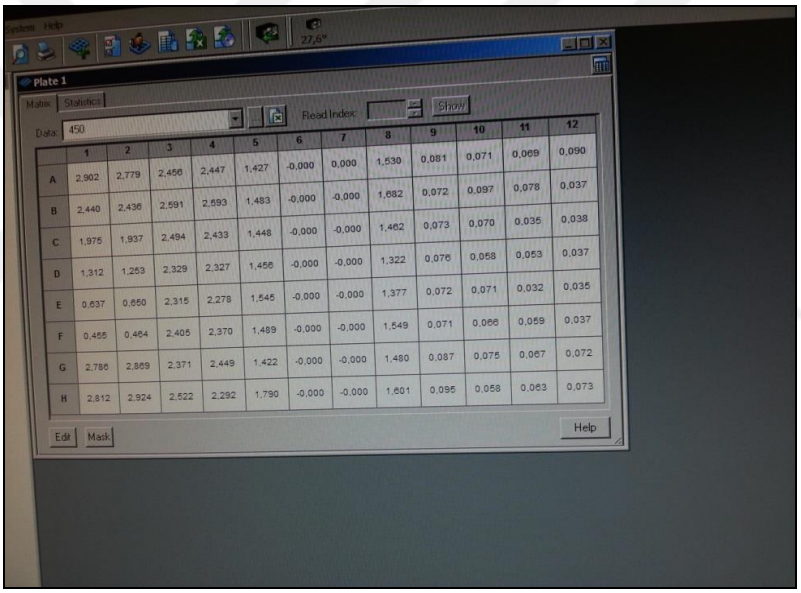
Şekil 3.7 Aflatoksin HPR- bağlayıcısı (conjugate), antikor kaplı çukurcuklara eklenmesi



Şekil 3.8 Standart ve örneklere substrat solüsyonu eklenmesi



Şekil 3.9 Standart ve örneklere stop solüsyonu eklenmesi



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2,902	2,779	2,456	2,447	1,427	-0,000	0,000	1,530	0,081	0,071	0,069	0,090
B	2,440	2,436	2,591	2,593	1,483	-0,000	-0,000	1,682	0,072	0,097	0,078	0,037
C	1,975	1,937	2,494	2,433	1,448	-0,000	-0,000	1,462	0,073	0,070	0,035	0,038
D	1,312	1,253	2,329	2,327	1,456	-0,000	-0,000	1,322	0,076	0,058	0,053	0,037
E	0,637	0,650	2,315	2,278	1,545	-0,000	-0,000	1,377	0,072	0,071	0,032	0,035
F	0,455	0,464	2,405	2,370	1,489	-0,000	-0,000	1,549	0,071	0,066	0,059	0,037
G	2,786	2,869	2,371	2,449	1,422	-0,000	-0,000	1,480	0,087	0,075	0,067	0,072
H	2,812	2,924	2,522	2,292	1,790	-0,000	-0,000	1,601	0,095	0,058	0,063	0,073

Şekil 3.10 Standart ve 27-36. örneklerin 450 nm filtreyle ELISA cihazında okunması



Şekil 3.11 Kullanılan ELISA cihazı (Power Wave XS2)

3.2.1.4 Sonuçların yorumlanması

Standartların her biri ve örnekler, çift olarak çalışıldı. Çift olarak çalışılan standartların ve örneklerin 450 nm okutulan absorbans değerlerinin aritmetik ortalaması hesaplandı. Standart 0.0'ın ELISA cihazında okunan absorbans değerleri ortalaması maksimum bağlanma değeri olarak kabul edildi. Diğer standartların (0.02, 0.05, 0.1, 0.2 ve 0.4) ve örneklerin absorbans değerleri ortalaması bu maksimum bağlanma değerine bölünüp 100 ile çarpılarak bulundu. Standartların ve örneklerin %B/B0 değeri aşağıdaki formülle göre hesaplandı.

$$\frac{\text{Standart ya da örneğin absorbans değeri}}{\text{Maksimum bağlanmanın absorbans değeri}} \times 100 = \frac{\%B}{B0} \qquad (3.1)$$

Geri kazanım değerinin hesaplanmasında, kit içerisindeki aflatoksin standartları için prosedürde yer alan referans değerler "beklenen değer" olarak kabul edildi. Aynı aflatoksin standartlarının ilgili kit ile laboratuvarda gerçekleştirilen ELİSA çalışması sonucundaki elde edilen veriler de "saptanan değer" olarak kabul edilerek % geri kazanım aşağıdaki formülle hesaplandı. Geri kazanım sonuçlarının her seviyede %70-130 arasında olması beklenir [41].

$$R=(T/N)\times 100 \qquad (3.2)$$

T= Saptanan değer

R= Beklenen değer

3.2.2 HPLC Yöntemi

HPLC metodu, T.C Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na bağlı İstanbul Gıda Kontrol Müdürlüğü'nde, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nden destek alınarak analiz edilmiştir. Analiz metodunda kullanılan tüm araç ve gereçler, kimyasallar ve çözeltiler İstanbul Gıda Kontrol Müdürlüğü'ne aittir.

3.2.2.1 Kullanılan alet ve ekipmanlar

- Blender: 22000 rpm
- Kaba terazi (min=5g e=1g d=0.1g)
- Analitik Terazi (min= 0.01g e=0.001g d=0.0001g)
- Filtre kâğıdı (24 cm)
- Rezervuar
- Vakum manifoldu ve pompası
- Agilent 1100 serisi HPLC cihazı
- Enjeksiyon loop: 100µL
- Kolon: 4,6 mm×25 cm ODS-2
- Dedektör : Floresans (Fluorescense) (Ex.:360 nm , Em.:430 nm)
- Kolon sonrası türevlendirme : (Post Column Derivatization System)
- Kobra cell
- İmmuno –Affiniti Kolonlar

3.2.2.2 Kullanılan kimyasallar

- NaCl

- PBS Solüsyonu (phosphate buffered saline –PBS: 8 g NaCl, 1.16 g Na_2HPO_4, 0.2 g KH_2PO_4 ve 0.2 g KCl bir litre saf suda çözünür ya da PBS tableti kullanılır.
- KBr
- Asetonitril (CH_3CN)
- Metanol (CH_3OH)
- % 65 HNO_3
- Toluen

3.2.2.3 Çözeltiler

- 4M HNO_3: 28,1 mL %65 HNO_3 (veya 26,1 mL %70 HNO_3) su ile 100 mL' ye tamamlanır.
- Ekstraksiyon Çözeltisi: 8 hacim CH_3OH +2 hacim su karıştırılır.
- Mobil faz
- Mobil faz: 6 hacim su +2 hacim CH_3CN +3 hacim CH_3OH karışımı ile mobil faz-A hazırlanır.
- Elektrokimyasal olarak Br_2 eldesi için, mobil faz'dan alınan 1L'lik bir porsiyona: 350 µL 4M HNO_3 ve 120 mg KBr ilave edilir. İyice karıştırılır ve çözülür.

3.2.2.4 Aflatoksin karışımı referans standart ara stok /2. Düzey stok standart çözeltileri

Ara stok - 2. düzey standart (98:2, hacim /hacim) Toluen: asetonitril kullanılarak, aflatoksinlerin gerçek konsantrasyonları dikkate alınıp hesaplanarak aşağıdaki konsantrasyonlarda tek viale karışık (mix) olarak hazırlanır (2. düzey stok).

Aflatoksin B_1 = 1000 ng /mL

Aflatoksin B_2 = 200 ng/mL

Aflatoksin G_1 = 1000 ng/mL

Aflatoksin G_2 = 200 ng/mL

3.2.2.5 Aflatoksin karışım (mix)- 3. Düzey stok standart, Kalibrasyon – Günlük çalışma çözeltileri

2. düzey stok standartlardan 1 mL alınır ve 10 ml'lik ölçülü balona pipetlenir. Toluen + asetonitril (98 hacim +2 hacim) çözeltisi ya da metanol ile 10 ml'ye tamamlanır ve iyice vortekslenir. Oluşan yeni karışımın (3. Düzey stok standart) konsantrasyonu B1-G1 0.1 ng/mL, B_2-G_2 0.02 ng/mL olur. 3. Düzey stok standart çözeltisinden kolon sonrası türevlendirme için karışık kalibrasyon ve analiz standardı hazırlanması: 3. Düzey stok standart çözeltisinden aşağıdaki tabloda verilen miktarlarda viale alınır, çözücü azot gazında ve oda sıcaklığında uçurulur. Her bir viale 1 mL metanol (HPLC saflığında) eklenir, tüp karıştırıcıda karıştırılarak aflatoksinlerin çözünmesi sağlanır ve ultra saf su ile 2.5 mL'ye tamamlanır. Ana stok metanol ile hazırlanmış ise aşağıda hazırlanan miktarlarda alınarak azot gazında uçurulma işlemi yapılmadan 1 mL methanole tamamlanır. Tüp karıştırıcı da karıştırılır ve 1,5 mL ultra saf su eklenir.

Çizelge 3.2 Çalışma- Kalibrasyon Standartları Hazırlama Tablosu

Standart No:	Mix Kalibrasyon Çözeltisinden (3. Düzey stok) Alınacak Porsiyonlar	Çalışma- Kalibrasyon Standardının Konsantrasyonu (ng/mL)			
		B_1	B_2	G_1	G_2
1	10	0,400	0,080	0,400	0,080
2	30	1,200	0,240	1,200	0,240
3	50	2,000	0,400	2,000	0,400
4	70	2,800	0,560	2,800	0,560
5	90	3,600	0,720	3,600	0,720
1	10	0,400	0,080	0,400	0,080

3.2.2.6 Ekstraksiyon

- Her numune iki paralel çalışılır.
- İyi örneklenmiş ve öğütülmüş numuneden 50 gr tartılıp blendıra konur. Üzerine 5 gr NaCl eklenir.
- Blendıra 300 mL metanol: su (80:20) eklenir.
- Blendır 30 dakika süre ile çalkalayıcıda çalkalanır.

- Yüksek devirde 2 dakika karıştırılır.
- Bu dilüsyon kaba süzgeç kâğıdından süzülür.
- Bu süzüntüden 10 mL alınıp bir behere konur.
- Behere 60 mL pbs konup karıştırılır.

3.2.2.7 İmmunoaffiniti kolon kromatografisi

Bu dilüsyonun tamamı immunoaffiniti kolondan süzülür. Süzülme sırasında kolondan damlalar 1-2 damla /saniye hızında olmalıdır. Dilüe edilmiş numune süzüldükten sonra kolondan 15 mL su geçirilerek kolon iyice yıkanır. Süzülme sırasında kolondan damlalar 1-2 damla/saniye hızında olmalıdır. Yıkama işlemi bittikten sonra temizlenen kolon temiz bir viale alınır ve HPLC saflığındaki metanol'den 0,5 ml alınıp kolona konur. Kolondan metanolün viale akış hızı yer çekimi etkisinde olmalıdır. Bir dakika bekledikten sonra 0,75 mL metanol ile aynı işlem tekrarlanır. Kolon methanol ile iyice yıkandıktan sonra viale 1,75 mL ultra saf su konur, iyice karıştırılır. 3 mL'ye tamamlanır. Vialdeki bu karışım iyice homojenize edilir. 100 µl HPLC'ye enjekte edilir.

3.2.2.8 HPLC çalışma aşaması ve kolon sonrası türevlendirme

Kobra-Cell ile Br_2 üretilecekse, cihazın montajı için yapımcının talimatları takip edilir. Bu takdirde çalışma parametreleri aşağıda belirtilen şekilde ayarlanır.

Akış Hızı: 1.00 mL/min

Akım: 100 µA

1-4 ng/g Aflatoksin B1'i kapsayacak konsantrasyonlarda Referans Standart çalışma çözeltileri en düşük konsantrasyondan başlayarak enjekte edilir (100 µl).

Kalibrasyon eğrisi çizilir. Linearite kontrol edilir. Örnek injeksiyon çözeltisi enjekte edilir (100 µl).

3.2.2.9 Hesaplama

$$\text{Aflatoksin} = \frac{A \times \text{Eluat} \times \text{Solvent} \times 10}{W \times L} \qquad (3.3)$$

W: 50 gr

A: HPLC Kromotografisinde okunan sonuç.

Eluat: viale alınan eluat volümü, 3 ml.

Solvent: Ekstraksiyon için alınan solvent miktarı, 300 ml.

10: Kalibrasyon tablosundan gelen düzeltme faktörü.

L: İmmunoaffinite kolondan geçen eluat miktarı, 10 ml.

3.2.2.10 Kullanılan HPLC cihazı

Aflatoksin tayini için Agilent 1100 Serisi HPLC cihazı kullanılmıştır.



Şekil 3.12 Agilent 1100 serisi HPLC cihazı

3.3 İstatistiksel Veriler

Semt pazarlarından toplanmış salça örneklerin ELISA ve HPLC yöntemleriyle seviyeleri ölçüldükten sonra sonuçları T-testi ile değerlendirildi. T-testi sonuçlarına göre metotlar (ELISA ve HPLC) arasındaki farklılık için güvenaralığı 0,05'tir.

BÖLÜM 4

DENEYSEL SONUÇLAR

Analiz Sonuçları

4.1 ELISA Metodu

Helica low matrix marka kit içerisinde bulunan, her bir standart değerinin yorumlanmasında kullanılan konsantrasyon oranı (1:50) ve %B/B0 oranları çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Çalışma standart eğrisi için kullanılan kit verileri

Standart(ng/mL)	Konsantrasyon(ppb) 1:50	%B/B
0.0	0	100
0.02	1	81
0.05	2,5	59
0.1	5	34,7
0.2	10	17,5
0.4	20	12,6

Test kiti içerisindeki 6 adet standardın %B/B0 oranlarına karşılık gelen ppb değerleri çizelge 4.2'de verilmiştir. Bu çizelgeye göre;

- 0.0 standardının %B/B0 oranı 100, bu orana karşılık gelen ppb değeri 0,
- 0.02 standardın %B/B0 oranı 83-92 aralığında ve buna karşılık gelen ppb değeri 1,
- 0.05 standardın %B/B0 oranı 66-75 aralığında ve buna karşılık gelen ppb değeri 2,5,

- 0.1 standardın %B/B0 oranı 40-55 aralığında ve buna karşılık gelen ppb değeri 5,
- 0.2 standardın %B/B0 oranı 18-30 aralığında ve buna karşılık gelen ppb değeri 10,
- 0.4 standardın %B/B0 oranı 9-17 aralığında ve buna karşılık gelen ppb değeri 20

dir.

Çizelge 4.2 Standartların %B/B0 oranına karşılık gelen ppb değerleri

ng/ml Standart	%B/B_0 Oranı	ppb
0.0	100	0.0
0.02	83-92	1.0
0.05	66-75	2.5
0.1	40-55	5.0
0.2	18-30	10.0
0.4	9-17	20.0

4.1.1 ELISA Metodu Toplam Aflatoksin Çalışma Standartlarının Ortalaması

Kit içerisinde yer alan standartların her biri çift olarak çalışıldı. Standartlar yedi kez tekrar edildi ve her bir standart için 14 ölçüm yapılmış oldu. Tüm standartların ölçümlerinin ortalaması alındı. %B/B0 değerlerinin de ortalaması alınarak bunlara karşılık gelen konsantrasyonların (ppb) değerleri çizelge 4.3'te verildi.

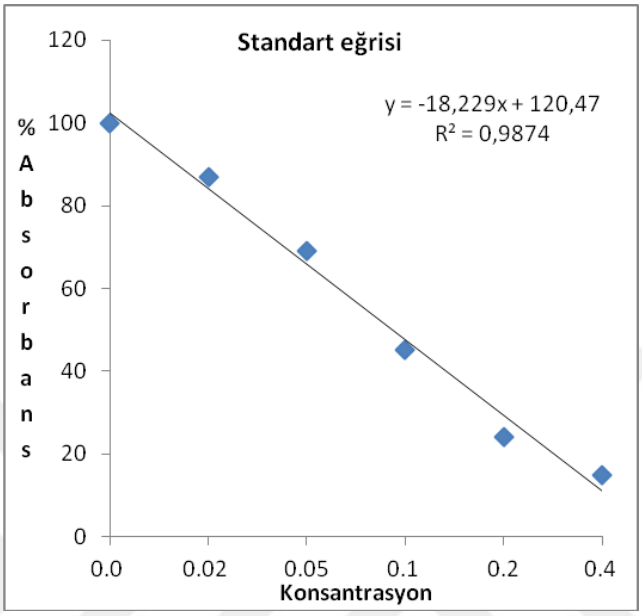
Çizelge 4.3 ELISA metodu toplam aflatoksin çalışılan standartların ortalaması

Standart	Absorbans ölçümlerin ort.	%B/B0 ort.	ppb
0.0	2,617	100	0
0.02	2,289	87	1
0.05	1,812	69	2,5
0.1	1,183	45	5
0.2	0,657	24	10
0.4	0,426	15	20

Elde edilen sonuçlar, kit içinde verilen değerlere uygunluk göstermektedir. Çalışılan standartların konsantrasyonları kitte verilen referans aralığı ile uyumludur. Bu durum sonuçlarımızı doğrulamaktadır.

4.1.2 ELISA Metodu Toplam Aflatoksin Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması

ELISA test kitinin içinde bulunan kullanıma hazır farklı konsantrasyonlardaki standartlar 450 nm absorbansta ELISA reader cihazında okutulduktan sonra excel programında değerlendirilerek kalibrasyon eğrileri çizildi.



Şekil 4.1 ELISA metodu toplam aflatoksin kalibrasyon eğrisi

4.1.3 ELISA Metodu Toplam Aflatoksin Sonuçları

Her bir örnek çift olarak çalışıldı. I. ve II. ölçüm değerleri, ELISA cihazında okutulan absorbans değerleridir ve %B/B0 değerleri, örneklerin OD ortalamasının, 0.0 standardının OD ortalamasına bölünüp 100 ile çarpımıyla elde edilmiştir.

Aflatoksin ppb miktarları ise, test kitinde bulunan her bir standardın %B/B0 oranlarına karşılık gelen ppb değerlerine göre saptanmıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.4 ELISA metodu toplam aflatoksin sonuçları

Örnek	I.değer	II. değer	OD ort	%B/B0	Aflatoksin miktarı (ppb)
1	1,413	1,462	1,438	96,41	0
2	1,551	1,568	1,560	104,59	0
3	1,874	1,986	1,93	116,7	0
4	1,805	1,802	1,8	109	0
5	1,824	1,799	1,81	109,5	0
6	1,875	1,815	1,84	111,5	0
7	1,816	1,764	1,79	108,2	0
8	1,802	1,857	1,83	110,6	0
9	1,877	1,886	1,88	113,8	0
10	1,815	1,854	1,83	110,9	0
11	1,95	2,08	2,016	83,96	1
12	2,09	2,07	2,082	86,73	1
13	2,12	2,13	2,127	88,59	1
14	1,97	1,95	1,958	81,57	1
15	2,16	2,07	2,114	88,04	1
16	2,02	2,06	2,04	84,98	1
17	2,08	2,02	2,052	85,48	1
18	2,24	2,14	2,193	91,36	1
19	2,26	2,21	2,239	93,25	0
20	2,16	2,26	2,213	92,16	0
21	2,16	2,15	2,155	92,75	0
22	2,13	2,24	2,185	92,09	0
23	2,3	2,11	2,202	92,73	0
24	1,78	1,89	1,832	76,34	1-2,5
25	2,15	2,23	2,185	91,04	1
26	2,065	2,068	2,067	86,08	1
27	2,79	2,87	2,828	99,54	0
28	2,81	2,92	2,868	101	0
29	2,46	2,45	2,452	86,31	1
30	2,59	2,59	2,592	91,25	1
31	2,49	2,43	2,464	86,73	1
32	2,33	2,33	2,328	81,95	1
33	2,32	2,28	2,297	80,85	1
34	2,41	2,37	2,388	84,05	1
35	2,37	2,45	2,41	84,84	1
36	2,52	2,29	2,407	84,74	1

Çizelge 4.4 ELISA metodu toplam aflatoksin sonuçları (Devamı)

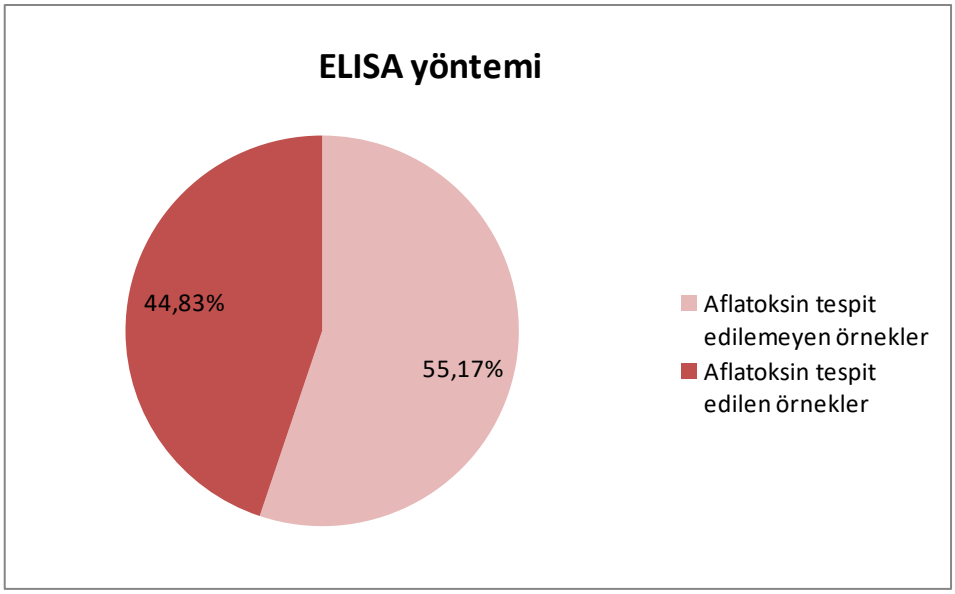
Örnek	I.değer	II. değer	OD ort	%B/B0	Aflatoksin miktarı (ppb)
37	2,92	3,04	2,978	98,67	0
38	2,98	3,1	3,039	100,7	0
39	2,59	2,65	2,621	86,83	1
40	2,68	2,98	2,828	93,7	0
41	2,84	2,89	2,867	95	0
42	2,88	2,77	2,826	93,64	0
43	2,87	2,76	2,812	93,17	0
44	2,6	2,55	2,574	85,27	1
45	2,72	2,92	2,822	93,49	0
46	2,98	2,83	2,909	96,37	0
47	2,8	2,8	2,802	90,83	1
48	2,14	2,22	2,183	72,32	1-2,5
49	2,87	2,94	2,904	96,22	0
50	2,85	2,69	2,767	92,68	0
51	2,73	2,74	2,737	90,69	1
52	2,94	2,98	2,958	98,01	0
53	2,75	2,74	2,747	91,02	1
54	2,71	2,75	2,729	90,42	1
55	3,39	3,39	3,394	92,7	0
56	3,38	3,35	3,367	92,67	0
57	3,39	3,48	3,432	93,45	0
58	3,34	3,38	3,358	92,44	0
59	3,37	3,36	3,368	94,71	0
60	3,18	3,12	3,147	85,69	1
61	2,98	3,04	3,009	81,91	1-2,5
62	3,31	3,31	3,307	93,03	0
63	3,17	3,23	3,2	87,12	1
64	3,11	3,01	3,059	83,29	1
65	3,13	3,02	3,075	83,71	1
66	3,34	3,36	3,349	91,19	1
67	3,18	3,07	3,121	84,98	1
68	3,49	3,36	3,426	93,29	0
69	3,19	3,06	3,12	84,95	1
70	3,34	3,39	3,367	92,66	0
71	3,37	3,41	3,386	92,18	0
72	2,96	2,93	2,948	83,26	1

Çizelge 4.4 ELISA metodu toplam aflatoksin sonuçları (Devamı)

Örnek	I.değer	II. değer	OD ort	%B/B0	Aflatoksin miktarı (ppb)
73	3,34	3,29	3,312	102,2	0
74	3,24	3,19	3,212	99,12	0
75	3,38	3,22	3,296	101,7	0
76	3,34	3,44	3,39	104,6	0
77	3,35	3,4	3,372	104,1	0
78	2,7	2,78	2,742	84,61	1
79	2,74	2,85	2,794	86,23	1
80	3,25	3,13	3,189	98,42	0
81	2,94	2,89	2,915	89,96	1
82	3,23	3,08	3,156	97,39	0
83	3,19	3,24	3,211	99,08	0
84	2,56	2,33	2,445	75,46	1-2,5
85	3,13	3,2	3,168	97,77	0
86	3,19	2,93	3,061	94,47	0
87	2,97	2,93	2,95	93,03	0

Elde edilen bulgulara göre analizi yapılan 87 örneğin 39 tanesinde (% 44,82'sinde) aflatoksin tespit edimiş, 48 tanesinde (% 55,17'sinde) ise aflatoksin tespit edilmemiştir. Aflatoksin içeren ve içermeyen örneklerin yüzdeleri şekil 4.2 'de verilmiştir.

Örneklerin ölçüm sonuçlarına göre, toplam aflatoksin tespit edilen örneklerin 4'ü dışında diğerlerinde aflatoksin miktarı 0.0 ile 0.02 konsantrasyon (ppb) aralığındadır. 24, 48, 61 ve 84. örnekler ise 0.02 ile 0.05 konsantrasyon aralığında toplam aflatoksin tespit edilmiştir.



Şekil 4.2 ELISA metodu toplam aflatoksin içeren ve içermeyen örneklerin yüzdeleri

4.1.4 ELISA Metodu Aflatoksin B1 Çalışma Standartlarının Ortalaması

Kit içerisinde yer alan standartların her biri çift olarak çalışıldı. Standartlar iki kez tekrar edildi ve her bir standart için 4 ölçüm yapılmış oldu. Tüm standartların ölçümlerinin ortalaması alındı. %B/B0 değerlerinin de ortalaması alınarak bunlara karşılık gelen konsantrasyonların (ppb) değerleri çizelge 4.3'te verildi.

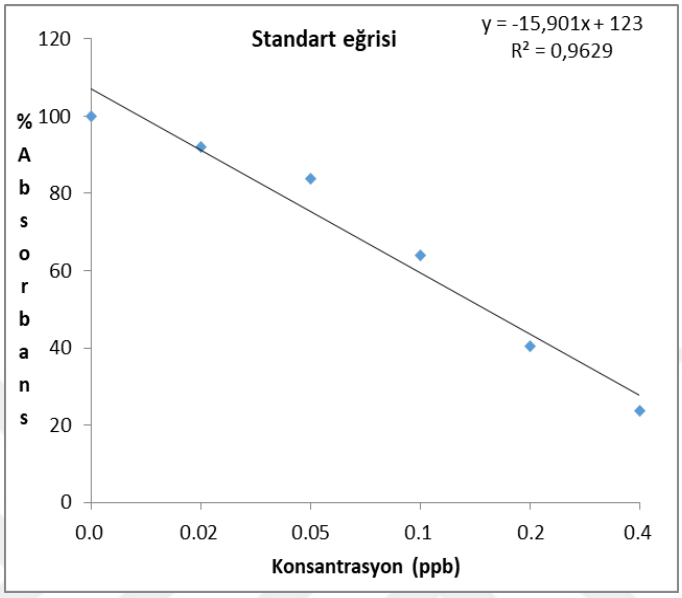
Çizelge 4.5 ELISA metodu aflatoksin B1 için çalışılan standartların ortalaması

Standart	Absorbans ölçümlerin ort	%B/B0 ort	ppb
0.0	2,267	100	0
0.02	1,950	86,03	1
0.05	1,600	70,57	2,5
0.1	1,131	49,87	5
0.2	0,664	29,2	10
0.4	0,374	16,4	20

Elde edilen sonuçlar, kit içinde verilen değerlere uygunluk göstermektedir. Çalışılan standartların konsantrasyonları kitte verilen referans aralığı ile uyumludur. Bu durum sonuçlarımızı doğrulamaktadır.

4.1.5 ELISA Metodu Aflatoksin B1 Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması

ELISA test kitinin içinde bulunan kullanıma hazır farklı konsantrasyonlardaki standartlar 450 nm absorbansta ELISA reader cihazında okutulduktan sonra excel programında değerlendirilerek kalibrasyon eğrileri çizildi.



Şekil 4.3 ELISA metodu aflatoksin B1 kalibrasyon eğrisi

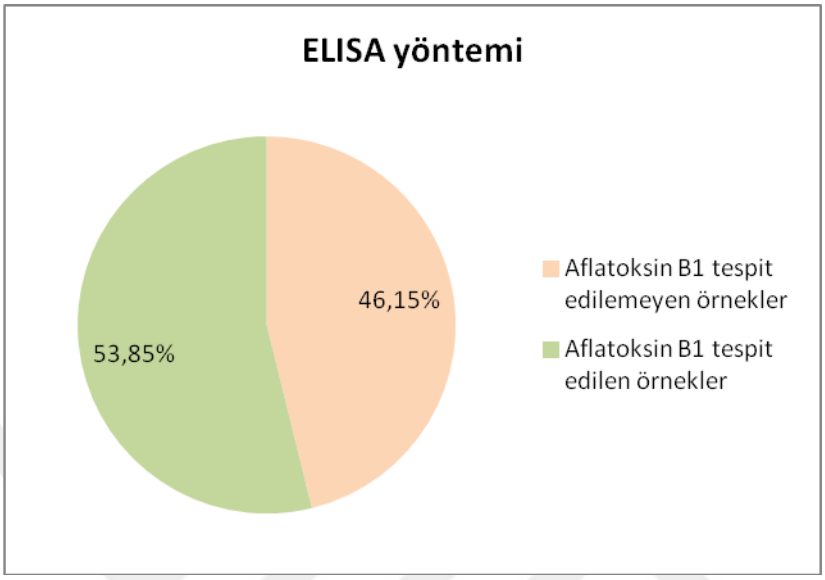
4.1.6 ELISA Metodu Aflatoksin B_1 Sonuçları

Aflatoksin B1 tespitinde ELISA cihazında okunan absorbans değerleri, bu değerlerin ortalaması (OD ort), %B/B0 değerleri aşağıdaki çizelgede verilmiştir. Aflatoksin B1 miktarı (ppb) çizelge 4.2 'deki %B/B0 referans aralığına göre saptanmıştır.

Çizelge 4.6 ELISA metodu B1 aflatoksin sonuçları

Örnek	I. Değer	II. Değer	OD ort	%B/B0	Aflatoksin B1miktarı (ppb)
26	1,219	1,212	1,216	100,0	0
32	1,117	1,217	1,167	96,08	0
33	1,184	1,302	1,243	102,3	0
34	1,186	1,2	1,193	98,2	0
35	1,157	1,197	1,177	96,9	0
36	1,121	1,111	1,116	91,0	1
39	1,033	1,169	1,101	90,6	1
44	1,098	1,079	1,089	89,6	1
47	1,099	1,181	1,140	91,3	1
48	1,063	1,127	1,095	90,1	1
51	1,221	1,212	1,217	100	0
53	1,088	1,111	1,100	90,5	1
54	1,127	1,149	1,138	90,7	1
60	1,045	1,081	1,063	87,5	1
61	1,017	1,113	1,065	87,6	1
66	1,04	1,094	1,067	87,8	1
67	1,06	1,132	1,096	90,2	1
69	1,069	1,107	1,088	89,5	1
70	1,092	1,141	1,117	92,0	0
78	1,101	1,09	1,096	90	1
11	3,169	3,11	3,140	94,62	0
12	3,14	3,21	3,175	95,69	0
13	3,271	3,023	3,147	94,84	0
14	3,215	3,199	3,207	96,65	0
15	3,165	3,29	3,228	97,27	0
16	3,098	3,272	3,185	95,99	0
17	2,849	3,005	2,927	88,21	1
18	3,108	3,197	3,153	95,01	0
24	2,876	2,639	2,758	83,10	1
25	2,975	2,95	2,9625	89,28	1
63	3,403	3,408	3,406	102	0
64	3,231	3,409	3,320	100	0
65	2,98	2,938	2,938	88,5	1
68	3,269	3,21	3,240	97,6	0
71	3,334	3,286	3,310	99,75	0
72	3,005	2,896	2,951	88,92	1
79	2,957	2,692	2,825	85,1	1
81	3,096	3,003	3,050	90,5	1
84	2,947	3,007	2,977	89,7	1

Elde edilen bulgulara göre analizi yapılan 39 örneğin, 21 tanesinde (% 53,85'inde) aflatoksin B1 tespit edimiş, 18 tanesinde (% 46,15'inde) ise aflatoksin B1 tespit edilmemiştir. Aflatoksin B1 içeren ve içermeyen örneklerin yüzdeleri şekil 4.4 'de verilmiştir.



Şekil 4.4 ELISA metodu aflatoksin B1 içeren ve içermeyen örneklerin yüzdeleri

4.1.6.1 ELISA metodu toplam aflatoksin geri kazanım çalışması

ELISA metodunun standart (0.0, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4) çalışmasının tekrarlarından elde edilen sonuçlardan %geri kazanım hesaplandı Her bir standardın geri kazanım oranları çizelge 4.14'te verilmiştir.

Çizelge 4.7 ELISA metodu toplam aflatoksin geri kazanım sonuçları

Toplam Aflatoksin % Geri Kazanım Tablosu						
Standartlar	**0.0**	**0,02**	**0,05**	**0,1**	**0,2**	**0,4**
Kitteki referans aralığı %B/B_0	100	83-92	66-75	40-55	18-30	9-17
Labda elde edilen						
1	100	85,54	69,55	47,58	20,65	12,44
2	100	85,82	68,86	45,15	22,65	16,17
3	100	87,77	71,91	44,31	23,01	16,89
4	100	88,14	67,81	41,41	24,07	16,83
5	100	91,71	70,75	46,51	24,87	16,26
Kit ort	100	87,5	70,5	47,5	24	13
Lab ort	100	87,796	69,776	44,992	23,05	15,718
% Geri Kazanım	100	99,66285	101,0376	105,5743	104,1215	82,70772

4.2 HPLC Metodu Sonuçları

HPLC yöntemi ile örneklerin toplam aflatoksin ve aflatoksin B1 tespiti için analizi, T.C Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na bağlı İstanbul Gıda Kontrol Müdürlüğü'nde hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla gerekli bütçe Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nden destek alınarak gerçekleştirilmiştir.

4.2.1 HPLC Metodu Toplam Aflatoksin Sonuçları

Rastgele örneklem yöntemiyle toplam numune içerisinden seçilen 64 adet numunenin toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) açısından HPLC analiz sonuçları çizelge 4.15'de verilmiştir. Toplam aflatoksin miktarları (ppb), AOAC 999,07 analiz metodu ile tespit edilmiştir. HPLC metodu ile tespit edilen toplam aflatoksin; B1, B2, G1 ve G2 parametreleri için en küçük tespit limit değerleri (LOD), sırasıyla; 0.2, 0.1, 0.3, 0.5 olarak verilmiştir.

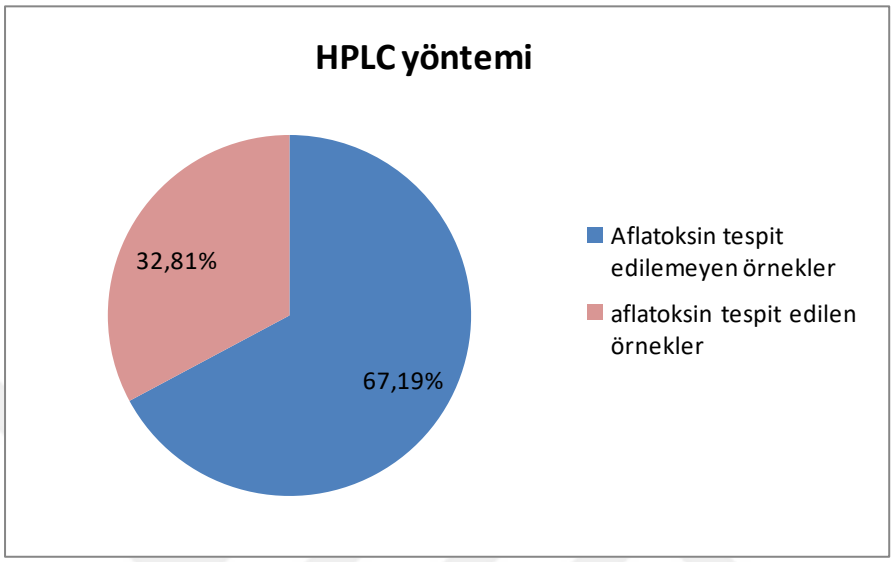
Çizelge 4.8 HPLC metodu toplam aflatoksin değerleri

Test örnekleri	Toplam Aflatoksin (B1+B2+G1+G2) (pbb)	%Geri Kazanım	Ölçüm Belirsizliği	Analiz Metodu
17	1,66	90%	-/+0,46	AOAC 999.07
18	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
19	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
20	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
22	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
24	0,33	92%	-/+0,07	AOAC 999.07
25	0,98	92%	-/+0,19	AOAC 999.07
26	0,35	91%	-/+0,09	AOAC 999.07
27	Tespit edilemedi	92%		AOAC 999.07
28	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
29	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
30	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
33	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
34	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
35	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
36	0,56	91%	-/+0,15	AOAC 999.07
37	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
38	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
39	0,84	92%	-/+0,17	AOAC 999.07
40	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
41	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
42	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07

Çizelge 4.8 HPLC metodu toplam aflatoksin değerleri (Devamı)

43	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
44	0,22	92%	-/+0,03	AOAC 999.07
45	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
47	1,27	92%	-/+0,25	AOAC 999.07
48	2,18	81%	-/+0,74	AOAC 999.07
49	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
50	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
51	0,8	91%	-/+0,15	AOAC 999.07
52	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
53	0,61	92%	-/+0,12	AOAC 999.07
54	0,65	92%	-/+0,13	AOAC 999.07
55	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
56	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
57	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
58	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
59	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
61	2,34	92%	-/+0,47	AOAC 999.07
62	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
64	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
65	0,21	96%	-/+0,05	AOAC 999.07
66	1,14	92%	-/+0,23	AOAC 999.07
67	0,92	90%	-/+0,26	AOAC 999.07
68	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
69	0,64	92%	-/+0,13	AOAC 999.07
70	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
71	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
72	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
73	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
74	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
75	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
76	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
77	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
78	0,93	92%	-/+0,19	AOAC 999.07
79	0,54	92%	-/+0,10	AOAC 999.07
80	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
81	0,78	92%	-/+0,16	AOAC 999.07
82	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
83	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
84	0,59	92%	-/+0,12	AOAC 999.07
85	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
86	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07
87	Tespit edilemedi	90%		AOAC 999.07

Analiz sonucunda elde edilen bulgulara göre 64 örneğin, 21 tanesinde (% 32,81 'inde) toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) tespit edilmiş, 43 tanesinde (%67,19) ise toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) tespit edilememiştir. Aflatoksin içeren ve içermeyen örneklerin yüzdeleri şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5 HPLC metodu toplam aflatoksin içeren ve içermeyen örneklerin yüzdeleri

4.2.2 HPLC Metodu Aflatoksin B1 Sonuçları

Toplam 64 adet örneğin HPLC yöntemiyle tespit edilen aflatoksin B1 sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9 HPLC metodu aflatoksin B1 değerleri

Test örnekleri	Aflatoksin B1 (pbb)	Ölçüm Limiti	%Geri Kazanım	Ölçüm Belirsizliği	Analiz Metodu
17	0,9	0,2	92%	-/+0,18	AOAC 999.07
18	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
19	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
20	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
22	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
24	0,33	0,2	92%	-/+0,07	AOAC 999.07
25	0,98	0,2	92%	-/+0,19	AOAC 999.07
26	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
27	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
28	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
29	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07

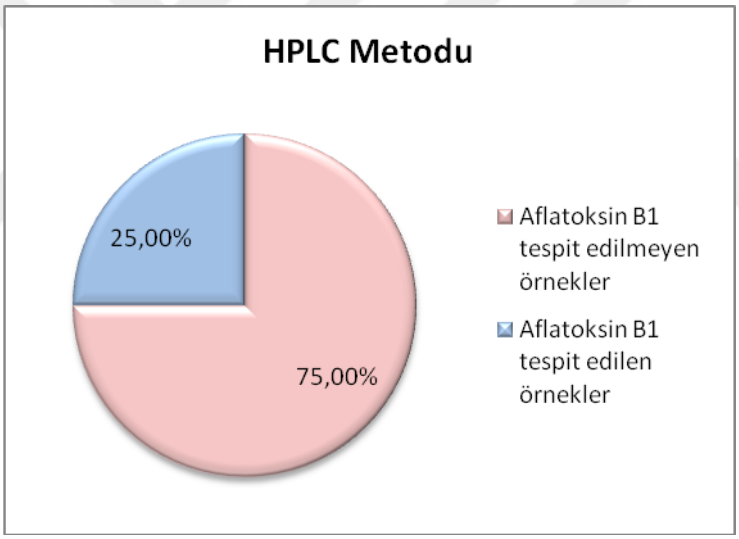
Çizelge 4.9 HPLC metodu aflatoksin B1 değerleri (Devamı)

30	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
33	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
34	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
35	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
36	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
37	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
38	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
39	0,84	0,2	92%	-/+0,17	AOAC 999.07
40	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
41	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
42	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
43	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
44	0,22	0,2	92%	-/+0,03	AOAC 999.07
45	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
47	1,27	0,2	92%	-/+0,25	AOAC 999.07
48	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
49	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
50	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
51	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
52	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
53	0,61	0,2	92%	-/+0,12	AOAC 999.07
54	0,65	0,2	92%	-/+0,13	AOAC 999.07
55	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
56	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
57	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
58	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
59	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
61	2,34	0,2	92%	-/+0,47	AOAC 999.07
62	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
64	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
65	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
66	1,14	0,2	92%	-/+0,23	AOAC 999.07
67	0,68	0,2	92%	-/+0,14	AOAC 999.07
68	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
69	0,64	0,2	92%	-/+0,13	AOAC 999.07
70	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
71	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
72	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
73	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
74	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
75	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
76	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
77	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07

Çizelge 4.9 HPLC metodu aflatoksin B1 değerleri (Devamı)

78	0,93	0,2	92%	-/+0,19	AOAC 999.07
79	0,54	0,2	92%	-/+0,10	AOAC 999.07
80	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
81	0,78	0,2	92%	-/+0,16	AOAC 999.07
82	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
83	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
84	0,59	0,2	92%	-/+0,12	AOAC 999.07
85	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
86	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07
87	Tespit edilemedi	0,2	92%		AOAC 999.07

Elde edilen bulgulara göre analizi yapılan 64 örneğin, 16 tanesinde (%25) aflatoksin B1 tespit edilmiş, 48 tanesinde (%75) aflatoksin B1 tespit edilememiştir. Aflatoksin B1 içeren ve içermeyen örneklerin yüzdeleri şekil 4.6'te verilmiştir.



Şekil 4.6 HPLC metodu aflatoksin B1 içeren ve içermeyen örneklerin yüzdeleri

4.3 ELISA ve HPLC Sonuçlarının Karşılaştırılması

ELISA yöntemi ile analiz edilen toplam 87 adet örnekten 39'unun toplam aflatoksin içerdiği, 48'inin ise toplam aflatoksin içermediği tespit edilmiştir. Toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) varlığı tespit edilmiş 39 örnekten 21 tanesinin aflatoksin B1 içerdiği saptanmıştır.

HPLC yönteminde analizi yapılan 64 örnekte hem toplam aflatoksin hem de AFB1 analizi gerçekleştirilmiş olup 21'inin toplam aflatoksin 16'sının ise AFB1 içerdiği

tespit edilmiştir. Çizelge 4.10'da ELISA ve HPLC yöntemleri ile analiz edilen örneklerin toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) sonuçları karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.10 ELISA ve HPLC yöntemlerinde toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) ile kontamine olmuş örneklerin sayılarının karşılaştırılması

Yöntem çeşidi	Toplam örnek sayısı	Tespit edilemeyen sayısı	≤1 ppb sayısı	1-2,5 ppb sayısı	2,5-5 ppb sayısı	>5 ppb sayısı
ELISA	87	48	35	4	-	-
HPLC	64	43	16	5	-	-

Çizelge 4.10'a göre, ELISA yönteminde toplam aflatoksin tespit edilen 39 örnekten 35'inde ≤1 ppb, 4 tanesinde ise 1 ile 2,5 ppb aralığındadır. HPLC yönteminde toplam aflatoksin tespit edilen 21 örnekten 16'sında <1 ppb (1 ppb'nin altında), 5 tanesinde ise 1 ile 2,5 ppb aralığındadır. Toplam aflatoksine 2,5-5 ppb aralığında ve 5 ppb üzerinde rastlanılmamıştır.

Çizelge 4.11 ELISA ve HPLC yöntemlerinde aflatoksin B1 (AFB1) ile kontamine olmuş örneklerin sayılarının karşılaştırılması

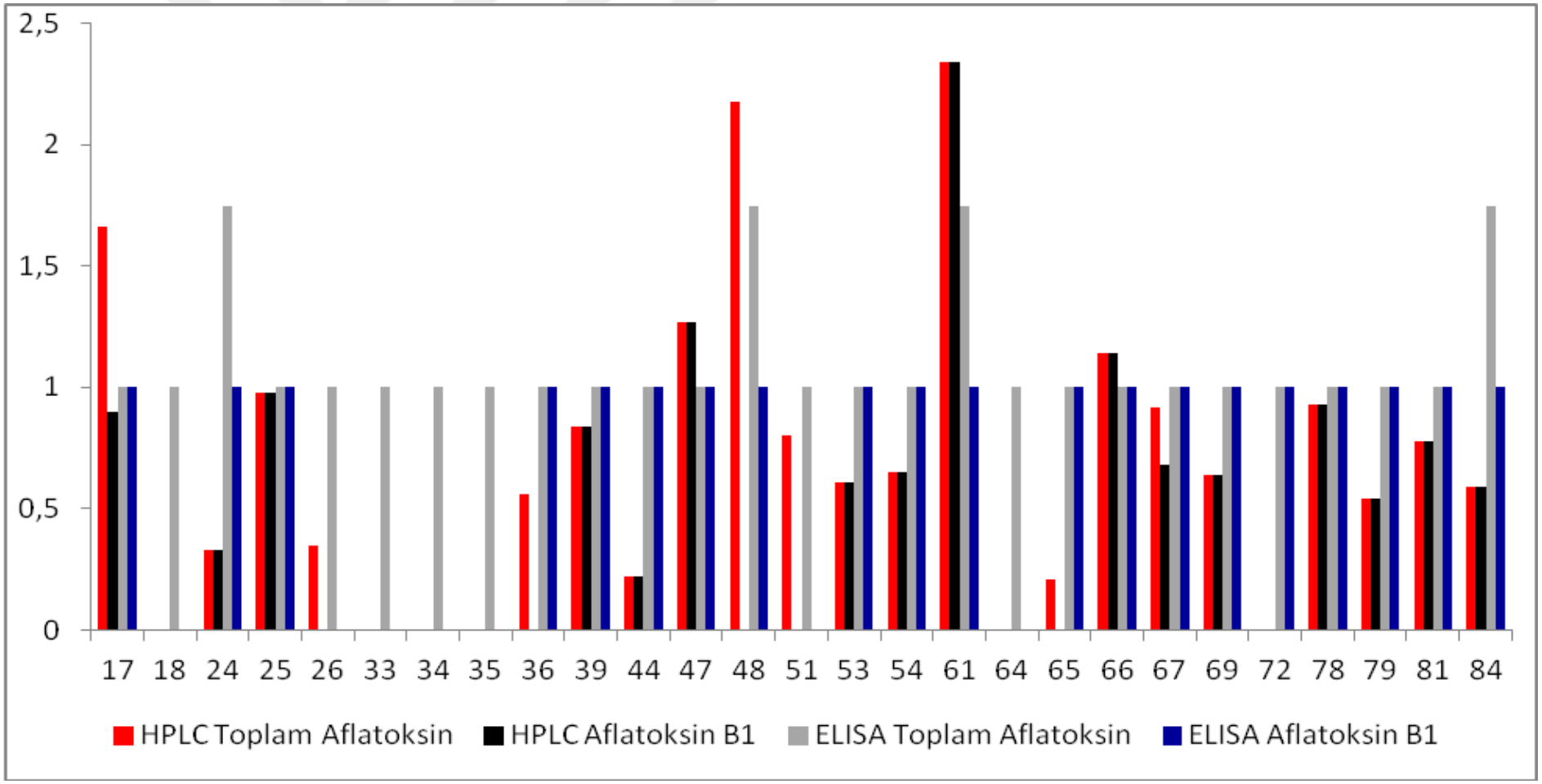
Yöntem çeşidi	Toplam örnek sayısı	Tespit edilemeyen sayısı	≤1 ppb sayısı	1-2,5 ppb sayısı	2,5-5 ppb sayısı	>5 ppb sayısı
ELISA	39	18	21	-	-	-
HPLC	64	48	13	3	-	-

AFB1 içeren örneklerin karşılaştırılmasının yapıldığı çizelge 4.11'e göre, ELISA yöntemiyle analiz edilen 39 örnekten 21'inde 1 ppb AFB1 tespit edilmiştir. Geriye kalan 18 numunede AFB1 varlığına rastlanmamıştır. ELISA yönyeminde AFB1 varlığı sadece 1 ppb düzeyinde tespit edilmiş olup, daha yüksek bir değere rastlanılmamıştır. HPLC yöntemiyle analiz elden 64 örnekten 13'ünde 1 ppb'nin altında ve 3 tanesinde ise 1-2,5 ppb aralığında AFB1 varlığı tespit edilmiştir. 2,5 ppb'in üzerinde AFB1'e HPLC yönteminde rastlanılmamıştır.

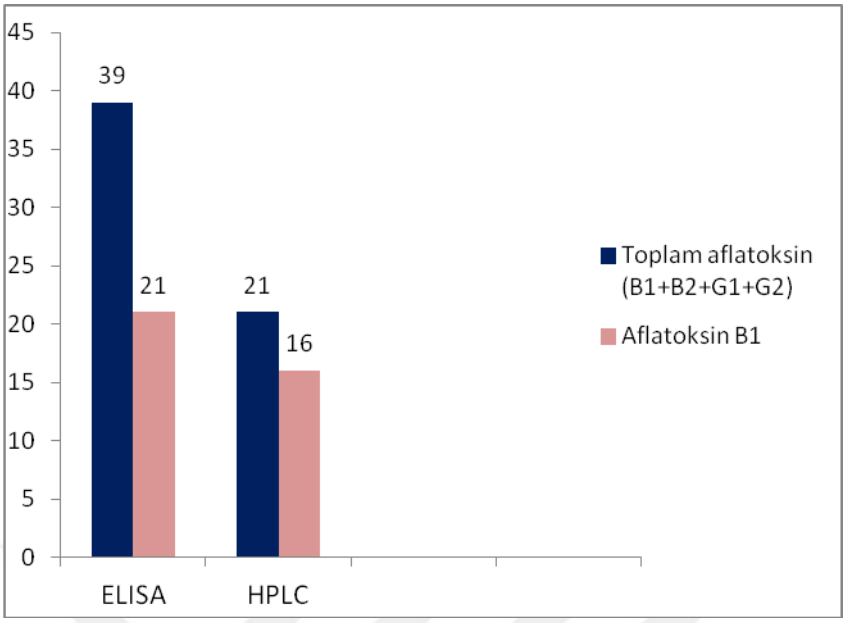
Toplam aflatoksin ve AFB1 varlığı tespit edilmiş numelerdeki ELISA ve HPLC yöntemlerinin sonuç bazında farklılıkları Çizelge 4.12 ve Şekil 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.12 ELISA ve HPLC pozitif çıkan sonuçlar arasındaki farklılıklar

Örnek	ELISA		HPLC	
	Toplam aflatoksin (ppb)	Aflatoksin B1 (ppb)	Toplam aflatoksin (ppb)	Aflatoksin B1 (ppb)
17	1	1	1,66	0,9
18	1	0	0	0
24	1-2,5	1	0,33	0,33
25	1	1	0,98	0,98
26	1	0	0,35	0
33	1	0	0	0
34	1	0	0	0
35	1	0	0	0
36	1	1	0,56	0
39	1	1	0,84	0,84
44	1	1	0,22	0,22
47	1	1	1,27	1,27
48	1-2,5	1	2,18	0
51	1	0	0,8	0
53	1	1	0,61	0,61
54	1	1	0,65	0,65
61	1-2,5	1	2,34	2,34
64	1	0	0	0
65	1	1	0,21	0
66	1	1	1,14	1,14
67	1	1	0,92	0,68
69	1	1	0,64	0,64
72	1	1	0	0
78	1	1	0,93	0,93
79	1	1	0,54	0,54
81	1	1	0,78	0,78
84	1-2,5	1	0,59	0,59



Şekil 4.7 ELISA ve HPLC'de toplam aflatoksin ve AFB1 değerleri arasındaki farklılıklar



Şekil 4.8 ELISA ve HPLC 'de AFB1 ve toplam aflatoksin (ppb)

Analiz edilen numunelerden ELISA yöntemi ile elde edilen sonuçlara göre; 39 adet toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) içeren numunenin 21 tanesinde AFB1 tespit edilirken, HPLC yönteminde ise 21 adet toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) içeren numunenin 16 tanesinde AFB1 içerdiği tespit edilmiştir.

4.4 İstatistiksel Veriler

ELISA ve HPLC metotları ile incelenen toplam aflatoksin ve aflatoksin B1 seviyeleri T-testi sonuçlarına göre değerlendirildiğinde, %95 güvenirlik düzeyinde metotlar arasında anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Birçok gıdada küf gelişimi ve mikotoksin oluşumu başta Türkiye olmak üzere tüm ülkeleri yakından ilgilendirmektedir. Gıdalardaki aflatoksinler ile ilişkili sağlık riskleri nedeniyle, gıdaların aflatoksin içeriklerini ve kalitesini belirlemek önemlidir. Bilimsel çalışmalar neticesinde elde edilen bulgular aflatoksin kontaminasyonunun düşük dozda bile yüksek kanserojen riski taşıdığını ortaya koymuştur.

Domates, mantar kontaminasyonuna duyarlı yumuşak bir yüzeye sahip gıdadır. Domatesin üretim ve depolama süreçlerinde birçok mantar çeşidinin toksin üreten suşlarının da var olduğu bilinmektedir. Amerikada domateste bulunan temel mantarlar; *Alternaria, Aspergillus, Botrytis, Cladosporium, Colletotrichum, Fusarium, Geotrichum, Mucor, Penicillium, Phytophthora, Rhizophus* ve *Stemphylium* olduğu saptanmıştır [34]. Türkiye'nin çoğu bölgesinde kırmızıbiber; kırmızı pul biber, kırmızıbiber salçası ve kırmızıbiber sosu olarak tüketilir. Kırmızı pul biber, hatalı üretim işleminde, kurutma aşamasında ve kötü depolama koşulları sonucunda büyük oranda mikrobiyal kontaminasyona maruz kalır. Kurutulma işlemi açık havada olduğundan uygun olmayan koşullara bağlı olarak aflatoksin oluşumuna neden olmaktadır [2].

Ülkemizde geleneksel besin olan biber salçası ve domates salçası genellikle açık havada güneş altında üretidiğinden aflatoksin üreten fungusların kontaminasyonuna maruz kalabilir. Kırmızıbiberden biber sosu da yapıldığından AFB1 riski, kırmızı pul biber ve biber salçasının dışında biber sosunu da kapsamaktadır. Böylece kırmızıbiber ürünleri de aflatoksin riski taşımaktadır [2].

Aflatoksin oluşumunda ürünün nem içeriği, bulunduğu ortamın sıcaklığı ve depolama koşulları çok önemlidir. Depolama koşullarının yanında ürünlerin hasat edilmesi sırasında üründe meydana gelen mekanik tahribat kontaminasyon riskini artırır. Yapılan birçok araştırma kurutma ve depolamanın koşullarının aflatoksin oluşumu açısından son derece önemli olduğunu ortaya koymuştur. Depolama işlemi mikotoksin açısından en kritik aşama olmakla birlikte, depolama sırasında ürünün kontamine olmaması için depolarda uygun bağıl nem ve sıcaklık koşulları kontrollü olarak sağlanmalıdır. Uygun şekilde ambalajlanmış ürünler kuru ve serin ortamda saklanmalıdır [7].

Gıdalara aflatoksin bulaştıktan sonra kavurma, haşlama gibi yüksek sıcaklık uygulamaları fazla etkili olmamaktadır. Gıdalara aflatoksin bulaşmasını önlemek için sıcaklık uygulamalarının ürünün depolanmasından önce yapılması gerekir. Aynı zamanda fiziksel ayırma işlemleri ile de ürün tamamen güvence altına alınmalıdır [7].

Sunulan çalışmada, İstanbul ilinde semt pazarlarından elde edilen 87 adet salça numunesi ELISA ve HPLC yöntemiyle incelenmiş ve aflatoksinle kontamine örnekler tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine göre, kırmızıbiber (*Capsicum spp*.) (bunların kurutulmuş meyveleri, tüm ve öğütülmüş halleri dahil) maksimum aflatoksin seviyesi aflatoksin B1 için 5 ppb, toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) için ise 10 ppb'dir (EK-2). Sunulan çalışmanın örneklerinde aflatoksin seviyeleri, Türk Gıda Kodeksi limit değerlerinin üzerinde çıkmamıştır. Bu nedenle incelenen örneklerin halk sağlığı açısından risk oluşturmadığı düşünülmektedir.

ELISA yönteminde, toplam 87 adet salça incelenmiştir. Bunlardan, 35 adet örnekte toplam aflatoksin değeri 1 ppb, 4 adet örnekte 1-2,5 ppb aralığında olmak üzere toplam 39 adet örnekte (%44,82) aflatoksin tespit edilmiştir. 48 adet örnekte (% 55,17) ise toplam aflatoksin tespit edilememiştir. Toplam aflatoksin varlığı tespit edilmiş örneklerin aflatoksin B1 seviyeleri incelendiğinde, bunlardan 21 tanesinde aflatoksin B1 seviyesi 1 ppb olarak bulunmuştur. 11 adet örnekte ise aflatoksin B1 tespit edilememiştir.

HPLC yöntemiyle de, 64 adet salça numunesinde toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2) ve aflatoksin B1 seviyeleri incelenmiştir. İncelenen örneklerin 21 tanesinde (%32,82)

toplam aflatoksin miktarı 0,21-2,34 ppb değerleri arasında saptanmıştır, 43 örnekte (%67,19) ise toplam aflatoksin tespit edilmemiştir. HPLC yöntemi ile aflatoksin B1 seviyeleri incelenen örneklerin, 16 tanesinde 0,22-2,34 ppb değerleri arasında aflatoksin B1 değerleri tespit edilmiştir, 48 örnekte ise aflatoksin B1 tespit edilmemiştir.

Sunulan çalışmada her iki yöntemin pozitif sonuçları karşılaştırıldığında, iki metot arasında önemli farklılıkların olduğu dikkat çekmektedir. Numune bazında bu sonuçlar değerlendirilmiş aşağıdaki bulgular elde edilmiştir:

- ELISA yöntemiyle 5 numunede (18, 33, 34, 35, 64. örnekler) toplam aflatoksin 1 ppb tespit edilmişken, HPLC'de aflatoksin tespit edilememiştir.
- 17, 47, 66. numunelerde ELISA yönteminde toplam aflatoksin 1 ppb tespit edilmişken, HPLC'de daha yüksek değerler (sırasıyla 1,66- 1,27- 1,14 ppb) tespit edilmiştir. Bu örneklerin AFB1 değerleri de 17.örnek dışında yüksek çıkmıştır. Sadece 17.örneğin AFB1'i ELISA'dan düşük çıkmıştır.
- 24, 25, 36, 39, 44, 53, 65, 67, 69, 78, 79, 81, 84. numunelerde HPLC yönteminin toplam aflatoksin ve AFB1 sonuçları, ELISA yönteminin sonuçlarından daha düşük değerlerde saptanmıştır. 24.örnekte toplam aflatoksin 1-2,5 ppb aralığında-AFB1 1 ppb tespit edilmiş, HPLC yönteminde hem toplam aflatoksin hem de AFB1 daha düşük bir değer (0,33 ppb)olarak tespit edilmiştir. 25, 36, 39, 44, 53, 65, 67, 69, 78, 79, 81. örneklerde toplam aflatoksin ve AFB1 ELISA metodunda 1 ppb, HPLC metodunda ise 1 ppb'den düşük tespit edilmiştir.
- 26 ve 51. numunelerde ELISA yöntemiyle toplam aflatoksin 1 ppb, HPLC'de ise toplam aflatoksin değerleri daha düşük olarak tespit edilmiş (sırasıyla; 0,35, 0,8), AFB1 her iki yöntemde de tespit edilmemiştir.
- 48 ve 61. numunelerde ELISA'da toplam aflatoksin 1-2,5 ppb aralığında, HPLC'de 48. örnekte 2,18 ppb- 61. örnekte 2,34 ppb olarak tespit edilmiştir. 48.örnekte AFB1, ELISA'da 1ppb- HPLC'de tespit edilmemiştir. 61. örnekte AFB1, ELISA yönteminde 1 ppb, HPLC'de ise daha yüksek (2,34 ppb) tespit edilmiştir.

- 54. numunede ELISA yönteminde toplam aflatoksin ve AFB1 1 ppb, HPLC'de daha düşük bir değer(0,65 ppb) tespit edilmiştir.
- 72. örnekte ELISA yönteminde hem toplam aflatoksin hem de B1 tespit edilmiş olup, HPLC'de ise tespit edilememiştir.

ELISA ve HPLC metotlarından elde edilen sonuçların toplam aflatoksin ve aflatoksin B1 seviyeleri (ppb olarak) açısından farklılıkları istatistiksel olarak T-testi uygulanarak değerlendirilmiştir. T-testi sonuçlarına göre ELISA ve HPLC metodunda toplam aflatoksin seviyeleri (ppb) ve aflatoksin B1 seviyeleri (ppb) arasında %95 güvenirlik düzeyinde anlamlı bir farklılığın olduğu tespit edilmiştir.

Litertatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde, Marıuttı ve ark'ın yaptığı çalışmada, Brezilya'da ticareti yapılan domates ürünlerinin (püre, ketçap, salça, kurutulmuş domates) aflatoksin seviyelerini incelemek için, Brezilya'nın 5 farklı bölgesinden ve bir tane de ithal ürün olmak üzere toplam 63 adet örnek, ince tabaka kromatografisi ile analiz edilmiştir. Değerlendirilen ürünlerde aflatoksin seviyelerinin limit değerlerin altında tespit edilmesi nedeniyle halk sağlığı açısından risk oluşturmadığı rapor edilmiştir [35].

Yentürk ve ark. Ankara'daki süpermarketlerden 90 adet kırmızıbiber salçası, 50 adet kırmızıbiber sosu ve 50 adet kırmızı pul biber olmak üzere toplam 190 adet örneği ELISA ve immunoaffiniti kolon tekniği ile AFB1 düzeylerini incelemiştir. Değerlendirilen kırmızıbiber ürünlerinde bir örnek dışında Türk Gıda Kodeksi sınır değerlerinin içinde olduğu saptanmıştır. Ayrıca analizi yapılan kırmızıbiber ürünlerinin halk sağlığı açısından risk oluşturmadığını rapor edilmiştir [3].

Çolak ve ark.'nın yaptığı çalışmada İstanbul'daki pazar ve marketlerden toplanan 84 adet (30 adet kırmızı pul biber, 30 adet kırmızıbiber, 24 adet karabiber) biber örneği incelenmiştir. İncelenen örneklerden 36 tanesinin (%42,9) aflatoksinler ile kontamine olduğu saptanmıştır. Bulunan değerlerin aflatoksin aralığı 0,3-46,8 µg/kg'dır. Tüm pozitif örnekler HPLC yöntemiyle tekrarlanmış ve ELISA ile HPLC yöntemleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. İncelenen 30 adet kırmızı pul biberin 17 tanesinde aflatoksinle kontaminasyon görülmüştür. Bunların içinden 13 tanesinde aflatoksin B1 ile kontaminasyon tespit etmişlerdir. Bulunan aflatoksin değer aralığı 1,9-35,5

µg/kg'dır. İncelenen 30 adet kırmızı biberin ise, 11 tanesinde aflatoksin B1 ile kontaminasyon görülmüştür ve değer aralığı 2,9-11,2 µg/kg olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, 9 adet kırmızı pul biber, 3 adet kırmızıbiber ve 2 adet karabiber Türk Gıda Kodeksi'nde verilen limit değerlerin üzerinde çıkmıştır. Yüksek çıkan değerler pazarlardan temin edilmiştir. Bu çalışmada ise 2,9 ppb ve altında aflatoksin tespit edilirken bu değer TGK'indeki sınır değerlerinin altındadır. Bu çalışmada en yüksek değer 11,2 ppb, bizim çalışmamızda en yüksek değer 2,34 ppb olarak bulunmuştur. Sunulan çalışmada ise örneklerin hiç birinde aflatoksin miktarları TGK limit değerlerinin üzerinde tespit edilmemiştir [42].

Reddy ve ark. yaptığı çalışmada, 182 adet birinci, ikinci ve üçüncü sınıf biberler 1998-1999 yılları arasında Andhra Pradesh (AP), Hindistan'da marketlerden ve soğuk depolama imkanları olan genel olarak kırmızı biber yetişen alanlardan toplamışlardır. Numuneler aflatoksin B1 için indirekt kompetitif ELISA ile analiz edilmiştir. Uygun görülen 9 adet numune ELISA ve HPLC le tekrar edilmiştir ve sonuçları birbiriyle uyumlu çıkmıştır ve ELISA tekniğinin güvenilir olduğu saptanmıştır. İncelenen 182 adet kırmızıbiber örneğinin % 59'unun aflatoksin B1 ile kontamine olduğu ve % 18 inin ise belirlenen limit değerlerin üzerinde olduğu saptanmıştır. En yüksek aflatoksin B1 seviyesi 3. Sınıf biberlerde bulunmuş ve değeri 969 µg/kg olarak bulunmuştur. Süper marketlerden alınan yaklaşık %9 oranındaki kırmızıbiberlerde belirlenen miktarlardan daha fazla miktarda aflatoksin tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda kullandığımız yöntemler kullanılmış, bazı numuneler HPLC ile tekrar edilmiş ve ELISA yönteminin güvenirliği belirlenmiştir. Analiz edilen örnek sayısı sunulan çalışmadaki analizi yapılan örnek sayısından fazladır. Aynı zamanda aflatoksin seviyeleri de çok daha yüksektir [43].

Hazır ve Çoksöyler tarafından 1998'de yapılan çalışmada, 141 adet kırmızıbiber örneği incelenmiş örneklerin 46 tanesinde 0,45-80,25 ppb düzeyinde aflatoksin B1 tespit edilmiştir. Bu çalışmada Kahramanmaraş ve Gaziantep illerinden pazar için yapılan üretimden alınan örneklerden %88,2'sinde 0,75-80,25 ppb aralığında aflatoksin bulunurken, türkiye'nin çeşitli bölgelerinden evlik denilen her evin kendi ihtiyacı kadar kurutulan kırmızıbiber örneklerinden sadece %24'ünde 0,45-4,72 ppb gibi az miktarda

aflatoksin B1 saptanmıştır. Bu çalışmada dikkati çeken satışa sunulan biberlerde hasattan tüketime kadar geçen sürede herhangi bir basamakta gerçekleşen kontaminasyondan dolayı maksimum limit değerlerin üzerinde bir aflatoksin varlığıdır. Evde üretilen kırmızı pul biberlerde ise aflatoksin miktarı oldukça düşük çıkmıştır [28].

Blesa ve ark.'nın İspanya'da yaptığı çalışmada, içinde kırmızı pul biberinin de olduğu değişik türde 58 adet örnek ELISA yöntemiyle incelenmiştir. Kırmızı pul biber örneklerinde aflatoksin tespit edilememiştir. Araştırılan çalışmalarda genelde az da olsa aflatoksin bulunmuştur. Fakat bu çalışmada aflatoksine rastlanılmadığı bildirilmiştir. Çalışılan örnek sayısı sunulan çalışmadaki örnek sayısından daha azdır [44].

Daha önceki çalışmalar değerlendirildiğinde, gıdalarda aflatoksin seviyelerinin yüksek olması bu çalışmanın yapılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Sunulan çalışmada, incelenen salça örneklerindeki aflatoksin miktarlarının TGK sınır değerlerinden düşük seviyede tespit edilmesi umut vericidir. Fakat bu problemin tamamen olmadığı anlamına gelmemektedir. Çünkü mikotoksin ile bulaşık gıdaların düşük miktarda bile uzun süre tüketilmesinin kanserojen etkisi daha önce yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu nedenlerle üretim ve saklanmalarında farklılık gösteren salçalarda aflatoksin seviyesinin kontrol altına alınmasının halk sağlığı açısından ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Bu konudaki çalışmaların halk sağlığını tehdit edecek düzeye gelmemesi için küf kontaminasyonunu ve mikotoksinlerin oluşumunu engelleyecek tedbirlerin alınmasını da zorunlu kılmaktadır.

KAYNAKLAR

[1] Fiskobirlik, Fındıkta Aflatoksin, Mikotoksinler, www.fiskobirlik.org.tr, 5 Ocak 2018.

[2] Sabuncuoğlu, S.A., Baydar, T., Giray, B., Şahin, G.,(2008). Mikotoksinler: toksik etkileri, degradasyonları, oluşumlarının önlenmesi ve zararlı etkilerinin azaltılması. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 28(1): 63-92.

[3] Yentürk, G., Kaynak Onurdağ, F., Er, B., Demirhan, B.,(2012). Investigation of aflatoxin B1 levels in red pepper and products consumed in Ankara, Turk J Pharm Sci 2012; 9(3):293-300.

[4] Gözener, B. ve Sayılı, M.(2014). Adana İli Çukurova İlçesinde salça tüketim tercihleri ve tüketimi etkileyen faktörler, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi,31(3):57-67.

[5] Kaya Tuz, M.,(2016). Devam sütlerinde aflatoksin M1'in araştırılması. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, yüksek lisans tezi, Edirne,2016.

[6] Güntekin,S.,(2007). Tüketime sunulan kırmızı pul biberde aflatoksin B1 miktarlarının ELISA yöntemiyle araştırılması. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasotik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı yüksek lisans tezi, Ankara.

[7] Nezihe, T.,(2000). Funguslar ve Mikotoksinler. Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği yayını, Sim Matbaası, 522 s, Ankara.

[8] Yentürk, G., Er, B.,(2012). Gıdalarda aflatoksin varlığının değerlendirilmesi, Türk Hij.Den.Biyol.Derg.,69(1):41-52.

[9] Sherif,S.O., Salama,E.E., Abdel-Wahhab,M.A., (2009). Mycotoxins and child health: The need for health risk assessment. İnternational Journal of Hygiene and Environmental Health,21(4):347-68.

[10] Logrieco, A., Bottalico, A., Mule, G., Muretti, A.,Giancarlo, P., (2003). Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some mediterranean crops. European Journal of Plant Pathology 109: 645-667.

[11] Seo, J.A., Yu,J.H., (2005). Toxigenic fungi and mycotoxins. In Handbook of Industrial Mycology, Edited by Z. An., Marcell Dekker Inc,270 Madison Avenue, Newyork, NY 10016, 749p.

[12] Narayanasamy, P., (2006). Postharvest Pathogens and Disease Management, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken New Jersey, USA, 582p.

[13] Breyden, W.L., (2007). Mycotoxins in the food chain: human health ımplications. Asia Pac. J.Clin. Nutr. 16:95-101.

[14] Park, D.L., Ayala, C.E., Guzman Perez, S.E., Lopez Garcia, E., Trujillo, E.,(2001). Microbial toxins in foods: Algal, Fungal, Bacterial. In food toxicology., Edited by W. Helferich, C.K. Winter, CRC Press, N.W. Corporate Blvd., Boca Raton, Florida, 33431. USA, 219p.

[15] Güley, Z., Uysal, H.R., Kılıç, S., (2013). Doğal Yolla Küflendirilen Bazı Geleneksel Peynirlerde Aflatoksin M1, Aflatoksin B1 ve Aflatoksin Üreten Küflerin Varlığının Araştırılması. Ege Üniveristesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2013 50 (2): 145-152.

[16] Smith, J.E., (2001). Mycotoxins Food Chemical Safeth Volume 1: Contaminants, Ed.: Watson, D.H Woodhead Publishing Limited and CRC Pres LLC 322p.

[17] Girgin, G., Başaran, N., Şahin, G., et al.(2001). Dünyada ve Türkiye'de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 2001; 58(3): 98-118.

[18] Bennett, J.W., Klick, M., et al., (2003). Mycotoxins, Clinical Microbiology Reviews 2003; 16(3): 497-516.

[19] Kabak,B. ve Var,I.,(2006).Ülkemiz açısından sorun olan mikotoksinler ve riskli gıda maddeleri,Türkiye, 9. Gıda Kongresi 25-26 Mayıs 2006, Bolu.

[20] Çalışkan, İ.,(2003). HPLC ve ELISA testleriyle antep fıstığında aflatoksin araştırılması. Gaziantep Üniversitesi, yüksek lisans.

[21] Erzurum, K.(2001).Fumonisinlerin insan sağlığı açısından önemi ve detoksifikasyonları, Gıda. 26(1):41-46.

[22] Daramidos, E., Panayota,M., Koupparis,M.,(2000). Evaluation and Validation of Two Fluorometric HPLC Methods for the Determination of Aflatoxin B1 in Olive Oil, Food. Add. Contam., 17(1), 65.

[23] Abyaneh, M.R., Ghahfarokhi, M.S.,Yoshinari, T.,Rezaee, M.B., Jaimand, K., Nagasawa, H., Sakuda, S., (2008). Inhibitory effects of *Satureja hortensis* L.essential oil on growth and aflatoxin production by Aspergillus parasiticus. International Journal of Food Microbiology 123: 228-223.

[24] Öztürk, B., Çelik, F., Çelik, Y., Kabaran, S., Ziver, T.,(2014). To Determine the Occurence of Aflatoxin M1 (AFM1) in Samples of Cyprus Traditional Cheese (Halloumi): A Cross-Sectional Study. Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi; 20 (5):773-778.

[25] Şanlı, T., Deveci, O., Sezgin, E., (2012). Effects of pasteurization and storage on stability of aflatoxin M1 in yogurt. Kafkas Üniveristesi Veterinerlik Fakültesi dergisi; 18 (6): 987-990.

[26] Şen,L. ve Nas,S.,(2010). Kuru İncir, Üzüm ve Kırmızı Biberlerde Mikotoksin Varlığı, Akademik Gıda, 8(3): 24-32.

[27] Kanbur, M., Liman B.C., Eraslan, G., Altınordulu, Ş.,(2006). Kayseri' de tüketime sunulan kırmızı biberlerde enzim Immunoassay (EIA) ile kantitatif analizi. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 3(1) 21-24, 2006 (ref.13-15-18-19).

[28] Hazır, Z., Çoksöyler, N., (1998). Farklı bölgelerde ve farklı yöntemlerle elde edilen kırmızıbiberlerde aflatoksin düzeyleri. Gıda Mühendisliği Kongre ve Sergisi, Gaziantep, 479-483; 16-18.

[29] Gündüz S, (1998). Kimyacılar İçin İstatistik, Gazi Kitabevi, Ankara. s. 89.

[30] Williams,J.H., Phillips,T.D., Jolly,P.E., Stiles,J.K.,Jolly,C.M., Aggerwal,D.,(2004). Human aflatoxicosis in developing countries; a review of toxicology, exposure, potential health consequences and interventions,80: 1106-1122.

[31] Smith, J.E., (2001). Mycotoxins Food Chemical Safeth Volume 1: Contaminants, Ed.: Watson, D.H Woodhead Publishing Limited and CRC Pres LLC 322p.

[32] Çamlıbel, İ.F.Aflatoksinler. (2001)OMÜ:980516.

[33] Çeliktaş,M. ve Dağlıoğlu,F.,(2008) Kuru meyvelerde aflatoksin riski. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008. Erzurum.

[34] Çoksöyler, N., (1999).Farklı yöntemlerle kurutulan kırmızı biberlerde *Aspergillus flavus* gelişimi ve aflatoksin oluşumunun incelenmesi,Gıda. 24(5): 297-306.

[35] Marıuttı, L. R. B. , Valente Soares L. M. , (2009). Survey of aflatoxin in tomato products. Ciênc. Tecnol.Aliment., Campinas, 29(2):431-434, abr.-jun.2009.

[36] Dokuzlu, C., (2000). Antep fıstığı ve fındıkta aflatoksin. Gıda. 2000; 89-90.

[37] Çelik, S. (2001). Karaciğer karsinojeni olan aflatoksinlerin biyokimyasal, histopatolojik etkileri ve sağaltım seçenekleri. J.Fac. Vet. Med.20: 131-136.

[38] Oruç, H.H., (2005). Mikotoksinler ve tanı yöntemleri. Uludağ Üniversitesi J. Fac. Vet. Med. 2005; 24 (1): 105-110.

[39] Var,I., Kabak,B., Özkarslı,M., (2004). Mikotoksin Analizlerinde Kullanılan Analiz Yöntemleri. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi 2004, 11(2):1-11.

[40] Oruç Büyükbay,E., Sayılı, M., Uzunöz,M.,(2009).Tüketicilerin Sosyo-Ekonomik Özellikleri ile Salça Tüketimleri Arasındaki İlişki: Tokat İli Örneği. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, (4):1-7.

[41] İstanbul Halk Sağlığı Müdürlüğü, metot validasyon ve ölçüm belirsizliği raporu, İstanbul Halk Sağlığı Laboratuvarı, sayfa no: 1/10, İstanbul.

[42] Çolak, H., Bingöl, E.B., Hampıkyan, H., Nazlı, B.,(2006). Determination of aflatoxin contamination in red-scaled, red and black pepper by ELISA and HPLC. Journal of Food and Drug Analysis 2006;14(3):292-296.

[43] Reddy, S.V., Mayi, D.K., Reddy, M.U., Thirumala-Devi, K., Reddy, D.V., et.al,(2001). Aflatoxin B1 in different grades of chillies (Capsicum annum L.) in

İndia as determined by indirect competitive-ELISA. Food Addit Contam 2001;18(6):553-558.

[44] Blesa, J., Soriano, M., Molto, J.C., Manes, J., et. al.(2004). Limited survey for the presence of aflatoxins in foods from local markests and supermarkets in Valencia, Spain. Food Addit Contam 2004; 21(2): 165-171.

EK- A

ELISA VE HPLC SONUÇLARININ TABLO HALİNDE GÖSTERİMİ

Sunulan çalışmada yeralan tüm numunelerin ELISA ve HPLC sonuçları tablo halinde gösterilmiştir.

ELISA Yöntemi													HPLC Yöntemi							
Toplam aflatoksin							Aflatoksin B1						Toplam aflatoksin				Aflatoksin B1			
No	OD değerleri I.	II.	OD ort	% B/BO	ppb	TGK>5 ppb (µg/kg)	OD değerleri I.	II.	OD ort	% B/BO	ppb	TGK>5 ppb (µg/kg)	Toplam Aflatoksin (pbb)	% Geri Kazanım	Ölçüm Belirsizliği	TGK>5 ppb (µg/kg)	Aflatoksin B1 (pbb)	% Geri Kazanım	Ölçüm Belirsizliği	TGK>5 ppb (µg/kg)
1	1,413	1,462	1,438	96,4118	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	1,551	1,568	1,56	104,594	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1,874	1,986	1,93	116,687	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	3,087	3,056	3,072	94,7993	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	1,824	1,799	1,812	109,522	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	1,875	1,815	1,845	111,548	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	1,816	1,764	1,79	108,223	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	1,802	1,857	1,83	110,611	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	1,877	1,886	1,882	113,755	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	1,815	1,854	1,835	110,913	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	1,949	2,082	2,016	83,9617	1	yok	3,169	3,11	3,140	94,62	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-
12	2,091	2,073	2,082	86,7319	1	yok	3,14	3,21	3,175	95,69	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-
13	2,121	2,132	2,127	88,5857	1	yok	3,271	3,023	3,147	94,84	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-
14	1,968	1,948	1,958	81,5663	1	yok	3,215	3,199	3,207	96,65	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-
15	2,159	2,068	2,114	88,0442	1	yok	3,165	3,29	3,228	97,27	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-
16	2,018	2,062	2,04	84,9823	1	yok	3,098	3,272	3,185	95,99	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-
17	2,081	2,023	2,052	85,4822	1	yok	2,85	3,005	2,927	88,21	1	yok	1,66	90%	+/- 0.46	yok	0,9	92%	+/- 0,18	yok
18	2,243	2,143	2,193	91,356	1	yok	3,108	3,197	3,153	95,01	0	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
19	2,264	2,213	2,239	93,2514	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
20	2,163	2,262	2,213	92,1683	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok

21	2,155	2,154	2,155	92,7521	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	2,131	2,238	2,185	92,0976	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
23	2,295	2,109	2,202	92,7309	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	1,775	1,89	1,833	76,3388	1-2,5	yok	2,88	2,639	2,7575	83,1	1	yok	0,33	92%	+/- 0,07	yok	0,33	92%	+/- 0,07	yok
25	2,146	2,225	2,186	91,0435	1	yok	2,98	2,95	2,9625	89,28	1	yok	0,98			yok	0,98	92%	+/- 0,19	yok
26	2,065	2,068	2,067	86,0862	1	yok	1,22	1,212	1,2155	100,08	0	yok	0,35	91%	+/- 0,09	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
27	2,786	2,869	2,828	99,5423	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi		-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
28	2,812	2,924	2,868	100,968	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
29	2,456	2,447	2,452	86,3052	1	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
30	2,591	2,593	2,592	91,2515	1	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
31	2,494	2,433	2,464	86,7277	1	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	2,329	2,327	2,328	81,9574	1	yok	1,12	1,217	1,167	96,08	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-
33	2,315	2,278	2,297	80,8484	1	yok	1,18	1,302	1,243	102,34	0	yok	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
34	2,405	2,37	2,388	84,0521	1	yok	1,19	1,2	1,193	98,22	0	yok	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
35	2,371	2,449	2,41	84,8442	1	yok	1,16	1,197	1,177	96,91	0	yok	Tespit edilmedi	90%		yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
36	2,522	2,292	2,407	84,7386	1	yok	1,12	1,111	1,116	91,88	1	yok	0,56	91%	'+/- 0,15	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
37	2,919	3,037	2,978	98,6746	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
38	2,977	3,101	3,039	100,696	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
39	2,59	2,651	2,621	86,829	1	yok	1,033	1,169	1,101	90,65	1	yok	0,84	92%	+/- 0,17	yok	0,84	92%	+/- 0,17	yok
40	2,678	2,978	2,828	93,7044	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
41	2,842	2,892	2,867	94,9967	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
42	2,882	2,77	2,826	93,6382	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
43	2,865	2,759	2,812	93,1743	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
44	2,602	2,545	2,574	85,2717	1	yok	1,1	1,079	1,0885	89,62	1	yok	0,22	92%	+/- 0,03	yok	0,22	92%	+/- 0,03	yok
45	2,721	2,922	2,822	93,4891	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%		yok	Tespit edilmedi	92%		yok

46	2,983	2,834	2,909	96,3718	0	yok	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	2,75	2,801	2,802	90,8264	1	yok	1,1	1,181	1,14	91,3	1	yok	1,27	92%	+/- 0,25	yok	1,27	92%	+/- 0,25	yok
48	2,142	2,223	2,183	72,3161	1-2,5	yok	1,06	1,127	1,095	90,16	1	yok	2,18	81%	+/- 0,74	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
49	2,873	2,935	2,904	96,2227	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
50	2,848	2,686	2,767	92,6832	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
51	2,734	2,74	2,737	90,6892	1	yok	1,22	1,212	1,2165	100,16	0	yok	0,8	91%	+/- 0,15	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
52	2,935	2,981	2,958	98,0119	0	yok							Tespit edilmedi	90%		yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
53	2,752	2,742	2,747	91,0205	1	yok	1,09	1,111	1,0995	90,53	1	yok	0,61	92%	+/- 0,12	yok	0,61	92%	+/- 0,12	yok
54	2,713	3	2,729	90,4241	1	yok	1,13	1,149	1,138	90,7	1	yok	0,65	92%	+/- 0,13	yok	0,65	92%	+/- 0,13	yok
55	3,394	3	3,394	92,703	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
56	3,384	3,349	3,367	92,6678	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
57	3,387	3,477	3,432	93,4513	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
58	3,336	3,38	3,358	92,4364	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
59	3,372	3,364	3,368	94,7087	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
60	3,179	3,115	3,147	85,691	1	yok	1,05	1,081	1,063	87,52	1	yok	-	-	-	-	-	-	-	-
61	2,977	3,04	3,009	81,9197	1-2,5	yok	1,02	1,113	1,065	87,69	1	yok	2,34	92%	+/- 0,47	yok	2,34	92%	+/- 0,47	yok
62	3,306	3,307	3,307	93,034	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
63	3,168	3,231	3,2	87,1205	1	yok	3,403	3,408	3,406	102	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	3,107	3,011	3,059	83,2948	1	yok	3,23	3,409	3,32	100,06	0	yok	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
65	3,132	3,017	3,075	83,7168	1	yok	2,98	2,938	2,959	88,5	1	yok	0,21	96%	+/- 0,05	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
66	3,34	3,358	3,349	91,1913	1	yok	1,04	1,094	1,067	87,85	1	yok	1,14	92%	+/- 0,23	yok	1,14	92%	+/- 0,23	yok
67	3,177	3,065	3,121	84,983	1	yok	1,06	1,132	1,096	90,2	1	yok	0,92	90%	+/- 0,26	yok	0,68	92%	+/- 0,14	yok
68	3,49	3,362	3,426	93,288	0	yok	3,27	3,21	3,2395	97,63	0	yok	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
69	3,185	3,055	3,12	84,9558	1	yok	1,07	1,107	1,088	89,58	1	yok	0,64	92%	+/- 0,13	yok	0,64	92%	+/- 0,13	yok
70	3,342	3,391	3,367	92,6678	0	yok	1,092	1,141	1,11	92,03	0	yok	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok

71	3,365	3,406	3,386	92,1852	0	yok	3,33	3,286	3,31	99,75	0	yok	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
72	2,962	2,933	2,948	83,2587	1	yok	3,005	2,89	2,951	88,9	1	yok	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
73	3,335	3,289	3,312	102,222	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
74	3,235	3,188	3,212	99,1204	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
75	3,376	3,216	3,296	101,728	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
76	3,337	3,443	3,39	104,63	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
77	3,345	3,398	3,372	104,059	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
78	2,701	2,782	2,742	84,6142	1	yok	1,1	1,09	1,0955	90,2	1	yok	0,93	92%	+/- 0,19	yok	0,93	92%	+/- 0,19	yok
79	2,736	2,852	2,794	86,2346	1	yok	2,95	2,69	2,82	85,1	1	yok	0,54	92%	+/- 0,10	yok	0,54	92%	+/- 0,10	yok
80	3,252	3,126	3,189	98,4259	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
81	2,937	2,893	2,915	89,9691	1	yok	3,096	3,003	3,05	90,5	1	yok	0,78	92%	+/- 0,16	yok	0,78	92%	+/- 0,16	yok
82	3,227	3,084	3,156	97,392	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
83	3,185	3,236	3,211	99,0895	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
84	2,558	2,332	2,445	75,463	1-2,5	yok	2,95	3,007	2,977	89,72	1	yok	0,59	92%	+/- 0,12	yok	0,59	92%	+/- 0,12	yok
85	3,132	3,204	3,168	97,7778	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
86	3,19	2,932	3,061	94,4753	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok
87	2,965	2,934	2,95	93,034	0	yok	-	-	-	-	-	-	Tespit edilmedi	90%	-	yok	Tespit edilmedi	92%	-	yok

EK- B

TÜRK GIDA KODEKSİ BULAŞANLAR YÖNETMELİĞİ

Türk Gıda Kodeksi bulaşanlar yönetmeliğinde, gıdalardaki bulaşanların (aflatoksinlerin) maksimum limitleri, resmi gazeteden alınarak EK-B ’de verilmiştir.

Gıdalardaki ([1]) Bulaşanların Maksimum Limitleri

Bölüm 1. Nitrat

	Gıda ([1])	Maksimum Limit (mg NO_3/kg)	
1.1.	Taze ıspanak (*Spinacia oleracea*) ([2])		3500
1.2.	Konserve edilmiş, derin dondurulmuş veya dondurulmuş ıspanak		2000
1.3.	Taze marul (*Latuca sativa* L.) (açıkta yetişen ve korunan marul)	1 Ekim – 31 Mart arasında hasat edilmiş	
		— Örtü altında yetiştirilen marul	5000
		— Açık havada yetiştirilen marul	4000
		1 Nisan – 30 Eylül arasında hasat edilmiş	
		— Örtü altında yetiştirilen marul	4000
		— Açık havada yetiştirilen marul	3000
1.4.	Aysberg tipi marul	Örtü altında yetiştirilen marul	2500
		Açık havada yetiştirilen marul	2000
1.5.	Roka (*Eruca sativa*, *Diplotaxis* sp., *Brassica tenuifolia*, *Sisymbrium tenuifolium*)	1 Ekim – 31 Mart arasında hasat edilmiş	7000
		1 Nisan – 30 Eylül arasında hasat edilmiş	6000
1.6.	Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ([3]) ([4])		200

Bölüm 2. Mikotoksinler

	Gıda ([1])	Maksimum Limit (µg/kg)		
2.1.	**AFLATOKSİN**	**B_1**	**$B_1+B_2+G_1+G_2$**	**M_1**
2.1.1.	Yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar ([5]) (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) — Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar hariç	8,0 ([6])	15,0 ([6])	—
2.1.2.	Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	12,0 ([6])	15,0 ([6])	—
2.1.3.	Fındık ve Brezilya fındığı (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) — Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	8,0 ([6])	15,0 ([6])	—

2.1.4.	Sert kabuklu meyveler (Bölüm 2.1.2 ve 2.1.3'de belirtilenler hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8,0 ([6])	15,0 ([6])	—
2.1.5.	Yerfıstığı, diğer yağlı tohumlar ([5]) ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) — Rafine edilecek bitkisel ham yağ ve rafine bitkisel yağ hariç	5,0 ([6])	10,0 ([6])	—
2.1.6.	Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği ([7]) (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8,0 ([6])	10,0 ([6])	—
2.1.7.	Fındık ve Brezilya fındığı ([7]) (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) — Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	5,0 ([6])	10,0 ([6])	—
2.1.8.	Sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 2.1.6 ve 2.1.7'de belirtilenler hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	5,0 ([6])	10,0 ([6])	—
2.1.9.	Kurutulmuş meyveler (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8,0	10,0	—
2.1.10.	Tahıllar, bunlardan elde edilen ürünler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 2.1.11, 2.1.14 ve 2.1.16'de belirtilenler hariç)	2,0	4,0	—
2.1.11.	Mısır ve pirinç (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5,0	10,0	—
2.1.12.	Çiğ süt ([8]), ısıl işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	—	—	0,050
2.1.13.	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	—
2.1.14.	Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ([3]), ([9])	0,10	—	—
2.1.15.	Bebek formülleri ve devam formülleri ([4]), ([10]) (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	—	—	0,025
2.1.16.	Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar ([11]), ([12])	0,10	—	0,025

2.2.	**OKRATOKSİN A**	
2.2.1.	İşlenmemiş tahıllar	5,0
2.2.2.	İşlenmemiş tahıldan elde edilen tüm ürünler (doğrudan insan tüketimine sunulan tahıllar ve işlenmiş tahıl ürünleri dahil) (Bölüm 2.2.9 ve 2.2.10'da belirtilenler hariç)	3,0
2.2.3.	Kurutulmuş asma meyveleri (kuşüzümü, kuru üzüm ve çekirdeksiz üzüm)	10,0
2.2.4.	Kavrulmuş kahve çekirdeği ve öğütülmüş kahve (Bölüm 2.2.5'de belirtilenler hariç)	5,0
2.2.5.	Kahve ekstraktı, çözünebilir kahve ekstraktı veya çözünebilir kahve	10,0
2.2.6.	Şarap ve meyve şarapları (köpüklü şarap/şampanya dahil, likör şarapları ve hacmen alkol miktarı en az % 15 olan şaraplar hariç)	2,0 ([13])
2.2.7.	Aromatize şarap, aromatize şarap bazlı içki ve aromatize şarap kokteyli ([14])	2,0 ([13])
2.2.8.	Üzüm suyu, konsantreden üretilen üzüm suyu, üzüm nektarı, üzüm şırası ve konsantreden üretilen üzüm şırası ([15]) (doğrudan insan tüketimine sunulan)	2,0 ([13])
2.2.9.	Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ([3]), ([9])	0,5
2.2.10.	Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar ([11]), ([12])	0,5
2.2.11.	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	30,0 (30.6.2012 tarihine kadar) 15,0 (1.7.2012 tarihinden sonra)
2.2.12.	Meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra, G. inflate* ve diğer türler)	
2.2.12.1.	Meyan kökü (bitkisel infüsyon bileşeni olarak kullanılanlar)	20,0
2.2.12.2.	Meyan kökü ekstraktı ([16]) (özellikle alkolsüz içecek ve şekerleme üretiminde kullanılan)	80,0
2.3.	**PATULİN**	
2.3.1.	Meyve suları, konsantreden üretilen meyve suyu ve meyve nektarları ([15])	50,0
2.3.2.	Distile alkollü içkiler ([17]), elma şarabı ve elmadan üretilen veya elma suyu içeren diğer fermente içkiler	50,0

2.3.3.	Katı haldeki elma ürünleri (elma kompostosu ve doğrudan tüketime sunulan elma püresi dahil) (Bölüm 2.3.4 ve 2.3.5'de belirtilenler hariç)	25,0
2.3.4.	Bebek ve küçük çocuklar ([17]) için üretilen ve bu amaçla ([4]) piyasaya arz edilen/etiketlenen elma suyu ve katı haldeki elma ürünleri (elma kompostosu ve elma püresi dahil)	10,0
2.3.5.	Tahıl bazlı olmayan ek gıdalar ([3]), ([4])	10,0
2.4.	**DEOKSİNİVALENOL (DON)** ([19])	
2.4.1.	İşlenmemiş tahıllar ([20]) (durum buğdayı, yulaf ve mısır hariç)	1250
2.4.2.	İşlenmemiş durum buğdayı ve yulaf ([20])	1750
2.4.3.	İşlenmemiş mısır ([20]) (ıslak öğütülecekler hariç) ([21])	1750
2.4.4.	Tahıllar, tahıl unları, kepek ve rüşeym (doğrudan insan tüketimine sunulan) (Bölüm 2.4.7, 2.4.8 ve 2.4.9'da belirtilenler hariç)	750
2.4.5.	Makarna ([22])	750
2.4.6.	Ekmek (hafif fırıncılık ürünleri dahil), pastacılık ürünleri, bisküvi, tahıl çerezleri, kahvaltılık tahıllar	500
2.4.7.	Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ([3]), ([9])	200
2.4.8.	500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısırın kabaca öğütülmesinden elde edilen küçük parçalar ve mısır irmiği (GTİP 1103 13) veya mısırdan elde edilen pelletler (GTİP 1103 20 40) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri (GTİP 1904 10 10)	750
2.4.9.	500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır unu (GTİP 1102 20) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri (GTİP 1904 10 10)	1250
2.5.	**ZEARALENON** ([19])	
2.5.1.	İşlenmemiş tahıllar ([20]) (mısır hariç)	100
2.5.2.	İşlenmemiş mısır ([20]) (ıslak öğütülecekler hariç) ([21])	350
2.5.3.	Tahıllar, tahıl unları, kepek ve rüşeym (doğrudan insan tüketimine sunulan) (Bölüm 2.5.6, 2.5.7, 2.5.8, 2.5.9 ve 2.5.10'da belirtilenler hariç)	75
2.5.4.	Rafine mısır yağı	400

2.5.5.	Ekmek (hafif fırıncılık ürünleri dahil), pastacılık ürünleri, bisküvi, tahıl çerezleri, kahvaltılık tahıllar (mısır çerezleri ve mısır bazlı kahvaltılık tahıllar hariç)	50
2.5.6.	Doğrudan insan tüketimine sunulan mısır, mısır çerezleri ve mısır bazlı kahvaltılık tahıllar	100
2.5.7.	Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ([3]), ([9]) (Bölüm 2.5.8'debelirtilenler hariç)	20
2.5.8.	İşlenmiş mısır bazlı bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ([3]), ([9])	20
2.5.9.	500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısırın kabaca öğütülmesinden elde edilen küçük parçalar ve mısır irmiği (GTİP 1103 13) veya mısırdan elde edilen pelleter (GTİP 1103 20 40) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri (GTİP 1904 10 10)	200
2.5.10.	500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır unu (GTİP 1102 20) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri (GTİP 1904 10 10)	300
2.6.	**FUMONİSİNLER**	**$FB_1 + FB_2$ (µg/kg)**
2.6.1.	İşlenmemiş mısır ([20]) (ıslak öğütülecekler hariç) ([21])	4000
2.6.2.	Mısır ve mısır bazlı ürünler (doğrudan insan tüketimine sunulan) (Bölüm 2.6.3 ve 2.6.4'de belirtilenler hariç)	1000
2.6.3.	Mısır bazlı kahvaltılık tahıllar ve mısır bazlı çerezler	800
2.6.4.	İşlenmiş mısır bazlı bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ([3]), ([9])	200
2.6.5.	500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısırın kabaca öğütülmesinden elde edilen küçük parçalar ve mısır irmiği (GTİP 1103 13) veya mısırdan elde edilen pelleter (GTİP 1103 20 40) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri (GTİP 1904 10 10)	1400
2.6.6.	500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır unu (GTİP 1102 20) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri (GTİP 1904 10 10)	2000

Bölüm 3. Ağır Metaller

	Gıda ([1])	Maksimum limit (mg/kg yaş ağırlık)
3.1.	**KURŞUN (Pb)**	
3.1.1.	Çiğ süt ([9]), ısıl işlem görmüş süt ve süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	0,020
3.1.2.	Bebek formülleri ve devam formülleri ([4]), ([10])	0,020
3.1.3.	Sığır, koyun, domuz ve kanatlı eti ([9]) (Bölüm 3.1.4'de belirtilenler hariç)	0,10
3.1.4.	Sığır, koyun, domuz ve kanatlıların yenilebilir sakatatları ([9])	0,50
3.1.5.	Balık eti ([23]), ([24])	0,30
3.1.6.	Kabuklular ([25]) (başlı gövde kısmı hariç karın ve karın uzantısı kas eti, yengeç ve yengeç benzeri kabuklularda (*Brachyura* ve *Anamura*) appendages kas eti)	0,50
3.1.7.	Çift kabuklu yumuşakçalar ([25])	1,50
3.1.8.	Kafadan bacaklılar ([25]) (iç organları hariç)	1,00
3.1.9.	Baklagil sebzeleri ([26]), tahıllar ve baklagiller	0,20
3.1.10.	Sebzeler ([26]) (lahana sebzeler, yapraklı sebzeler, taze otlar, mantar ve deniz yosunu hariç) (patates için maksimum limit soyulmuş patatese uygulanır)	0,10
3.1.11.	Lahana sebzeler, yapraklı sebzeler ([27]) ve aşağıdaki mantar türleri ([26]): *Agaricus bisporus* (genel mantar), *Pleurotus ostreatus* (Oyster mantarı), *Lentinula edodes* (Shiitake mantarı)	0,30
3.1.12.	Meyveler (üzümsüler ve küçük meyveler hariç) ([26])	0,10
3.1.13.	Üzümsüler ve küçük meyveler ([26])	0,20
3.1.14.	Katı ve sıvı yağlar (süt yağı dahil)	0,10
3.1.15.	Meyve suları, konsantreden üretilen meyve suyu ve meyve nektarları ([15])	0,050
3.1.16.	Şaraplar (köpüklü şarap/şampanya dahil, likör şarabı hariç), elma, armut ve meyve şarapları	0,20 ([28])
3.1.17.	Aromatize şaraplar, aromatize şarap bazlı içkiler, aromatize şarap bazlı kokteylleri ([14])	0,20 ([28])
3.1.18.	Gıda takviyeleri ([29])	3,0
3.2.	**KADMİYUM (Cd)**	

3.2.1.	Sığır, koyun, domuz ve kanatlı eti ([8]) (sakatat hariç)	0,050
3.2.2.	At eti ([8]) (sakatat hariç)	0,20
3.2.3.	Sığır, koyun, at, domuz ve kanatlı hayvanların karaciğeri ([8])	0,50
3.2.4.	Sığır, koyun, at, domuz ve kanatlı hayvanların böbreği ([8])	1,0
3.2.5.	Balık eti ([23]), ([24]) (Bölüm 3.2.6. , 3.2.7. ve 3.2.8.'de belirtilenler hariç)	0,050
3.2.6.	Aşağıdaki balık türlerinin etleri ([23]), ([24]) — Torik (*Sarda sarda*), — Karagöz (*Diplodus vulgaris*), — Yılanbalığı (*Anguilla anguilla*), — Kefal (*Mugil labrosus labrosus*), — İstavrit (*Trachurus* sp.), — Louvar veya luvar (*Luvarus imperialis*), — Uskumru türleri-Mackerel (*Scomber* sp.), — Sardalya (*Sardina pilchardus*), — Sardalya türleri (*Sardinops* sp.), — Orkinos (*Thunnus* sp. ve *Euthynnys* sp., *Katsuwonus pelamis*), — Dilbalığı (*Dicologoglossa cuneata*)	0,10
3.2.7.	Aşağıdaki balık türlerinin etleri ([23]), ([24]) — Bullet tuna (*Auxis* sp.)	0,20
3.2.8.	Aşağıdaki balık türlerinin etleri ([23]), ([24]) — Kılıçbalığı (*Xiphias gladius*) — Hamsiler (*Engraulis* sp.),	0,30
3.2.9.	Kabuklular ([25]) (başlı gövde kısmı hariç karın ve karın uzantısı kas eti, yengeç ve yengeç benzeri kabuklularda (*Brachyura* ve *Anamura*) appendages kas eti)	0,50
3.2.10.	Çift kabuklu yumuşakçalar ([25])	1,00
3.2.11.	Kafadan bacaklılar ([25]) (iç organları hariç)	1,00
3.2.12.	Tahıllar (Bölüm 3.2.13'de belirtilenler hariç)	0,10
3.2.13.	Kepek, rüşeym, buğday ve pirinç	0,20
3.2.14.	Soya fasulyesi	0,20
3.2.15.	Sebzeler ve meyveler ([26]) (yapraklı sebzeler, taze otlar, yapraklı lahanalar, mantar, saplı sebzeler, köklü ve yumrulu sebzeler ve deniz yosunu hariç)	0,050
3.2.16.	Saplı sebzeler, kereviz hariç köklü ve yumrulu sebzeler ([26]) (patates için maksimum limit soyulmuş patatese uygulanır)	0,10
3.2.17.	Yapraklı sebzeler, taze otlar, yapraklı lahanalar, kereviz ve aşağıdaki mantar türleri ([26]) : *Agaricus bisporus* (genel mantar), *Pleurotus ostreatus* (Oyster mantarı), *Lentinula edodes* (Shiitake mantarı)	0,20

3.2.18.	Mantar ([26]) (Bölüm 3.2.17'de belirtilenler hariç)	1,0
3.2.19.	Gıda takviyeleri ([29]) (Bölüm 3.2.20'de belirtilenler hariç)	1,0
3.2.20.	Gıda takviyeleri ([29]) (kurutulmuş deniz yosunu veya deniz yosunu ürünü veya kurutulmuş çift kabuklu yumuşakçadan üretilen veya temel bileşeni bu ürünler olan)	3,0
3.3.	**CİVA**	
3.3.1.	Balıkçılık ürünleri ([25])ve balıkların ([23]), ([24]) kas etleri (Bölüm 3.3.2'de belirtilenler hariç) Maksimum limit; kabuklularda başlı gövde kısmı hariç karın ve karın uzantısı kas etine uygulanır. Yengeç ve yengeç benzeri kabuklularda (*Brachyura* ve *Anamura*) ise appendages kas etine uygulanır.	0,50
3.3.2.	Aşağıdaki balık türlerinin etleri ([23]), ([24]); — Fener balıkları (*Lophius* spp.), — Atlantik yayını/kedi balığı (Anarhichas lupus), — Torik (*Sarda sarda*), — Yılanbalıkları (*Anguilla* spp.), — Emperor veya orange roughy, rosy soldierfish (*Hoplostethus* spp.), — Grenadier (*Coryphaenoides rupestris*), — Kalkan benzeri yassı balık (*Hippoglossus hippoglossus*), — Kingklip (*Genypterus capensis*) — Kılıç balığı benzeri balık (*Makaria* sp.), — Megrim (*Lepidorhombus* sp.), — Barbunya (*Mullus* sp.), — Pink cusk eel (*Genypterus blacodes*) — Turna balığı (*Esox lucius*), — Torik/iri uskumruya benzer balık (*Orcynopsis unicolor*), — Poor cod (*Tricopterus minutes*), — Portekiz köpek balığı (*Centroscymnes coelolepis*), — Vatozlar (*Raja* spp.), — Mercan türü balıklar (*Sebastes marinus, S. mentella, S. viviparus*), — Kılıç benzeri balık (*Istiophorus platypterus*), — Uskumru türü balıklar (*Lepidopus caudatus, Aphanopus carbo*), — Mercan balıkları (*Pagellus* sp.), — Köpekbalığı (bütün türleri), — Uskumru türü balıklar (*Lepidocybium flavobrunneum, Ruvettus pretiosus, Gempylus serpens*), — Mersin balığı (*Acipenser* spp.), — Kılıçbalığı (*Xiphias gladius*), — Orkinos(*Thunnus* spp. ve *Euthynnus* spp., *Katsuwonus pelamis*)	1,0
3.3.3.	Gıda takviyeleri ([29])	0,10
3.4.	**KALAY (İnorganik)**	
3.4.1.	Konserve gıdalar (içecekler hariç)	200

3.4.2.	Teneke kutu içerisinde satışa sunulan alkolsüz içecekler (meyve ve sebze suları dahil)	100
3.4.3.	Teneke kutu içerisinde satışa sunulan bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ([3]), ([29]) (kuru ve toz haldeki ürünler hariç)	50
3.4.4.	Teneke kutu içerisinde satışa sunulan bebek formülleri ve devam formülleri ([10]), ([29]) (bebek sütleri ve devam sütleri dahil, kuru ve toz haldeki ürünler hariç)	50
3.4.5.	Teneke kutu içerisinde satışa sunulan bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar ([11]), ([29]) (kuru ve toz haldeki ürünler hariç)	50

Bölüm 4. 3-monokloropropan-1,2-diol (3-MCPD)

	Gıda ([1])	**Maksimum limit (µg/kg)**
4.1.	Hidrolize bitkisel protein ([30])	20
4.2.	Soya sosu ([30])	20

Bölüm 5. Dioksinler ve PCB'ler ([31])

Gıda ([1])		**Maksimum Limit**		
		Dioksinlerin toplamı (WHO/PCDD/F-TEQ) ([32])	**Dioksinler ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamı (WHO/PCDD/F-PCB-TEQ) ([32])**	**PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 ve PCB180 (ICES – 6) toplamı ([32])**
5.1.	Et ve et ürünleri ([8]) (yenilebilir sakatatlar hariç) — Sığır türü hayvanlar ve koyun, keçi — Kanatlı hayvanlar — Domuz	2,5 pg/g yağ ([33]) 1,75 pg/g yağ ([33]) 1,0 pg/g yağ ([33])	4,0 pg/g yağ ([33]) 3,0 pg/g yağ ([33]) 1,25 pg/g yağ ([33])	40 ng/g yağ ([33]) 40 ng/g yağ ([33]) 40 ng/g yağ ([33])
5.2.	Karaciğer ve bunların ürünleri ([8]) (Bölüm 5.1'de belirtilen karada yaşayan hayvanların)	4,5 pg/g yağ ([33])	10,0 pg/g yağ ([33])	40 ng/g yağ ([33])

5.3.	Balık eti, balıkçılık ürünleri ve bunlardan üretilen ürünler ([23]), ([34]) ve kabuklular. Aşağıdakiler hariç: — Yılan balığı — Tatlı su balıkları — Balık karaciğeri ve bunların ürünleri — Deniz ürünlerinden elde edilen yağlar Maksimum limit; kabuklularda başlı gövde kısmı hariç karın ve karın uzantısı kas etine uygulanır. Yengeç ve yengeç benzeri kabuklularda (*Brachyura* ve *Anamura*) ise appendages kas etine uygulanır.	3,5 (pg/g yaş ağırlık)	6,5 (pg/g yaş ağırlık)	75 (ng/g yaş ağırlık)
5.4	Tatlı su balıkları ve bunların ürünleri (denizlerden tatlı suya göç eden ancak tatlı suda yakalanan balık ve ürünleri hariç)	3,5 (pg/g yaş ağırlık)	6,5 (pg/g yaş ağırlık)	125 (ng/g yaş ağırlık)
5.5.	Yılan balığı eti (*Anguilla anguilla)* ve bunların ürünleri	3,5 (pg/g yaş ağırlık)	10,0 (pg/g yaş ağırlık)	300 (ng/g yaş ağırlık)
5.6.	Balık karaciğeri ve bunların ürünleri (Bölüm 5.7'de belirtilenler hariç)	—	20,0 ([35]) (pg/g yaş ağırlık)	200 ([35]) (ng/g yaş ağırlık)
5.7.	Deniz ürünlerinden elde edilen yağlar (insan tüketimine sunulan balık yağı, balık karaciğer yağı ve diğer deniz canlılarından elde edilen yağ)	1,75 pg/g yağ	6,0 pg/g yağ	200 ng/g yağ
5.8.	Süt ve süt ürünleri ([8]) (tereyağı dahil)	2,5 pg/g yağ ([33])	5,5 pg/g yağ ([33])	40 ng/g yağ ([33])
5.9.	Tavuk yumurtası ve yumurta ürünleri ([8])	2,5 pg/g yağ ([33])	5,0 pg/g yağ ([33])	40 ng/g yağ ([33])
5.10.	Aşağıdaki hayvanlardan elde edilen katı yağlar — Sığır türü hayvanlar ve koyun, keçi — Kanatlı hayvanlar — Domuz	2,5 pg/g yağ ([33]) 1,75 pg/g yağ ([33]) 1,0 pg/g yağ ([33])	4,0 pg/g yağ ([33]) 3,0 pg/g yağ ([33]) 1,25 pg/g yağ ([33])	40 ng/g yağ 40 ng/g yağ 40 ng/g yağ
5.11.	Karışık hayvansal katı yağlar	1,5 pg/g yağ	2,5 pg/g yağ	40 ng/g yağ
5.12.	Bitkisel sıvı yağlar ve katı yağlar	0,75 pg/g yağ	1,25 pg/g yağ	40 ng/g yağ

5.13.	Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ([4])	0,1 (pg/g yaş ağırlık)	0,2 (pg/g yaş ağırlık)	1,0 (ng/g yaş ağırlık)

Bölüm 6. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH)

Gıda		Maksimum Limit (µg/kg)	
6.1.	**Benzo(a)piren, benzo(a)anthrasen, benzo(b)floranthen ve krisen**	**Benzo(a)piren**	**Benzo(a)piren, benzo(a)anthrasen, benzo(b)floranthen ve krisen toplamı ([36])**
6.1.1.	Katı ve sıvı yağlar (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) (kakao yağları ve hindistancevizi yağları hariç)	2,0	10,0 (1.9.2012 tarihinden sonra)
6.1.2.	Kakao çekirdekleri ve bunların ürünleri	5,0 µg/kg yağ (1.4.2013 tarihinden sonra)	35,0 µg/kg yağ (1.4.2013 tarihinden sonra) 30,0 µg/kg yağ (1.4.2015 tarihinden sonra)
6.1.3.	Hindistancevizi yağı (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	2,0 (1.9.2012 tarihinden sonra)	20,0 (1.9.2012 tarihinden sonra)
6.1.4.	Tütsülenmiş et ve tütsülenmiş et ürünleri	5,0 2,0 (1.9.2014 tarihinden sonra)	30,0 (1.9.2012 tarihinden sonra) 12,0 (1.9.2014 tarihinden sonra)
6.1.5.	Tütsülenmiş balık eti ve Bölüm 6.1.6 ve 6.1.7' de belirtilen balıkçılık ürünleri hariç tütsülenmiş balıkçılık ürünleri ([23]), ([37]). Maksimum limit; tütsülenmiş kabuklularda başlı gövde kısmı hariç karın ve karın uzantısı kas etine uygulanır. Tütsülenmiş yengeç ve yengeç benzeri kabuklularda (*Brachyura* ve *Anamura*) ise appendages kas etine uygulanır.	5,0 2,0 (1.9.2014 tarihinden sonra)	30,0 (1.9.2012 tarihinden sonra) 12,0 (1.9.2014 tarihinden sonra)
6.1.6.	Tütsülenmiş çaça balığı ve tütsülenmiş konserve çaça balığı (*Sprattus sprattus*) ([23]), ([38]); çift kabuklu yumuşakçalar (taze, soğutulmuş veya dondurulmuş) ([25]); son tüketiciye sunulan ısıl işlem görmüş et ve et ürünleri ([39]).	5,0 (1.9.2012 tarihinden sonra)	30,0 (1.9.2012 tarihinden sonra)
6.1.7.	Tütsülenmiş çift kabuklu yumuşakçalar ([25])	6,0	35,0 (1.9.2012 tarihinden sonra)
6.1.8.	Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ([3]), ([29])	1,0	1,0 (1.9.2012 tarihinden sonra)
6.1.9.	Bebek formülleri ve devam formülleri ([10]), ([29]) (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	1,0	1,0 (1.9.2012 tarihinden sonra)

6.1.10.	Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar ([11]), ([29])	1,0	1,0 (1.9.2012 tarihinden sonra)

Bölüm 7. Erusik asit

Gıda		Maksimum Limit ([40]) (%)
7.1.	**Erusik asit**	
7.1.1.	Katı ve sıvı yağlar	5
7.1.2.	%5 den fazla yağ ilave edilen gıda maddeleri	5
7.1.3.	Diğer gıda maddeleri (bulunması muhtemel riskli gıdalar)	10

(1) Meyve, sebze ve hububat için Türk Gıda Kodeksi – Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliğinde yer alan sınıflandırma esas alınır. Buna göre; karabuğday (Fagopyrum spp.) hububat ve karabuğdaydan elde edilen ürünler ise hububat ürünleri kapsamında değerlendirilir. Meyveler için belirlenen maksimum limitler sert kabuklu meyveleri kapsamaz.

(2) Maksimum limit, işlenmek üzere tarladan fabrikaya doğrudan nakledilen taze ıspanak için uygulanmaz.

(3) Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ilgili mevzuatında tanımlanan ürünleri kapsar.

(4) Maksimum limit; üretici tarafından beyan edilen kullanım talimatına göre hazırlanan veya doğrudan tüketime hazır olarak piyasaya arz edilen ürünler için geçerlidir.

(5) GTİP 1201, 1202, 1203, 1204, 1205, 1206, 1207 kapsamındaki yağlı tohumları ve GTİP 1208'den üretilen ürünler; GTİP 1207 99 kavun tohumu hariç

(6) Maksimum limit; yerfıstığı ve sert kabuklu meyvelerin yenilebilir kısımlarına uygulanır. Yerfıstığı ve sert kabuklu meyveler kabuklarıyla analiz edilirse Brezilya fındığı hariç, aflatoksin miktarı hesaplanırken tüm bulaşanın yenilebilir kısım üzerinden olduğu kabul edilir.

(7) İşlenmiş ürünlerin tamamı veya hemen hemen tamamı bahse konu sert kabuklu meyvelerden üretiliyorsa bu sert kabuklu meyveler için belirlenen maksimum limit; işlenmiş ürünü için de kullanılır. Aksi halde 6 ıncı maddenin birinci, ikinci ve üçüncü fıkraları uygulanır.

(8) Hayvansal Gıdalar için Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliğinde tanımlanan ürünleri kapsar.

(9) Maksimum limit; kuru madde üzerinden geçerlidir. Kuru madde, mikotoksin limitlerinin resmi kontrolü için gıdalardan numune alma, numune hazırlama ve analiz metodu kriterleri ilgili mevzuatında belirtilen şekilde hesaplanır.

(10) Bebek formülleri ve devam formülleri ilgili mevzuatında tanımlanan ürünleri kapsar.

(11) Özel tıbbi amaçlı diyet gıdaları ilgili mevzuatında tanımlanan ürünleri kapsar.

(12) Maksimum limit; süt ve süt ürünleri için üretici tarafından beyan edilen kullanım talimatına göre hazırlanan veya doğrudan tüketime hazır olarak piyasaya arz edilen ürünlere uygulanırken süt ve süt ürünleri dışındaki ürünler için ise kuru madde üzerinden geçerlidir. Kuru madde, mikotoksin limitlerinin resmi kontrolü için gıdalardan numune alma, numune hazırlama ve analiz metodu kriterleri ilgili mevzuatında belirtilen şekilde hesaplanır.

(13) Maksimum limit; 2005 yılı ve sonrasında hasat edilerek üretilen ürünlere uygulanır.

(14) Aromatize şarap, aromatize şarap bazlı içki ve aromatize şarap kokteyli ilgili mevzuatında tanımlanan

ürünleri kapsar. Maksimum OTA limiti; son üründeki şarap ve/veya şıra oranı hesaplanarak uygulanır.

(15) Meyve suyu ve benzeri ürünler mevzuatında tanımlanan ürünleri kapsar.

(16) Maksimum limit; 3-4 kg meyan kökünden üretilen 1 kg saf ve seyreltilmemiş ekstraktlara uygulanır.

(17) Distile alkollü içkiler ilgili mevzuatında tanımlanan ürünleri kapsar.

(18) Bebek formülleri, devam formülleri ve bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ilgili mevzuatında tanımlanan bebek ve küçük çocukları kapsar.

(19) Maksimum limit; tahıl ve tahıl ürünleri kapsamında değerlendirilmediğinden 2.4 ve 2.5 kapsamına girecek olan pirinç ve pirinç ürünlerine uygulanmaz.

(20) Maksimum limit; birincil işleme tabi tutulacak olan işlem görmemiş tahıllara uygulanır. Birincil işlem; tahıl tanesinin kurutulması haricindeki herhangi bir fiziksel veya ısıl işlemi ifade eder. Temizleme, ayıklama ve kurutma birincil işlem olarak değerlendirilmez. Uygulanan temizleme veya ayıklama sonrasında tahıl tanesinin aslını bozacak fiziksel işlemler uygulanmaz.

(21) İstisnalar sadece kullanım amacı etiketinde ve/veya ürün ile birlikte hareket eden orijinal doküman üzerinde açıkça belirtilen mısırlar için kullanılır. Örneğin; etiketinde veya herhangi bir belgesinde, "nişasta üretimi için" gibi kullanım amacı belirtilenler vb.

(22) Makarna ilgilimevzuatında tanımlanan ürünleri kapsar. Rutubet miktarı yaklaşık %12 olan makarnayı ifade eder.

(23) Balık, bütün olarak tüketiliyorsa maksimum limit bütün haldeki balığa uygulanır.

(24) Maksimum limit; aşağıdaki gıdalara (balık karaciğeri (GTİP No: 0302 70 00) hariç) uygulanır.

Canlı balıklar (GTİP No: 0301)

— Taze veya soğutulmuş balıklar (GTİP No: 0302)

— Dondurulmuş balıklar (GTİP No: 0303)

— Taze soğutulmuş veya dondurulmuş balık filetoları ve diğer balık etleri (kıyılmış olsun olmasın), (GTİP No: 0304)

— Kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş balıklar; tütsülenmiş balıklar -önceden veya tütsüleme sırasında pişirilmiş olsun olmasın-; insanların yemesine elverişli balık unları, ezmeleri ve pelletleri (GTİP No: 0305)

— Hazırlanmış veya konserve edilmiş balıklar; balık yumurtalarından elde edilen havyar ve havyar yerine kullanılan ürünler (GTİP No: 1604)

(25) Maksimum limit; aşağıdaki gıdalara uygulanır.

— Kabuklu hayvanlar (kabukları ile birlikte olsun olmasın) (canlı, taze, soğutulmuş, dondurulmuş, kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş); kabuklu hayvanlar (kabukları ile birlikte) (buharda veya suda pişirilmiş soğutulmuş, dondurulmuş, kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş olsun olmasın); kabuklu hayvanların insanların yemesine elverişli unları, ezmeleri ve pelletleri (GTİP No: 0306)

— Yumuşakçalar (kabuklu olsun olmasın) (canlı, taze, soğutulmuş, dondurulmuş, kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş); kabuklu hayvanlar ve yumuşakçaların dışında kalan suda yaşayan omurgasız hayvanlar (canlı, taze, soğutulmuş, dondurulmuş, kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş); suda yaşayan omurgasız hayvanların (kabuklu hayvanlar hariç) insanların yemesine elverişli unları, ezmeleri ve pelletleri (GTİP No: 0307)

— Hazırlanmış veya konserve edilmiş kabuklu hayvanlar, yumuşakçalar ve diğer su omurgasızları (GTİP No:1605)

(26) Maksimum limit; meyve veya sebzelerin yıkandıktan sonra yenilebilir kısımlarına uygulanır.

(27) Maksimum limit; Türk Gıda Kodeksi – Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliğinde tanımlanan ve kod numarası 0256000 olan "otlara" uygulanmaz.

(28) Maksimum limit; 2001 yılından sonra hasat edilerek üretilen ürünlere uygulanır.

(29) Maksimum limit; ürünün piyasaya arz edildiği haline uygulanır.

(30) Maksimum limit; % 40 kuru madde içeren sıvı ürün için verilmiş olup, bu oran kuru maddede 50 µg/kg'a karşılık gelmektedir. Bu limit, yukarıdaki açıklamalar dikkate alınarak üründeki kuru madde

miktarıyla orantılı olarak hesaplanır.

(31) Dioksin; poliklorlu dibenzo-para-dioksinler (PCDD) ve poliklorlu dibenzofuranların (PCDF) toplamı olup, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından toksik eşdeğeri olarak WHO-toksik eşdeğer faktörü (WHO-TEF'ler) kullanılır. Dioksin benzeri PCB'ler ise PCDD'ler, PCDF'ler ve poliklorine bifenil (PCB'ler) toplamı olup, WHO toksik eşdeğeri WHO-TEF'ler kullanılır.

Benzer ya da aynı türden /çeşitlerden biri	TEF değeri	Benzer ya da aynı türden /çeşitlerden biri	TEF değeri
Dibenzo-p-dioksinler (PCDD'ler)		**Dioksin benzeri PCB'ler: Non-orto PCB'ler + Mono-orto PCB'ler**	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1		
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1		
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	Non-orto PCB'ler	0,0001
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 81	0,1
OCDD	0,0003	PCB 126	0,03
		PCB 169	
Dibenzofuranlar (PCDF'ler)			
2,3,7,8- TCDF	0,1	Mono-orto PCB'ler	
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	PCB 105	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3	PCB 114	0,00003
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 118	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 156	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 157	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 167	0,000013
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01	PCB 189	0,00003
OCDF	0,0003		

Kısaltmalar: T; Tetra/Dört, Pe; Penta/Beş, Hx; Hexa/Altı, O; Octa/Yedi,
CDD; Klorodibenzodioksin, CDF; Klorodibenzofuran, CB; Klorobifenil

(32) Üst sınır konsantrasyonu: Tespit sınır değerinden daha az olan farklı bileşenlerin bütün değerlerinin tespit sınır değerine eşit olduğu kabul edilerek hesaplanır.

(33) Maksimum limit, yağ içeriği %2'den az olan gıdalar için uygulanmaz. Bu gıdalar için, maksimum limit = o gıda için yağ üzerinden verilen maksimum limit x 0,002 formülü kullanılır.

(34) Maksimum limit; aşağıdaki gıdalara (Bölüm 5.6'da belirtilen balık karaciğeri (GTİP No: 0302 70 00) hariç) uygulanır.

— Canlı balıklar (GTİP No: 0301)

— Taze veya soğutulmuş balıklar (GTİP No: 0302)

— Dondurulmuş balıklar (GTİP No: 0303)

— Taze soğutulmuş veya dondurulmuş balık filetoları ve diğer balık etleri (kıyılmış olsun olmasın) (GTİP No: 0304)

— Kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş balıklar; tütsülenmiş balıklar -önceden veya tütsüleme sırasında pişirilmiş olsun olmasın-; insanların yemesine elverişli balık unları, ezmeleri ve pelletleri (GTİP No: 0305)

— Kabuklu hayvanlar (kabukları ile birlikte olsun olmasın) (canlı, taze, soğutulmuş, dondurulmuş, kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş); kabuklu hayvanlar (kabukları ile birlikte) (buharda veya suda pişirilmiş soğutulmuş, dondurulmuş, kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş olsun olmasın); kabuklu hayvanların insanların yemesine elverişli unları, ezmeleri ve pelletleri (GTİP No: 0306)

— Yumuşakçalar (kabuklu olsun olmasın) (canlı, taze, soğutulmuş, dondurulmuş, kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş); kabuklu hayvanlar ve yumuşakçaların dışında kalan suda yaşayan omurgasız hayvanlar (canlı, taze, soğutulmuş, dondurulmuş, kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş); suda yaşayan omurgasız hayvanların (kabuklu hayvanlar hariç)

insanların yemesine elverişli unları, ezmeleri ve pelletleri (GTİP No: 0307)

— Hazırlanmış veya konserve edilmiş balıklar; balık yumurtalarından elde edilen havyar ve havyar yerine kullanılan ürünler (GTİP No: 1604)

— Hazırlanmış veya konserve edilmiş kabuklu hayvanlar, yumuşakçalar ve diğer su omurgasızları (GTİP No:1605)

(35) Konserve balık karaciğerinde, maksimum limit konservenin yenilebilir tüm içeriğine uygulanır.

(36) Düşük limit konsantrasyonu bu dört maddenin ölçülebilir miktarının sıfır olduğu kabulüyle hesaplanır.

(37) Maksimum limit; aşağıdaki gıdalara uygulanır.

— Kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş balıklar; tütsülenmiş balıklar -önceden veya tütsüleme sırasında pişirilmiş olsun olmasın-; insanların yemesine elverişli balık unları, ezmeleri ve pelletleri (GTİP No: 0305)

— Kabuklu hayvanlar (kabukları ile birlikte olsun olmasın) (canlı, taze, soğutulmuş, dondurulmuş, kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş); kabuklu hayvanlar (kabukları ile birlikte) (buharda veya suda pişirilmiş soğutulmuş, dondurulmuş, kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş olsun olmasın); kabuklu hayvanların insanların yemesine elverişli unları, ezmeleri ve pelletleri (GTİP No: 0306)

— Yumuşakçalar (kabuklu olsun olmasın) (canlı, taze, soğutulmuş, dondurulmuş, kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş); kabuklu hayvanlar ve yumuşakçaların dışında kalan suda yaşayan omurgasız hayvanlar (canlı, taze, soğutulmuş, dondurulmuş, kurutulmuş, tuzlanmış veya salamura edilmiş); suda yaşayan omurgasız hayvanların (kabuklu hayvanlar hariç) insanların yemesine elverişli unları, ezmeleri ve pelletleri (GTİP No: 0307)

— Hazırlanmış veya konserve edilmiş kabuklu hayvanlar, yumuşakçalar ve diğer su omurgasızları (GTİP No:1605)

(38) Konserve gıdalarda analiz tüm konserve içeriğinden yapılır. Maksimum limit; kompozit gıdalarda olduğu gibi 6 ıncı maddenin birinci, ikinci ve üçüncü fıkralarına göre uygulanır.

(39) Bahse konu et ve et ürünleri ızgara ve mangal gibi PAH oluşumuna imkan verecek ısıl işlemlere tabi tutulmuş olanlardır.

(40) Toplam yağ asitleri içeriği üzerinden hesaplanır.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	:Leyla ÖNER
Doğum Tarihi ve Yeri	:18.09.1981 / Adıyaman
Yabancı Dili	:İngilizce
E-posta	:leylaoner34x@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	**Alan**	**Okul/Üniversite**	**Mezuniyet Yılı**
Lisans	Biyoloji	Karadeniz Teknik Üniversitesi	2007
Lise	Fen Bilimleri	Fatih Vatan Lisesi	1999

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	**Firma/Kurum**	**Görevi**
2010 - Devam	Milli Eğitim Bakanlığı	Biyoloji Öğretmenliği