

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**MISIR UNUNDA AFLATOKSİN, OKRATOKSİN A VE AĞIR
METAL İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE
KEMOMETRİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İŞİL ALGÜL

BALIKESİR, EYLÜL-2012

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**MISIR UNUNDA AFLATOKSİN, OKRATOKSİN A VE AĞIR
METAL İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE
KEMOMETRİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İŞİL ALGÜL

BALIKESİR, EYLÜL-2012

KABUL VE ONAY SAYFASI

Işıl ALGÜL tarafından hazırlanan “**MISIR UNUNDA AFLATOKSİN, OKRATOKSİN A VE AĞIR METAL İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE KEMOMETRİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 07.09.2012 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği le Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Derya KARA FISHER



Üye
Yrd. Doç.Dr. Sema BAĞDAT YAŞAR



Üye
Yrd. Doç.Dr. Füsun ÜÇER ÇİFTÇİ



Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez BAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Hilmi NAMLI

.....

Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeler Birimi tarafından 2011/08 nolu proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

**MISIR UNUNDA AFLATOKSİN, OKRATOKSİN A VE AĞIR
METAL İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE KEMOMETRİK
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
IŞIL ALGÜL
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. DERYA KARA FISHER)
BALIKESİR, EYLÜL - 2012**

Mısır, içerdiği zengin besin maddeleri nedeniyle hem insan, hem de hayvan beslenmesi bakımından çok değerli ve kullanım çeşitliliği olan bir tahıl ürünüdür. Mısır ürünlerinin kullanımı oldukça yaygındır, özellikle mısır ununu Karadeniz halkının sıklıkla kullandığı herkes tarafından bilinmektedir.

Bu çalışmada ülkemizin farklı şehir ve köylerinden temin edilen 18 adet, yurtdışından temin edilen 3 adet mısır unu örnekleri ile araştırmalar yapıldı. Mısır unu örneklerindeki toplam aflatoksin, aflatoksin B1 ve okratoksin A mikotoksinlerinin ve kurşun, kadmiyum, civa, arsenik, bakır, çinko ve krom gibi ağır metallerin derişimleri belirlendi.

Bu araştırmalar sırasında toksin analizlerinde günümüzdeki birçok laboratuvarın tercih ettiği HPLC cihazı kullanılarak temel mantığında katı faz ekstraksiyonu olan immunoaffinite kolonlar tercih edildi. Ağır metal analizlerinde de hem çoklu element tayini hem de ppb düzeylerinde analiz yapmamıza olanak sağlayan ICP-MS cihazı kullanıldı.

Yapılan değerlendirmelerde mısır unu örneklerinin aflatoksin, okratoksin A ve belirli düzeylerde kurşun, kadmiyum, arsenik, bakır, krom, çinko içerdiği ancak civanın tespit edilemeyecek düzeylerde az olduğu görülmüştür.

ANAHTAR KELİMELELER: mısır unu, aflatoksin, okratoksin a, ağır metal, HPLC, ICP-MS, immunoaffinite kolon.

ABSTRACT

DETERMINATION AND CHEMOMETRIC EVALUATION OF AFLATOXIN, OCHRATOXIN A AND HEAVY METALS CONTENTS IN CORN FLOURS

MASTER THESIS

IŞIL ALGÜL

BALIKESİR UNIVERSITY, INSTITUTE OF SCIENCE

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

(SUPERVISOR: PROF. DR. DERYA KARA FISHER)

BALIKESİR, SEPTEMBER 2012

Since corn is nutrient-rich, it is a very valuable grain product that has a variety of uses in human and animal alimentation. Corn products are widely used everywhere, but people in the Black Sea region of Turkey especially prefer to use corn flour in their diet.

In this study, the research was carried out using 18 corn flour samples that were obtained from different cities and villages in Turkey and 3 corn flour samples obtained from abroad. Concentrations of the total aflatoxin, aflatoxin B₁, ochratoxin A, lead, cadmium, mercury, arsenic, copper, zinc and chromium in the corn flour samples were determined.

During this research, determination of the different toxins was carried out using HPLC instrumentation which is preferred by many of the modern laboratories and by using immunoaffinite columns that work through a mechanism of solid-phase extraction. An ICP-MS instrument that can detect the elements at ppb levels in a simultaneous way was used for the heavy metal analyses.

The results obtained from HPLC and ICP-MS analyses of the corn flour samples showed that these samples contain some aflatoxins, ochratoxins A, lead, cadmium, arsenic, copper, chromium and zinc but the mercury was at undetectable levels.

KEYWORDS: corn flour, aflatoxin, ochratoxin a, heavy metal, HPLC, ICP-MS, immunoaffinity column.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1 Mısır Unu Kullanım Alanları	2
1.2 Dünya’da ve Türkiye’de Mısır Üretimi	3
2. MİKOTOKSİNLER	5
2.1 Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler	5
2.2 Aflatoksinler	7
2.2.1 Aflatoksinin Tarihçesi	10
2.2.2 Aflatoksin Nasıl Oluşur?	11
2.3 Okrotoksinler	12
2.4 Gıda Analizlerinde Mikotoksinlerin Ölçüm Teknikleri.....	14
2.4.1 HPLC	14
2.4.2 HPLC ile Mikotoksinlerin Analizi	16
3. AĞIR METALLER	22
3.1 Bazı Ağır Metaller ve Etkileri	23
3.1.1 Kurşun	23
3.1.2 Kadmiyum	23
3.1.3 Civa.....	24
3.1.4 Arsenik.....	25
3.1.5 Krom.....	26
3.1.6 Bakır	26
3.1.7 Çinko	27
3.2 Mikrodalga Yöntemi ile Materyal Çözünürleştirme.....	28
3.3 Ağır Metallerin Analizinde Kullanılan Spektroskopi Teknikleri.....	29
3.3.1 İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP)	29
3.3.2 İç Standart	31
3.3.3 ICP- Kütle Spektroskopisi (ICP- MS).....	31
3.3.3.1 ICP- Kütle Spektroskopisi (ICP- MS) ile Gıda Örneklerinde Yapılan Ağır Metal Analizleri	32
4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	35
4.1 Korelasyon Analizi	35
4.2 Faktör Analizi	35
5. MATERYAL	37
5.1 Mısır unu	37
5.2 Aflatoksin.....	37
5.2.1 Kimyasal maddeler	37

5.2.2	Aflatoksin analizi için gerekli çözeltilerin hazırlanışı.....	38
5.2.3	Aflatoksin analizinde kullanılan alet ve ekipmanlar	38
5.2.4	Aflatoksin Standardı ve Immunoaffinite Kolonu.....	38
5.3	Okratoksin	39
5.3.1	Kimyasal maddeler.....	39
5.3.2	Okratoksin için gerekli çözeltilerin hazırlanışı	39
5.3.3	Okratoksin analizinde kullanılan alet ve ekipmanlar	40
5.3.4	Okratoksin A Standardı ve Immunoaffinite Kolonu	40
5.4	Ağır Metaller	40
5.4.1	Kimyasal maddeler.....	40
5.4.2	Ağır metal analizi için gerekli çözeltilerin hazırlanışı	41
5.4.3	Ağır metal analizinde kullanılan alet ve ekipmanlar	41
5.4.4	Ağır metal standartları	41
6.	METOT	42
6.1	Mısır Unu	42
6.2	Aflatoksin standart çözeltisinin hazırlanması	42
6.3	Mısır unlarında aflatoksin varlığının araştırılması	42
6.4	HPLC' de Aflatoksin Analizi	43
6.5	Okratoksin A standart çözeltisinin hazırlanması	44
6.6	Mısır unlarında okratoksin varlığının araştırılması	45
6.7	HPLC' de Okratoksin A analizi	46
6.8	Ağır metaller için standart çözeltilerinin hazırlanması.....	47
6.9	Mısır unlarında ağır metal varlığının araştırılması	47
6.10	ICP-MS' te Ağır metal analizleri.....	48
6.10.1	Mikrodalga Yöntemi ile Materyal Çözünürleştirme	48
6.10.2	Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn, Cr analizleri:.....	49
7.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	51
7.1	Aflatoksin analizleri.....	51
7.2	Okratoksin A analizleri	57
7.3	Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn, Cr analizleri	59
8.	TARTIŞMA	66
8.1	Mısır ununda Aflatoksin, Okratoksin A ve ağır metal içeriklerinin belirlenmesine ait bulguların değerlendirilmesi.....	66
8.1.1	Aflatoksin analizlerine ait bulguların değerlendirilmesi	66
8.1.2	Okratoksin A analizlerine ait bulguların değerlendirilmesi.....	67
8.1.3	Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn, Cr analizlerine ait bulguların değerlendirilmesi	68
8.2	Mısır ununda Aflatoksin, Okratoksin A ve ağır metal içeriklerinin kemometrik olarak değerlendirilmesi.....	71
8.2.1	Korelasyon Analizleri.....	71
8.2.2	Temel Bileşen Analizi	72
9.	SONUÇ VE ÖNERİLER	79
9.1	İstatistiksel Değerlendirme.....	81
10.	KAYNAKLAR	82

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Türkiye'de yıllara göre mısır üretimi	4
Şekil 3.1: ICP-MS kullanım alanları	32
Şekil 6.1: Mısır unu örneklerinin aflatoksin ekstraksiyon aşaması.....	43
Şekil 6.2: Mısır unu örneklerinin okratoksin A ekstraksiyon aşaması.....	46
Şekil 6.3: Mısır unu örneklerinin ağır metal analizlerine ait basamakları.....	48
Şekil 7.1: Aflatoksin B1 kalibrasyon grafiği	52
Şekil 7.2: Aflatoksin B2 kalibrasyon grafiği	52
Şekil 7.3: Aflatoksin G1 kalibrasyon grafiği	53
Şekil 7.4: Aflatoksin G2 kalibrasyon grafiği	53
Şekil 7.5: HPLC cihazında aflatoksine ait kromatogram	56
Şekil 7.6: Okratoksin A kalibrasyon eğrisi	57
Şekil 7.7: HPLC cihazında okratoksine ait kromatogram	59
Şekil 8.1: Mısır unu örnekleri için PCA1-PCA2 faktör loadingleri grafiği.....	74
Şekil 8.2: Mısır unu örnekleri için PCA2-PCA3 faktör loadingleri grafiği	74
Şekil 8.3: Mısır unu örnekleri için PCA1-PCA3 faktör loadingleri grafiği	75
Şekil 8.4: Mısır unu örnekleri için PCA1-PCA2 faktör skor grafiği	77
Şekil 8.5: Mısır unu örnekleri için PCA1-PCA3 faktör skor grafiği	77
Şekil 8.6: Mısır unu örnekleri için PCA2-PCA3 faktör skor grafiği	78

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1: Türk Gıda Kodeksinde yer alan bazı yiyeceklerin maksimum aflatoksin limitleri	8
Tablo 2.2: Türk Gıda Kodeksinde yer alan bazı yiyeceklerin maksimum okratoksin A limitleri	13
Tablo 5.1: Aflatoksin analizinde kullanılan kimyasal maddeler	37
Tablo 5.2: Okratoksin analizinde kullanılan kimyasal maddeler	39
Tablo 5.3: Ağır metal analizinde kullanılan kimyasal maddeler	40
Tablo 6.1: Mikrodalga yakma programı	49
Tablo 6.2: ICP-MS parametreleri	49
Tablo 7.1: Hazelnut T04164 sertifikalı referans materyal ile yapılan çalışmaya ait değerler	54
Tablo 7.2: Mısır unu örneklerinde Toplam Aflatoksin düzeyleri	55
Tablo 7.3: Mısır unu örneklerinde Aflatoksin B1 düzeyleri	56
Tablo 7.4: Maize flour T17100 sertifikalı referans materyal ile yapılan çalışmaya ait değerler.....	57
Tablo 7.5: Mısır unu örneklerinde Okratoksin A düzeyleri	58
Tablo 7.6: Çalışılan elementlere ait kütle değerleri	59
Tablo 7.7: Soft Drink T07101 sertifikalı referans materyal ile yapılan çalışmaya ait değerler.....	61
Tablo 7.8: Canned Fish T07139 Sertifikalı referans materyal ile yapılan çalışmaya ait değerler	61
Tablo 7.9: Chilli Powder T07141 Sertifikalı referans materyal ile yapılan çalışmaya ait değerler	62
Tablo 7.10: Bakır ve çinkoya ait ICP-MS sonuçları.....	63
Tablo 7.11: Kurşun ve kadmiyuma ait ICP-MS sonuçları	64
Tablo 7.12: Arsenik, civa ve kroma ait ICP-MS sonuçları	65
Tablo 8.1: Mısır unu örneklerindeki metaller ve toksinler arasındaki korelasyon	72
Tablo 8.2: Mısır unu örnekleri için metal iyonları ve toksinler arasındaki ilişkiyi gösteren faktör loading değerleri.....	73
Tablo 8.3: Mısır unu örnekleri için şehirler arasındaki ilişkiyi gösteren faktör skor değerleri	76

SEMBOL LİSTESİ

kg:	kilogram
mg:	miligram
μg :	mikrogram
ng:	nanogram
PBS:	phosphate buffered saline
ppb :	parts per billion
μL :	mikrolitre
mL:	mililitre
l:	litre
OTA :	Okratoksin A
W :	Watt
rpm:	revolutions per minute
nm:	nanometre
\bar{x} :	ortalama değer
s:	standart sapma

ÖNSÖZ

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanan bu çalışma Prof. Dr. Derya KARA FISHER danışmanlığında yapılmıştır.

Yüksek lisans programım süresince yardımlarını esirgemeyen, çalışmalarım esnasında her türlü desteğini aldığım, her türlü özveriyi bana gösteren değerli hocam Prof. Dr. Derya KARA FISHER'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Örneklerin toplanmasında emeklerini esirgemeyen gerek okul gerek iş arkadaşlarıma, akrabalarım ve saygı değer hocama desteklerinden dolayı teşekkür ediyorum.

HPLC cihazını kullanmama olanak sağlayan Nanolab Gıda, Yem Analiz ve Kontrol Laboratuvarı'na, ICP-MS cihazını kullanmama olanak sağlayan Acıbadem Labvital Gıda Kontrol Laboratuvarı'na ve Balıkesir Üniversitesi Temel Bilimler Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunuyorum.

Son olarak, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, her zaman yanımda olan, değerli aileme (Yasemin, Coşkun, Zülküf, Mustafa ÖZKARA) ve değerli eşime (Resul ALGÜL) en içten sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Mısır içerdiği zengin besin maddeleri nedeniyle hem insan, hem de hayvan beslenmesi bakımından çok değerli ve kullanım çeşitliliği olan bir tahıl ürünüdür. Mısır, dünya tarım ürünleri piyasalarında hem üretim hem de ticareti ile oldukça önemli yere sahiptir [1].

Tropik ve ılıman iklim kuşaklarında yetişebildiği için, dünyanın hemen hemen tüm ülkelerinde az çok mısır tarımı yapılabilmektedir. Bugün, Antartika haricinde, dünyanın her yerinde mısır yetişebilmektedir. Dünya üzerinde, 58° kuzey ve 40° güney enlemleri arasında kalan alanlarda, deniz seviyesinden başlayarak 4000 m' ye kadar yetiştirilebilmektedir [2].

Mısır, binlerce yıldan beri tarımı yapılan birkaç ender bitkiden biridir. Anavatanı Amerika kıtası olup buradan Dünya'nın her yerine yayıldığı bilinmektedir. A.B.D' nin New Mexico eyaletinde yapılan arkeolojik kazılarda, kayalardan oluşmuş barınaklarda ve mağaralarda bulunan mısır taneleri ve mısır koçanı parçalarının yaklaşık 5000 yıllık oldukları tespit edilmiştir. Öte yandan 1954 yılında, Meksika'nın başkenti Mexico City' de yapılan arkeolojik kazılarda ise, toprağın 50-60 m derinliğinde, yaklaşık 7000 yıllık olduğu belirlenen mısır çiçek tozlarına rastlanmıştır. Yabani mısır bugüne kadar bulunamadığı için, mısırın orijini ve tarihine ilişkin kesin bir bilgi elde edilememiş, bu konuda çeşitli teoriler üretilmiş ve hepsi de günümüzde hala tartışılmaktadır. Ancak, yapılan tüm arkeolojik kazılardan elde edilen bulgular, mısır bitkisinin 8.000 ile 10.000 yıllık bir geçmişi olduğunu göstermektedir [2].

Mısır çeşitleri, her biri içinde farklı tipleri içeren, yedi grup (çeşitler grubu) altında toplanırlar: At dişi mısır, Sert mısır, Unlu mısır, Şeker mısır, Patlak (cin) mısır, Mumlu mısır, Kavuzlu mısır [3].

Uzun süreli depolanacak mısırın depolanmadan önce kurutulması gerekir. Kurutma havalandırma suretiyle (doğal olarak) yapılabilmeyle beraber bu yöntem pek kullanılmaz. Yaygın kurutma yöntemi ısıtılmış hava ile suni kurutmadır.

Kurutma işlemi ile mısır tanesindeki rutubet oranının %13-14'e indirilmesi gerekir. Tanedeki nem oranının daha yüksek olması durumunda, depoda (siloda) solunumdan dolayı sıcaklık artar, buna bağlı olarak hava nemi yükselerek küflenme oluşur. Küf mantarı tarafından üretilen zehirli maddeye « aflatoksin » denir [1].

Sanayide, mısırdan pek çok ürün elde edilmektedir. Un, yağ, nişasta, tatlandırıcılar başta olmak üzere, yüzlerce ürün sayılabilir. Mısırdan elde edilen ürünlerin her bir parçası, ayrı bir ekonomik değere sahiptir.

Mısır unu kurutulmuş mısır tanelerinin çok iyi bir şekilde öğütülmesiyle elde edilir. Yumuşak, ince, bej rengi, pudra görünümündedir. Kokusuzdur ve yumuşak bir tadı vardır. Mısır unu opak olmasına ve suda çözündüğünde beyaz kalmasına rağmen, ısı bu çözeltiyi saydam hale çevirir [4].

Mısır unu, karbonhidrat ve nişasta bakımından zengin, protein ve vitamin bakımından ise fakirdir [5].

1.1 Mısır Unu Kullanım Alanları

Mısır unu birçok amaçla kullanılmaktadır. Aşağıda bunlardan örnekler verilmiştir.

1. Ekmek yapımında kullanılır.
2. Başka tür unlarla karıştırılıp hamur işi yapımında kullanılır.
3. Dolgu macunu, yapıştırıcı olarak kullanılır.
4. Et ve balık pişirmede kullanılır.
5. Her yemekte sunulan İtalyanların "Polenta"sına benzer "Mamaliga" mısır unundan yapılır.

6. Çok yönlü kullanım alanı olan mısır unundan viski ve bazı bira çeşitleri de üretilir [4].

1.2 Dünya’da ve Türkiye’de Mısır Üretimi

Dünya mısır üretiminin %52’si gelişmiş ülkelerde üretilirken, ABD toplam üretimin %40’a yakınına sahiptir. Bu da ABD’yi mısır piyasalarındaki en güçlü ülke konumuna getirmiştir. ABD’nin ardından 2. en büyük üretici olan Çin aynı zamanda önemli bir ithalatçıdır. AB, Meksika, Brezilya ve Arjantin diğer önemli üretici ülkelerdir. Bu ülkeler arasında Brezilya ve Arjantin güney yarım kürede olma avantajı ile tüketimin çoğunun yapıldığı kuzey yarım kürenin ihtiyacı olan dönemde piyasaya girerek önemli avantaj sağlamaktadır [1].

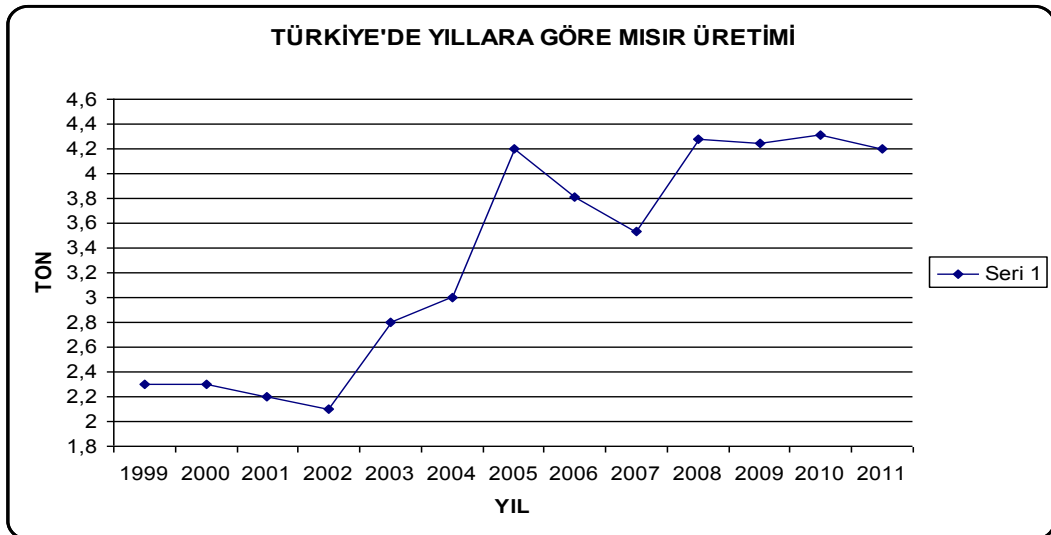
Türkiye’de insan beslenmesinde tahılların önemli bir yeri vardır. Bu sebeple tahıl ekim alanları oldukça geniş yer tutmaktadır ve yıllar ilerledikçe ekim alanlarında artış görülmüştür.

Son birkaç yıla kadar mısır ticari olarak Adana başta olmak üzere Doğu Akdeniz ve Sakarya, Samsun’da, öz tüketim amaçlı olarak da Karadeniz kuşağında üretilen ve bu yönü ile çok yüksek oranlı bölgesel yoğunlaşmaya sahip bir ürün olmuştur [1].

Ancak özellikle 2000’li yılların ilk yarısında başlayan ve ikinci yarısında hızlanan süreçle birlikte ekim alanlarındaki yayılma bu yoğunlaşmayı azaltmış ve başka bölgelere doğru yönlendirmiştir. Mısırın daha önce düşük miktarlarda üretildiği Ege ve Güneydoğu Anadolu gibi bölgelerdeki çok hızlı ekim alanı ve üretim artışı bu durumu açıkça ortaya koymaktadır. 2000 yılında Akdeniz bölgesi mısır ekim alanının 1/3’üne, üretiminin de %40 civarındaki oranına sahipken, 2010’da bu paylarını korumuştur. Aynı dönemde Güneydoğu Anadolu’nun ekim alanı ve üretimde %2 civarında olan payı %22’ye ulaşmıştır. Ege’de ise aynı oranlar %8’den, ekim alanında %13’e, üretimde de %16’ya çıkmıştır. Karadeniz’de üretim ve ekim alanında mutlak ve oransal olarak azalma olmuştur. Oransal azalma %50’yi aşarken, mutlak azalma alanda 120 bin hatta üretimde de 237 bin ton’a ulaşmıştır. Doğu Marmara’da ise %25’lik alan daralmasına karşın, verimdeki %46’lık artış üretim miktarının az da olsa artmasına neden olmuştur.İl

düzeyinde ekim alanı ve üretim incelendiğinde 2000 yılında en büyük üretim payına sahip illerin Adana, Sakarya, Mersin, Kocaeli ve Osmaniye olduğu, bu sıralamanın 2010'da Adana, Şanlıurfa, Osmaniye, Sakarya ve Mardin olarak değiştiği görülmektedir .Adana yaklaşık 750 bin ton'luk üretimi ile 500 bin ton'un üzerinde üretim yapabilen tek ildir ve üretimini 2005-2008 döneminde 1 milyon ton'un da üzerine çıkarmıştır. Mısırın pamuk ile rekabeti üretim miktarındaki bu değişime neden olurken, ikinci üretim de bunu desteklemiştir [1].

Şanlıurfa 2000 yılında 8 bin ton'luk üretimi ile çok düşük pay aldığı mısır üretiminden 2010 yılında 453 bin ton ile %10'un üzerinde pay almıştır. Benzer şekilde Mardin de 11 bin ton olan üretimini 307 bin ton'a çıkarmıştır. GAP ile birlikte sulamaya açılan alanlardaki artış bu değişimin temel nedenidir. Bölgedeki artış trendinin devam etmesi durumunda Gaziantep gibi illerde de önemli üretim artışları beklenebilir. Manisa başta olmak üzere Aydın ve İzmir gibi Ege bölgesi illerinin yanı sıra Konya ve Bursa gibi illerde mısır üretimindeki artışın devam etmesi de oldukça dikkat çekicidir. Örneğin, 2000 yılında Manisa 44 bin ton'luk üretimi ile en büyük üretim payına sahip 10 il arasında yer almazken 2005'te 4., 2010'da ise yaklaşık 275 bin ton ile 6. il olmuştur. Yine aynı dönemde mısır üretimi İzmir'de ve Konya'da 8 kat, Bursa'da ise 3 kat artmıştır. Benzer artışlar başka illerde de görülmüştür [1].



Şekil 1.1: Türkiye'de yıllara göre mısır üretimi [6].

2. MİKOTOKSİNLER

Gıda maddelerinde üreyebilen, bu yolla günlük yaşantıda çok sık temasın söz konusu olabildiği küfler ve özellikle bunların oluşturdukları toksik metabolitler üzerinde önemle durulan bir araştırma konusudur. Bu toksinler günümüzde halk sağlığını tehdit etmenin yanısıra ekonomide de ciddi kayıplara neden olmaktadır. Konuyla ilgili olarak tarafımızdan ülkemizdeki gıdalarda mikotoksin kontaminasyon sorununu değerlendirmek amacıyla bilhassa tahıl, çocuk mamaları dahil süt ve süt ürünlerinde kapsamlı araştırmalar yapılmıştır. Ayrıca, anne sütü ve insan serumunda mikotoksin düzeylerinin saptanmasıyla ilgili projeler kapsamında çalışmalar devam etmektedir [7].

2.1 Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Mikotoksin oluşumunu etkileyen birçok faktör bulunmakla beraber bunların başında çevresel faktörler gelir. Tarım ürünü veya gıdanın nem içeriği, atmosfer bağıl neminden etkilendiğinden sıcaklıkla birlikte bağıl nem öncelikle fungus sporlarının çimlenmesini ve misellerin gelişmesini ardından da toksin oluşumunu etkileyen en önemli faktördür. Tarım ürününün veya gıdanın çeşidi, kimyasal kompozisyonu, ürünün yetiştirildiği klima zonu, ürünün olgunluk durumu, hasat, işlemler, depolama bulaşan küflerin spektrumuna etki eden diğer faktörlerdir. Her şeyden önce tarımsal ürünün veya gıdanın küf spektrumunda bulunan küflerin potansiyel mikotoksin üreticisi olup olmadıkları önem taşır. Kontamine küfler mikotoksin üreticisi olsalar bile toksinin sentezlenmesine; ürünün nem içeriği, sıcaklık, işleme ve depolamada havanın bağıl nemi etkindir. Ayrıca atmosferik oksijen, diğer modifiye atmosfer gazları, ışık, süre, pH gibi faktörlerin de etkisi vardır [8].

Ürünlerde mikotoksinler bir kez ortaya çıktıktan sonra ürünlerden uzaklaştırılması mümkün olmadığı için mikotoksin oluşumunun engellenmesine yönelik; hasat öncesi, hasat sırasında ve hasat sonrasında yapılan uygulamalar önem arz etmektedir. Bununla birlikte ağır metal içeriğinin de hasat öncesi ve

sonrası bir çok uygulamaya bağı olabileceği aşıkardır. Yetiştđđi toprak, çevre koşulları gibi bir çok etken etkili olmaktadır.

Küflerin gelişebilmesi için hava bağıl neminin en az % 65 olması gerekir. Genellikle küf mantarlarının en uygun gelişme sıcaklıkları 20-30 °C arasındadır. Buna karşı en düşük ve en yüksek gelişme sıcaklık sınırları küf türlerine göre değişik olmaktadır. Örneğin ; A.flavus için gelişme sıcaklıkları en düşük 7° C, en iyi 32° C ve en yüksek 45° C olarak verilmiştir. Buna karşın toksin üretimi 8° C de başlamakta en fazla 27° C olmakta ve 42° C' ye kadar sürmektedir. Olağan koşullarda küf mantarları aerob mikroorganizmalar grubunda olmalarına ve gelişmek için oksijene ihtiyaç duymalarına karşın % 1 gibi düşük bir oksijen varlığı bile küfün gelişmesi için yeterli olmakta ve toksin üretebilmektedirler. Küf mantarları gelişmeleri için genelde nötr veya ona yakın pH derecelerini tercih ederler. Bu nedenle pH 6,5 - 8,5 arasında gelişmeleri en uygun düzeydedir. Bu faktörlerin yanı sıra tarlada, hasatta ve depolamada görülen mekanik hasar, ürün karıştırma, kızışma noktaları, süre, ortamın bileşimi, madensel elementler, kimyasal işlemler, bitki dayanıklılığı, küf enfeksiyonu, bitki varyete farklılığı, spor yükü ve mikrobiyal ekosistem toksin oluşumu üzerine etkili faktörlerdir [9].

Tahıllar, baklagil daneleri, yer fıstığı, fındık, ceviz, badem, yağlı tohumlar, baharat ve bazı meyveler doğal korunma sistemlerine sahiptirler. Bitkisel ürünlerin çoğu hasat işlemleri ve proseslerden önce küf kontaminasyonlarından korunur. Çünkü biyolojik olarak dışarıdan kabuk, çekirdek veya tohum kabuğu ile çevrelenmişlerdir. Ayrıca eterik yağlar, antibiyotik etkili maddeler, fitositler dış dokuda lokalize olmuşlardır. Büyümekte olan ve % 25 su içeren yer fıstıkları küflerle kontamine olmazken, olgunlaşmış fıstıklar çok daha az su içeriğine karşın yerde bırakıldıklarında süratle küflerin hücumuna uğrarlar. Gelişmekte olan bitkide büyük olasılıkla bir savunma mekanizması bulunmaktadır.

Aspergillus flavus 'un et ürünlerinde çok az, buna karşılık su içeriği çok daha düşük olan tahıllarda sıklıkla ve daha fazla aflatoksin oluşturması veya tahıllar içinde mısırın OTA ile kontaminasyona en fazla eğilimli ürün olması hem gıdanın kompozisyonu hem de çevresel faktörlerle açıklanabilecek bir durumdur [8].

2.2 Aflatoksinler

Son yıllarda yaşamımızı önemli derecede etkilediği için sıklıkla sözü edilen aflatoksin, günlük yaşantımızda her yerde karşılaştığımız küflerden bazılarının, ürettikleri birçok kimyasal maddelerden biridir. Bu kimyasal maddeler arasında bazıları insanlarda ve hayvanlarda hastalığa neden olduğu için bir tür zehir özelliği taşımaktadır ve aflatoksin de bunlardan biridir. Zaten, aflatoksin kelimesi de, onu yapan küfün adından (*Aspergillus flavus*) ve zehir anlamına gelen "toksin" kelimesinden türetilmiştir [10].

Aflatoksinler, gıda ve yemlerin üzerinde ve/veya içinde bulunan *Aspergillus flavus* veya *A. Parasiticus* küf mantarları tarafından üretilen toksik metabolitler olup en kuvvetli mikotoksinlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda aflatoksinlerin B1, B2, G1 ve G2 olmak üzere dört temel bileşiği bulunduğu bunlara ek olarak gıda ve yemlere direkt kontamine olmuş M1 ve M2 olmak üzere iki metabolik ürünün daha olduğu saptanmıştır. En toksik etkisi olan hem kanser hem de gen yapısını değiştirebilen Aflatoksin B1'dir [11].

Aflatoksin, bir çok organın yanı sıra esas olarak karaciğer üzerinde etkili olmakta ve giderek karaciğer kanserine yol açmaktadır. Bu etki, genetik çalışmalarla son yıllarda kesin olarak kanıtlanmıştır. Ayrıca birçok ülkede yapılan çalışmalar, karaciğer kanserine yakalanan insan sayısı ile, tükettikleri aflatoksinli gıda arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermiştir [10].

İnsan sağlığını bozan bu etkiyi, aflatoksinin gıda maddesi içerisindeki çok düşük miktarları yapabilmektedir. Ülkemizde gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen 5 ppb düzeyi, milyarda 5'in ifadesidir, yani 1 kg'da 5 mikrogram, 1 tonda 5 miligram, 1000 tonda 5 gram anlamına gelmektedir. Avrupa ülkelerinde ise bu sınır 2 ppb'dir. 1 kg gıda maddesinde 1 ppb aflatoksin, 0,000001 gram aflatoksin demektir [10]. Tablo 2.1 de Türk Gıda Kodeksinde yer alan bazı yiyeceklerin maksimum aflatoksin limitleri verilmiştir.

Günümüzde aflatoksinlerin en az 18 yakın formu olmakla birlikte, doğal olarak 4 ana türü B1, B2, G1 ve G2 sentezlenir. *Aspergillus parasiticus*'un tüm suşları 4 aflatoksin türünü birden sentezlerken, *Aspergillus flavus*

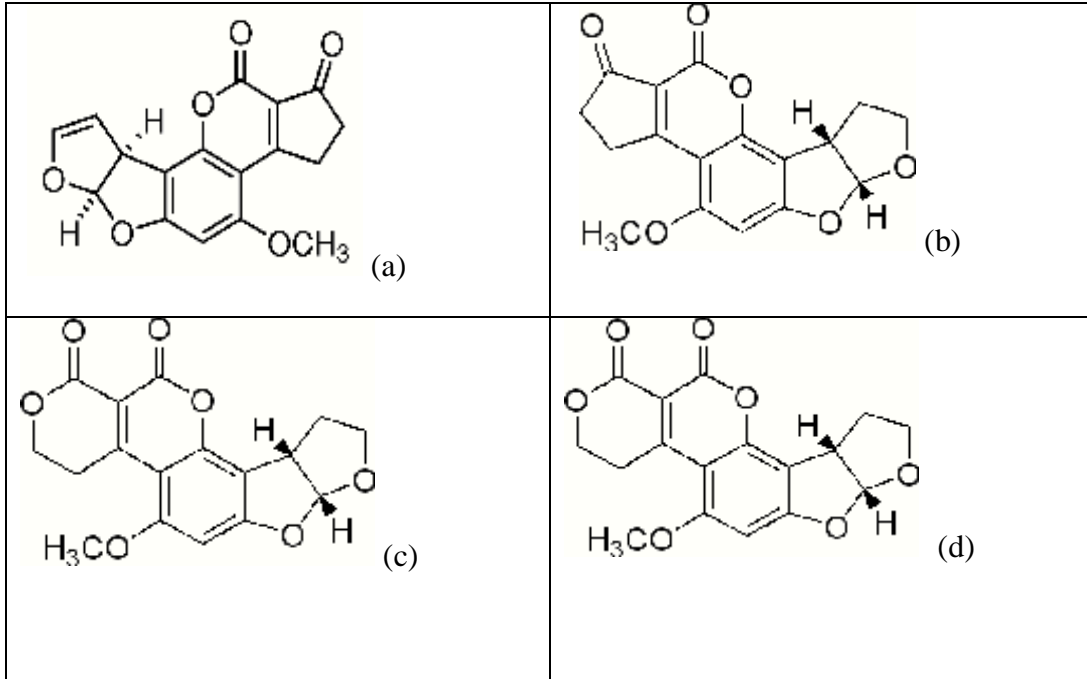
türünün bazı suşları sadece B1 ve B2 formunu sentezler. Aflatoksinler ultraviyoleet ışık altında verdikleri renge göre ayrılmışlar ve mavi ışık veren iki tür B1 ve B2 olarak, yeşil ışık verenler ise G1 ve G2 olarak adlandırılmışlardır [12]. Şekil 2.1 de Aflatoksin B1 , B2 , G1 ve G2'nin kimyasal yapıları verilmektedir.

Tablo 2.1: Türk Gıda Kodeksinde yer alan bazı yiyeceklerin maksimum aflatoksin limitleri [13].

Gıda	Maksimum Limit (µg/kg)		
	B ₁	B ₁ +B ₂ + G ₁ +G ₂	M ₁
AFLATOKSİN			
Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	12,00	15,00	-
Fındık ve Brezilya fıncığı (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	8,00	15,00	-
Sert kabuklu meyveler (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8,00	15,00	-
Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8,00	10,00	-
Sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	5,00	10,00	-
Tahıllar, bunlardan elde edilen ürünler ve bunların işlenmiş ürünleri	2,00	4,00	-
Mısır ve pirinç (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5,00	10,00	-

Tüketici sağlığının korunması amacıyla dünya piyasaları 2000 yılına kadar, aflatoksin açısından riskli ürünlere aflatoksin limitinin sıfıra indirilmesini hedeflemekte idi. Bu hedef doğrultusunda birçok ülkede tahıllar için aflatoksin B1 limiti 4'ten 2 ppb'a; aflatoksinlerin (B1, B2, G1, ve G2) toplam limiti de 10 ppb'tan 4 ppb'e indirildi.

17.05.2008 tarihinde resmi gazetede 2008/26 tebliğ no ile yayınlanan tahıllar için belirtilen aflatoksin B1 limiti 2 ppb ve toplam aflatoksin limiti 4 ppb olmakla beraber 29.12.2011 tarihinde resmi gazetede yayınlanan Türk Gıda kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde de tahıllar için aflatoksin limitleri aynı kaldı, değişiklik yapılmadı.



Şekil 2.1: Aflatoksin B1 (a) , B2 (b) , G1 (c) ve G2 (d) nin kimyasal yapıları [14]

Mikotoksinlerin kimyasal yapıları incelendiğinde çoğunun aromatik yapıda olduğu, daha az bir kısmının da alifatik bileşiklerden oluştuğu görülür. Genellikle yüksek sıcaklıklara dirençlidirler, mikotoksin çeşitlerine, sıcaklık derecelerine ve uygulama sürelerine göre farklı stabilite gösterirler. Genellikle kendilerinin sentezledikleri toksinlerden olumsuz etkilenmezler [8].

2.2.1 Aflatoksinin Tarihçesi

Mikotoksinler, bitkiler üzerinde bulunabilen ve bitkilerde hastalık yapabilme yeteneğinde olan ya da olmayan mikroorganizmalar tarafından doğal olarak üretilen, toksik etkideki metabolitlerdir. Şimdiye kadar, 300 – 400 kadar mikotoksin saptanmıştır. Mikotoksinler, geçmişte insanların ve hayvanların ölümüne neden olmuş zehirli kimyasal maddeler olmalarına karşın, 1960 yılında aflatoksinin keşfinden sonra önemleri anlaşılmış ve yoğun araştırmaların yapıldığı bir konu haline gelmiştir [15].

1800 sonları ve 1900 başlarında araştırmacılar küfler tarafından üretilen bir çok ikincil metabolitin farkına varmışlardır. 1928 yılında Alexander Fleming'nin penisilini keşfinden sonra, araştırmacılar antibiyotikler üzerine çalışmalarında araştırmışlardır. Bilim adamları bu araştırmaları yaparken bazı küf metabolitlerinin hayvanlar üzerine toksik etki gösterdiğinin farkına varmasıyla, bilim dünyası insanlar ve diğer hayvanlar üzerine hastalıklara neden olan mikotoksinlerle ilgili ilk ipuçlarını elde etmişlerdir [16].

Tahılların depolanması sonucu ortaya çıkan problemler ve bunun üzerine yapılan çalışmalar ile birlikte, küfler tarafından tahıllarda ortaya çıkan bozulmalar çiftliklerde ve insanların tüketimi sonucu ortaya çıkan toksik problemler daha iyi anlaşılmaya başlanmıştır. 1940 ve 1950'lerde İkinci Dünya Savaşı öncesi yıllarda Rusya'da insanlarda ölümcül hastalıklar ortaya çıkmış ve bu durum incelendiğinde "Alimentary Toxic Aleuka (ATA)" ı tanımlamışlardır. Bu yıkıcı hastalık, kanama ve merkezi sinir sistemi etkileri sonucu sıklıkla ölümle sonuçlanması, bu hastalığın küf kontaminasyonuna uğramış tahıllarda önemini ortaya koymuştur. Ancak toksik etkiye sebep olan bileşikler o zamanlar bulunamamıştır. Daha sonraları T-2 toksininin neden olduğu ortaya çıkmıştır. Aynı zamanda yine Rusya insan ve atları etkileyen başka bir hastalıkla uğraşmaktadır. 1930'larda bu hastalık binlerce atın ölümüyle sonuçlanmıştır. Sonunda neden olan küf *Stachybotrys atra*, (günümüzde *S.Chartarum* olarak bilinir) olarak tespit edilmiş ancak, ATA'ya benzer semptomları olması nedeniyle kafa karışıklığına neden olmuştur. Daha sonra yapılan çalışmalarla şimdilerde trikotesenler olarak bildiğimiz bu iki bileşiğin benzer yapılarla sahip olduğu anlaşılmıştır. Benzer durumun Birleşik Devletler'de de ortaya çıkması

mikotoksinlere ve mikotoksikosis sistematik bir yaklaşımın ortaya çıkmasına neden olmuştur. Modern mikotoksikoloji 1961'de İngiltere'de 100.000'den fazla hindinin ölümüyle sonuçlanan ve "Hindi X" hastalığı olarak adlandırılan aflatoksinlerin keşfiyle başlamıştır [16].

2.2.2 Aflatoksin Nasıl Oluşur?

Bir gıda maddesinde aflatoksinin oluşması için ilk koşul, bu toksini yapan küfün sporlarının gıda maddesine bulaşması; daha önemli ikinci koşul ise, gıdanın kendisinin ve bulunduğu ortamın, bu küf sporlarının çimlenerek çoğalmasını sağlayacak şartlara sahip olmasıdır. Küfün veya sporlarının insan sağlığına çoğu kez herhangi bir olumsuz etkisi olmamasına karşın, ürettikleri maddelerin bir kısmı zararlıdır ve bu maddelerin birçoğu yüksek sıcaklık ile ortadan kaybolmamaktadır. Küflerin gelişebildiği her gıda maddesinde aflatoksin veya benzeri başka bir zehirli maddenin meydana gelmesi ihtimali bulunmaktadır.

Bu yüzden, bu küf sporlarının gıda maddesine bulaşması önlenemiyorsa, aflatoksinin oluşmasını önlemek için, küfün gelişmesini önlemek gerekmektedir.

Aflatoksin yapan küflerin gelişmesi için 25-35 °C sıcaklığa ve %70'in üzerinde nispi neme (veya gıda maddesine 0,70' in üzerinde su aktivitesine) ihtiyaç vardır.

Küflerin nemli ve sıcak ortamlarda geliştiği herkes tarafından bilinmektedir. Bu açıdan bakıldığında, tarladan yeni hasat edilmiş gıda maddesinin; içerisinde barındırdığı nem oranı ve hasat zamanındaki hava sıcaklıkları nedeniyle, küflerin, özellikle de aflatoksin yapan küflerin (*Aspergillus flavus*) çoğalabilmesi ve aflatoksin yapabilmesi için ideal bir ortam oluşturmaktadır. Havada ve toprakta her zaman bulunabilen bu küflere ait sporların herhangi bir zamanda gıda maddesinin üzerine bulaşmış olması her zaman mümkündür. Bu bulaşmayı önlemek hemen hemen imkansızdır, bu yüzden esas önemli olan orada bulunan küf sporlarının gelişmesini sağlayan koşulları ortadan kaldırmaktır. Bu durumda, ortamı soğutmak veya

nemliliği kaldırmak; küfün üremesini, dolayısıyla aflatoksin üretmesini engelleyecektir [10].

2.3 Okratoksinler

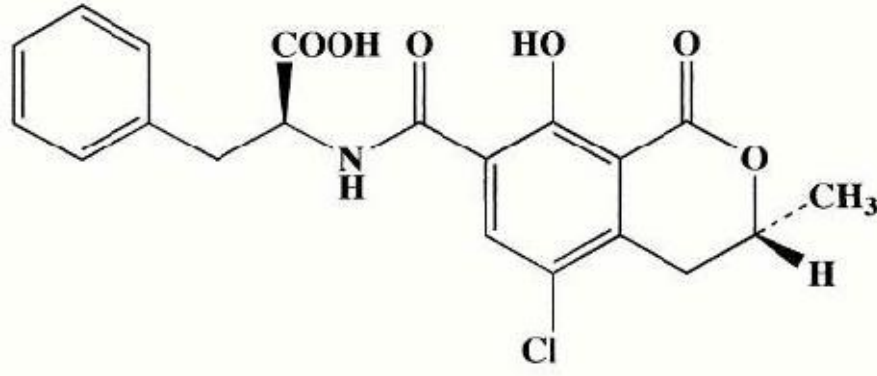
Okratoksinler, *Aspergillus* ve *Penicillium* gibi her yerde bulunabilen küflerin çeşitleri tarafından oluşturulurlar. Bu küfler gıda ve hayvan yemlerinin kontaminasyonu için bir potansiyeldir. *Aspergillus* türleri tarafından oluşturulan okratoksin A yüksek rutubet ve sıcaklık şartlarında sınırlı olarak ortaya çıkar, halbuki bazı *Penicillium* türleri ise en az 5 °C ye kadar düşük sıcaklıklarda bile okratoksin üretebilir [17].

Okratoksin A (OT-A) ve daha az toksik dekloro analogu olan Okratoksin B (OT-B) ilk kez 1965 yılında Güney Afrikalı kimyacılar tarafından tanımlanmış ve D.B. Scott tarafından sorgum tanelerinden izole edilen *Aspergillus Ochraceus* K-804 suşundan izole edilmiştir. İnsanlarda Balkan Endemik Nefropatisi (BEN), domuzlarda Danimarka Böbrek Nefropatisi ve ayrıca kümes hayvanlarındaki önemli bir problemin muhtemel kaynağının OT-A olduğu belirlenmiştir. Özellikle hububatlar, kuru baklagiller, tahıllar, çeşitli hayvan yemleri ve hayvan dokuları başta olmak üzere dünyada pek çok gıdada yaygın olarak saptanan OT-A ile ilgili olarak yapılan çalışmalar son yıllarda artmıştır. Türkiye'de ise OT-A ile ilgili tarama çalışmaları sayıca az olmakla beraber, bu çalışmalarda Türkiye'deki gıda ve yemlerdeki OT-A miktarının göz ardı edilmeyecek kadar yüksek olduğu belirlenmiştir [18]. Tablo 2.2'de Türk Gıda Kodeksinde yer alan bazı yiyeceklerin maksimum Okratoksin A limitleri verilmektedir.

Tablo 2.2: Türk Gıda Kodeksinde yer alan bazı yiyeceklerin maksimum okratoksin A limitleri [13].

GIDA	Maksimum Limit (µg/kg)
İşlenmemiş tahıllar	5
İşlenmemiş tahıldan elde edilen tüm ürünler	3
Kurutulmuş asma meyveleri (kuşüzümü, kuru üzüm)	10
Kavrulmuş kahve çekirdeği ve öğütülmüş kahve	5
Kahve ekstraktı, çözünebilir kahve ekstraktı	10
Şarap ve meyve şarapları (köpüklü şarap/şampanya dahil, likör şarapları ve hacmen alkol miktarı en az % 15 olan şaraplar hariç)	2
Aromatize şarap, aromatize şarap bazlı içki ve kokteyli	2
Üzüm suyu, konsantreden üretilen üzüm suyu, üzüm nektarı, üzüm şırası ve konsantreden üretilen üzüm şırası	2
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0,5
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0,5

Okratoksinler A, B ve C olmak üzere birbirinden kimyasal yapıları biraz farklı olan gruplardan oluşmaktadır. İçlerinde en bol sık bulunan, bu nedenle de en çok tespit edilen, ayrıca en toksik özellik gösteren OTA'dır [19]. Şekil 2.2 de Okratoksin A'nın moleküler yapısı verilmektedir.



Şekil 2.2: Ochratoxin A' nın moleküler yapısı [18].

Ochratoxinler, *Aspergillus* ve *Penicillium* familyalarındaki çeşitli mantarların ikincil metabolitleri olarak üretilen bir mikotoksin grubudur ve isocoumarin türevini içeren zayıf bir organik asit grubudur [19].

OTA renksiz, kristalimsi, polar organik solventlerde yüksek çözünürlüğe sahip, suda az çözünen fakat sulu sodyum hidrojen karbonatlı çözeltilerde çözünebilen bir bileşiktir. Zayıf asidik özellik göstermektedirler [20].

2.4 Gıda Analizlerinde Mikotoksinlerin Ölçüm Teknikleri

Mikotoksinlerin farklı örneklerde tayini amacı ile farklı yöntemler kullanılmıştır. Bunlar arasında İnce Tabaka Kromatografisi, ELISA, LC MS/MS ve HPLC yöntemleri bulunmaktadır. Bu tezin kapsamında mısır unu örneklerindeki aflatoxin ve ochratoxin A analizleri için Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) kullanıldığı için aşağıda bu yöntemle ilgili bilgi verilmiştir.

2.4.1 HPLC

HPLC günümüzde kimya, biyokimya, biyoteknoloji, farmakoloji, tıp kimyası, bitki kimyası, tarım ve kimya mühendisliğini içeren alanlarda ayırma ve analiz için vazgeçilmez bir araç olarak kabul edilmektedir. Bilhassa diğer

kromatografik tekniklere uygun olmayan bileşiklerin ayrılması ve analizi için uygundur [21].

HPLC, sıvı kromatografi bir ayırma tekniğidir. Bir sıvıda çözülmüş ayrılacak bileşenler, bir kolon içerisinde bulunan genellikle katı bir destek üzerindeki sabit faz ile farklı etkileşimlere girerek, kolon içinde değişik hızlarda ilerler. Kolonu değişik zamanlarda terkederler ve böylece birbirlerinden ayrılırlar. Burada taşıyıcı faz olan sıvı, pompalarla kolona basıldığından yüksek akış hızındadır. Bu nedenle ayırma daha kısa sürede ve tam olarak gerçekleşmektedir.

Aflatoksin ve Okratoksin A analizlerinde floresans dedektör kullanıldı. Floresans dedektör, organik maddelerin yaklaşık %15'ı floresans oluşturma yeteneğine sahiptir. Oluşan floresans ölçülmektedir. Kullanılan ışık kaynağı ksenon lamba olup, duyarlılığı UV/VIS dedektöre göre yaklaşık 103 kat fazladır.

HPLC sistemi ile hangi analiz yapılacak ise öncelikle o analiz için gerekli şartlar sağlanır. Analiz yapılacak numuneden, analiz yapılacak bileşenin saf olarak ayrıştırılabilmesi için uygun ekstraksiyon yöntemi bulunur. Daha sonra o analiz için uygun kolon, hareketli faz ve akış hızı seçilmelidir [21].

Bütün bu şartlar yerine getirildikten sonra analiz edilecek maddenin bilinen bir derişimdeki standartı sisteme enjeksiyon edilir. Standart çok saf olduğu için deney sonucunda sadece tek pik gözlenmelidir. Standartın kolondan çıkış süresi (alınma süresi) tespit edilir. Analiz edilecek çözelti sisteme enjekte edildiği zaman elde edilen kromatogramda değişik zamanlarda gelen birden fazla pik olması muhtemeldir. Bu nedenle de standartın alınma süresine denk gelen pik o kromatogramda bizim aradığımız pik olacaktır.

Daha sonra derişimi bilinen standartın verdiği pikin altında kalan alan veya pik yüksekliği (h) hesaplanır. Örnek kromatogramındaki yeri tespit edilen bilinmeyen bileşenin pikinin altında kalan alan veya yükseklik hesaplanır. Sonuçta orantı hesaplaması ile analiz edilen bileşenin derişimi hesaplanır.

2.4.2 HPLC ile Mikotoksinlerin Analizi

Mikotoksinler, insanlarda ve hayvansal organizmalarda sağlığı bozan ve bu nedenle tehlikeli olarak kabul edilen kimyasal bileşikler olduğundan geçmişten günümüze geniş bir yelpazede bir çok gıda numunesinde çalışılmış ve halen araştırılmaya devam edilmektedir.

Bu kapsamda yapılmış çalışmalardan örnekler verilmiştir:

Amerika Birleşik Devletleri'nde 644 mısır rneği aflatoksin yönünden analiz edilmiş ve sonuç olarak örneklerin % 1.6 sında ortalama 300 ppb düzeyinde aflatoksin tespit edilmiştir [22]. Tayland' daki mısırların % 35' inde, Filipinler' deki mısırların % 97 sinde ve Uganda'daki mısırların % 40'ında aflatoksin B1 tespit edilmiştir [23].

1977 yılında yapılan çalışmada toplam 127 adet buğday, arpa, un, yulaf gevreği ve hububat bazlı ocuk gıdasında OTA araştırılmış ve çalışmalar sonucunda örneklerin 84 tanesinde <1 ppb, 24 tanesinde 1-5 ppb, 14 tanesinde 5-20 ppb ve 5 tanesinde ise >20 ppb düzeylerinde OTA bulunduğu bildirilmiştir [24].

1974-1981 yılları arasında Yugoslavya'nın nefropati görülen Orta Posavina ve nefropati görülmeyen Kuzey Posavina bölgesindeki tarlalardan toplanan 1850 mısır ve buğday örneğinde yapılan toksin analizlerinde en fazla kontaminasyonun 1979-1980 yıllarında olduğu, nefropatik bölgeden 1979 yılında alınan örneklerde 0.01-68.9 ppm; 1980 yılında alınanlarda ise 0.01-4.7 ppm arasında OTA saptandığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada nefropatik bölgedeki silolardan alınan buğday ve mısır örneklerinde ortalama OTA miktarının nefropati görülmeyen bölgeden alınan örneklerdeki toksin miktarından daha fazla olduğu ve toksin içeren örneklerin % 25' inin 2-5 ppm, % 12.5' inin 5-20 ppm ve % 7.5' inin ise 7.5 ppm'den fazla OTA içerdiği belirtilmiştir [25].

Yapılan bir başka araştırmada 100 adet buğday, arpa, yulaf ve karışık yem örneklerinde yapılan OTA analizinde örneklerin 54' nde maksimum 1300 ppb olmak üzere toksin saptanmıştır [26].

1990 yılında yem hammaddesi olarak kullanılan 20' si mısır, 9' u soya fasulyesi, 11' i pamuk tohumu küspesi ve 11' i de ayçiçek küspesi olmak üzere toplam 51 örnekte aflatoksin B1, aflatoksin B2, aflatoksin G1, aflatoksin G2 ve OTA varlığını belirlemişlerdir. Çalışma sonunda 1 mısır ve 6 ayçiçek küspesi örneğinde OTA, 1 pamuk tohumu küspesinde aflatoksin saptanmış, OTA miktarının mısırdaki 260 ppb, ayçiçeği küspesinde ise 200-800 ppb arasında ve ortalama 438 ppb olduğu belirlenmiştir [27].

Toplam 108 örneğin analiz edildiği bir başka çalışmada 67 buğday, kepek, yulaf, ev tipi un, 20 makarna, şehriye, bisküvi ve kahvaltılık hububat ve 21 müsli örneği incelenmiştir. Buğday, kepek, yulaf ve un örneklerinin 64'ünde <4 ppb, 1 kepek, 1 bisküvilik un ve ev tipi unda sırasıyla 4.2, 6.4 ve 5.3 ppb OTA saptanmıştır. 21 adet müsli örneğinin ise 5 tanesinde 0.6-1.7 ppb arasında OTA tespit edildiği ve müslinin içeriğinde kullanılan kuru üzüm örneğinin 6.5 ppb OTA içerdiği belirtilmiştir [28].

Bursa Gıda Teknolojisi Araştırma Enstitüsü bünyesinde gerçekleştirilen bir çalışmada fındık ve mamulleri, antep fıstığı, susam ve tahin, mısır ve mamulleri, yer fıstığı ve mamulleri, incir ve kırmızı biber örneklerinden oluşan toplam 1414 gıda örneğindeki OTA analizleri sonucunda toplam 38 örnekte, maksimum OTA miktarları 10-110 ppb arasında saptanmıştır. Gıda örneklerindeki en fazla OTA kontaminasyonu 60 örneğin 20 tanesinde (% 33.3) maksimum 110 ppb olarak saptanan kırmızı biberde belirlenmiştir. Aynı çalışmada 41 mısır ve mamulünde ise OTA saptanmadığı bildirilmiştir [29].

Türkiye ve Yunanistan'tan İngiltere'ye ihraç edilen 1997 yılı ürünü 20 çekirdeksiz kuru üzüm örneğinden 17 tanesinde OTA varlığı tespit edilmiştir. Örneklerden 9 tanesinde 0.2-4 ppb, 4 tanesinde 4-10 ppb ve 4 tanesinde ise 10-18.1 ppb arasında OTA saptandığı belirtilmiştir [30].

Van ilinde açık olarak satışa sunulan kırmızı pul biberlerde aflatoksin B1 varlığını belirlemek amacıyla yapılmış bir çalışmada toplam 40 adet kırmızı pul biber örneği materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler; nem miktarı, su aktivitesinin (a_w) değeri ve aflatoksin B1 yönünden incelenmiş ve yapılan analizler sonucunda, kırmızı pul biber örneklerinde ortalama nem miktarı % 12.85 ± 0.72 , su aktivitesi

(a_w) değeri 0.742 ± 0.006 olarak saptanmıştır. Örneklerin tamamının aflatoksin B₁ ile değişik düzeylerde (1.10-44.00 ppb) kontamine oldukları saptanmıştır [31].

Aşurelik buğday, mısır, mısır unu, yulaf gevreği, yulaf ezmesi, yulaf unu ve müsliden oluşan toplam 100 adet gıda örneğinde okratoksin A taraması yapılmış ve örneklerin fungal yükleri saptanmıştır. Analiz edilen 100 örnekten 1 adet aşurelik buğday, 2 adet mısır ve 1 adet yulaf ezmesi olmak üzere toplam 4 örnekte 0.27-9.84 ppb düzeyleri arasında değişen okratoksin A varlığı saptanmıştır [32].

Van yöresinde çiftçi şartlarında depolanan kaba yemlerde aflatoksin oluşumunu belirlemek için merkeze bağlı köylerden 10 tanesinden kaba yem örnekleri alınmıştır. Kaba yemler Haziran ayında hasat edilmiştir. Haziran, Ekim ve Şubat aylarında 10'ar adet olmak üzere toplam 30 kaba yem örneği toplanmıştır. Toplanan örneklerde rutubet miktarı, toplam küf sayımı, toksijenik küflerin teşhisi ve aflatoksin analizleri yapılmıştır. 30 örnekten yalnızca bir örnekte 7 ppb B₁ ve 6 ppb G₁ düzeyinde aflatoksine rastlanmıştır [33].

Farklı bir yöntem kullanılarak yapılan ancak mısırı konu alan bir diğer çalışmaya da yer verildi. İnce tabaka kromatografi yöntemiyle Slavovski Brod, Osijek, Hrvatsko Zagorje, Istria ve Slovenya'dan 92 buğday ve 51 mısır örneğindeki okratoksin A konsantrasyonunu belirlemek için yapılan bir çalışmadır. Okratoksin A, 92 buğday örneklerinin % 75.8 inde ve 51 mısır örneklerinin % 33.3 ünde tespit edilmiştir [34].

Sao Paulo' da satılan 60 mısır yiyeceği ve mısır ununda aflatoksin ve fumonisin varlığı araştırılmıştır. Her iki ürünün tamamında da aflatoksin varlığına rastlanmamıştır [35].

Macaristan' da, ekim ve kasım 2004' te, ticari satışa sunulan immunoaffinite kolon aşamasından sonra HPLC'ye verilen 91 baharat numunesinde (70 toz kırmızı biber, 6 siyah biber, 5 beyaz biber, 5 baharat karışımı ve 5 kırmızı pul biber örnekleri) aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ ile okratoksin A içerikleri incelenmiştir. 70 toz kırmızı biber örneğinden 17 tanesi aflatoksin B₁ içermektedir, bunlardan 7 tanesi maksimum limitin (5 µg/kg) üstünde bulunmuştur, diğer baharatlardan 1 kırmızı pul biberde limitin üstünde aflatoksin B₁ bulunmuştur. 70 toz kırmızı biber örneğinden 32 tanesine

okratoksin A tespit edilmiştir. Bunların 8 tanesi maksimum limitin (10 µg/kg) üstünde bulunmuştur. 1 kırmızı pul biber örneğinde maksimum limitin altında pul biber bulunmuştur [36].

Yapılan diğer bir araştırmada, Tekirdağ ilinde satışa sunulan toplamda 45 kuru incir örneğindeki aflatoksin miktarları HPLC yöntemi ile incelenmiştir. Örneklerin sadece 4 ünde tespit edilebilir düzeyde aflatoksin belirlenmiş olup, diğer örneklerde tespit edilebilir düzeyde aflatoksin bulunmamıştır. Tespit edilen bu değerler, ilgili Tebliğ'de, incir için belirlenmiş olan maksimum aflatoksin seviyesini aşmamaktadır [37].

Erzurum piyasasında satışa sunulan buğday unu örnekleri ile yapılan çalışmada toplam aflatoksin, AFB1 ve okratoksin A yönünden incelenmiştir. Çalışmada Erzurum yöresinden toplam 50 örnekte toplam aflatoksin, AFB1 ve okratoksin A analizi yapılmıştır. Toksin varlığının belirlenmesinde ELISA tekniği kullanılmıştır. İncelenen toplam 50 buğday unu örneğinin 37 adedinde (%74), AFB1 tespit edilmiştir. Numunelerin 8 tanesinde (%16) ise AFB1 miktarının Türk Gıda Kodeksi' ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptanmıştır. Örneklerin 37 (%74) adedinde toplam aflatoksin belirlenmiş, örneklerin 9 tanesinde (%18) ise toplam aflatoksin miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptanmıştır. İncelenen numunelerin 45 tanesinde (%90) okratoksin A tespit edilmiş, örneklerin 6 (%12.00) adedinde ise okratoksin A miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptanmıştır [38].

Brezilya'da 2003 ve 2004 yılına ait 300 mısır örneklerinde aflatoksin ve fumonisin araştırılmıştır, 2003 yılına ait örneklerin tamamında 2004 yılına ait örneklerinde neredeyse tamamına yakınında fumonisin tespit edilmiş, analiz örneklerinin %92'sinde aflatoksin tespit edilememiştir [39].

Diğer bir çalışmada, Erzurum ili Pasinler ilçe merkezi ve köylerindeki süt sığırcılığı işletmelerinden alınan mısır silajlarının aflatoksin B1 ve bu yemi tüketen hayvanların sütlerinin aflatoksin M1 içeriği ile aflatoksinin yemden süte geçiş durumu araştırılmıştır. İncelenen yem örneklerinde aflatoksin B1 miktarı ortalama 361.12±94.76 ppt ve süt örneklerindeki aflatoksin M1 miktarı ortalama

3.85±3.71 ppt olarak belirlenmiştir. Tüketilen yemdeki aflatoksin B1'in %1.07'sinin süte aflatoksin M1 olarak geçtiği saptandı. Süt numunelerinin 6 adedinde (%8.33) ölçülebilir aflatoksin M1 tespit edilememiştir. 66 örnekte (%91.67) ise Türk Gıda Kodeksi'ne göre kabul edilebilir sınırların altında aflatoksin M1 belirlenmiştir. İncelenen 72 yem örneğinin 3 adedinde (%4.16) aflatoksin B1 saptanmamıştır. Diğer örneklerde ise standartlarda belirtilen sınırın altında aflatoksin B1 saptanmıştır. İncelenen yem örneklerinde saptanan aflatoksin B1 miktarı ile süt örneklerindeki aflatoksin M1 miktarı arasında çok önemli ilişki ($P<0.01$) ve pozitif korelasyon (+0.329) olduğu belirlendi. Süt ve ürünlerindeki aflatoksin M1 miktarının minimum düzeyde tutulabilmesi için, modern üretim teknikleri uygulanmalı, süt hayvanlarına verilen yemlerin depolanma koşulları uygun hale getirilmeli, gerekli kontroller yapılmalı ve süt üreticileri bu konuda bilinçlendirilmelidir. Gıda maddeleri ve yemler her aşamada aflatoksin yönünden analiz edilmeli ve kabul edilen sınırlardan fazla içerenlerin tüketimine izin verilmemelidir. Yem ve besinlerde küf bulaşmasını ve dolayısıyla aflatoksin oluşumunu önlemek için etkili, ekonomik ve uygulanabilir çalışmaların yapılması gereklidir [40].

Bir diğer çalışmada Brezilya' daki marketlerde satılan çikolatalarda aflatoksin B1, B2, G1, G2 ve okratoksin A oluşumu araştırılmıştır. Süt tozundan üretilmiş çikolata, bitter, acı, sütlü ve beyaz olmak üzere 125 adet çikolata mikotoksin açısından incelendi. Tüm örneklerin %98' inde okratoksin A, %80 ninde ise aflatoksin tespit edilmiştir. Ortalama olarak okratoksin A en yüksek seviyede sırasıyla süt tozundan üretilmiş çikolata, acı çikolata ve bitter çikolatada tespit edilmiştir. Aflatoksin içeriği yine en fazla bu çikolatalarda tespit edilmiştir. Bu rapor çikolatada aflatoksin ve okratoksin oluşumu üzerine ilk rapordur [41].

İspanya' da insan tüketimi için satışı sunulmuş 30 adet patlamış mısır çekirdeği ve 30 adet mısır ununda aflatoksin, okratoksin A, zearelenon, sitrinin analizleri yapılmıştır. 4 mısır unu ve 10 patlamış mısır örneğinde okratoksin A tespit edilirken, 14 mısır unu ve patlamış mısır çekirdeğinde aflatoksin tespit edilmiştir. Bu rapor İspanya' da aflatoksin ve okratoksin A ile kirlenmiş ticari patlamış mısır çekirdekleri ve mısır unu örneklerinin ilk raporudur. Çalışılan örneklerdeki mikotoksin oranları ciddi bir sağlık tehlikesi oluşturmaktadır.

Patlamış mısır bir çok ülkede yüksek popülerlikte atıştırılabilir bir yiyecektir, mısır unu da Meksika ve diğer Latin Amerika' daki yemeklerin ön hazırlığında öncelikle kullanılır. Mısır taneleri ve mısır bazlı ürünlerde aflatoksin ve okratoksin A'nın doğal oluşumu dünya genelinde bir problemdir [42].

2011 yılı ocak ayında Sırbistan' ın Vojvodina bölgesinin merkez kenti Novi Sad'deki farklı süpermarketlerden toplanmış 15 buğday unu örneğinde Deoksinivalenol (DON), Zearalenon (ZON) , T-2, Aflatoksin (AFS), okratoksin A (OTA), HT-2 toksin, fumonisin B1 (FB1) yanı sıra B2 (FB2) incelenmiştir. Aflatoksin (AFS), okratoksin A (OTA) tespit sınırlarının altında kalmıştır [43].

Son olarak bahsedeceğim çalışma; Yunan antepfıstığının tüm üretim zincirini takip ve aflatoksin üretimini etkileyen üretim aşamaları, koşulları ve / veya kullanım uygulamalarını belirlemek amacıyla yapılan çalışmaya göre 4 bahçeden 20'şer ağaç izlenmiş ve farklı zamanlarda numuneler alınmıştır. Aflatoksin analizleri için her ağaçtan 5 numune alınmıştır. Numuneler sırasıyla 31 temmuz, 13 ağustos, 20-30 ağustos ve kurutma evresi sonunda alınmıştır. Alındığı ilk tarihte 11-1361 µg/kg aralığında aflatoksin tespit edilmiştir, sonuçlar aflatoksin kontaminasyonu için en kritik basamak olduğunu göstermektedir. Hasat anında bahçelerden birinde 1420 µg/kg aflatoksin konsantrasyonuna ulaştığı görülmüştür. Aflatoksin konsantrasyonunun 1000 µg/kg ın üstünde olması ile böcek istilası arasında pozitif bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Hasat sonrasında 4 bahçedeki ağaçlarda aflatoksin kontaminasyonu tespit edilmiştir, aflatoksin konsantrasyonu, kurutulduğunda 40-1200 µg/kg aralığında, depoda 650-1100 µg/kg aralığındadır. Bu sonuçlar, Antep fıstığındaki aflatoksini azaltmak veya ortadan kaldırmak için depo uygulamaları ve işleme aşamalarını geliştirmeye ve tarladan depoya üretim zincirinde Antep fıstığındaki aflatoksin kontaminasyonunu anlamaya katkıda bulunur [44].

3. AĞIR METALLER

Gıda ürünlerinin ağır metallerle kirlenmesi bugünlerde kaçınılmaz bir sorun haline gelmiştir. Hava, toprak, ve su kirliliği gıda maddesinin kadmiyum, kurşun, civa ve arsenik gibi zararlı maddelerin varlığı ile kirlenmesine katkıda bulunur [45].

Ağır metaller yaygın kullanımları nedeniyle en zararlı çevresel kirleticilerdendir. Kurşun (Pb), civa (Hg) ve kadmiyum (Cd) Toksik Madde ve Hastalık Kayıt Ajansı (Agency for Toxic Substances and Disease Registry: ATSDR)'nin en son 2007'de bildirdiği öncelikli tehlikeli maddeler içerisinde ilk 10'a aldığı toksik ağır metallerdir [46].

Bazı metallerin vücutta belli oranlarda gereksinimleri olmakla beraber metallerin zehirliliği özelliklerine göre değişir. Elementlerin zehirliliği sırasıyla; civa, gümüş, bakır, kadmiyum, çinko, kurşun, krom, nikel ve kobalt şeklindedir. Bu diziliş kesin olmayıp farklılık gösterebilmektedir. Ağır metaller, organizmalara gerekli olsun ya da olmasın yüksek konsantrasyonlarda potansiyel olarak zehirlidir [47].

İnsanların vücutlarında biriken metal iyonlarının vücuttan atılması çok uzun yıllar gerektirmektedir. Bu metal iyonlarının vücutta birikimi toksik etkiye neden olmaktadır. Bu duruma en bilindik örnek Japonya'da görülmüş olan civa zehirlenmesi ile oluşan Minamata hastalığıdır. Bunun nedeni Minamata' da kurulan bir fabrikadan metil-civa bileşiğinin körfeze dökülmesi ile o körfezde bulunan balıkların vücutlarında birikmesi ve o balıklarla beslenen bölge halkının ağır metal olan civa (Hg) zehirlenmesiyle felç ve ölümlere neden olmasıdır.

Aşağıda kurşun, kadmiyum gibi bazı ağır metaller ve insan sağlığına etkileri ile ilgili bilgi verilmektedir.

3.1 Bazı Ağır Metaller ve Etkileri

3.1.1 Kurşun

Kurşun, Dünya'nın birçok yerinde sağlık problemlerine ve kapsamlı çevre kirliliğine sebep olmuş kullanımı yaygın toksik bir metaldir [48].

Kurşunun vücutta toksik etki yaratması için kanda veya yumuşak dokularda belli bir düzeye kadar birikmesi gerekir. Yaş, beslenme ve fizyolojik durumlar gibi birçok faktöre bağlı olarak etkisi değişmektedir. Çocuklar için 40-80 µg Pb/ 100 mL toksik belirtilerin görülebileceği sınırdır. 80 µg Pb/ 100 mL ise kurşun zehirlenmelerinin görüldüğü düzeydir. Saçlar, kemikler ve dişlerdeki kurşun miktarı muhtemel kurşun zehirlenmeleri hakkında bilgi vermektedir [49]. Tablo 3.1' de Türk Gıda Kodeksinde yer alan tahılların maksimum kurşun limitleri verilmektedir.

Tablo 3.1: Türk Gıda Kodeksinde yer alan tahılların maksimum Pb ve Cd limitleri [13].

GIDA	Maksimum limit
	(mg/kg yaş ağırlık)
KURŞUN (Pb)	
<i>Baklagil sebzeleri , tahıllar ve baklagiller</i>	0,2
KADMİYUM (Cd)	
<i>Tahıllar</i>	0,1

3.1.2 Kadmiyum

Yeryüzünde nadir olarak bulunan kadmiyum; çinko benzeri bir geçiş elementi olup, yumuşak ve gümüş beyazı rengindedir. Doğada 0 ve +2 değerlikli olmak üzere iki yükseltgenme basamağında bulunabilmesine karşın metalik hali

oldukça nadir görülür. Kadmiyum oksit, kadmiyum klorid, kadmiyum sülfat ve sülfid şekillerinde bulunabilen, tadı ve kokusu olmayan bir maddedir.

Kadmiyum havadan solunarak, kadmiyum bulaşmış yiyeceklerin yenmesiyle, sigara dumanından, kadmiyumla kirlenmiş suların içilmesiyle vücuda alınabilir [50].

Yüksek düzeyde kadmiyumun solunması akciğer hasarına bağlı olarak ölüme neden olabilir. Çok yüksek düzeyde kadmiyumun yiyeceklerle alınması kusma ve ishale neden olur. Hava, su ya da besinler yoluyla düşük düzeyde kadmiyuma uzun süre maruziyet sonucunda kadmiyum böbreklerde birikir ve böbrek hastalıklarına neden olabilir. Akciğerde hasar ve kemiklerin kırılabilirliğinin artması diğer etkileridir. Hayvan deneylerinde kadmiyumun tansiyon yükselmesine, kandaki demir düzeyinin düşmesine, karaciğer hastalıklarına, sinir sistemi ve beyinde hastalıklara neden olduğu gösterilmiştir [50]. Tablo 3.1’ de Türk Gıda Kodeksi’ nde yer alan tahılların maksimum kadmiyum limitleri verilmektedir.

3.1.3 Civa

Civa, yer kabuğunda bulunan temel elementlerden biridir. Parlak, gümüş beyazı renkte, kokusuz bir sıvıdır. Isıtıldığında kokusuz bir gaz halini alır. İnorganik tuzları oluşturmak üzere klor, sülfür ve oksijenle bileşik oluşturabilir.

Civa, gıdalarda doğal olarak bulunmaz. Tarlalardaki çevresel kirlenmeden dolayı et önemli miktarda civa ihtiva edebilir. Bitkisel ürünlerde civa bulunmaz, fakat tarımsal uygulamalar esnasında civa içeren spreylere kullanılmasıyla sebzelerden ve diğer ürünlerden insan vücuduna taşınabilir [51].

Civanın insanlar üzerinde birçok olumsuz etkisi vardır. Sinir sistemi bozukluklarına sebep olur, beyin fonksiyonlarına zarar verir, DNA ve kromozomlara zarar verir, alerjik reaksiyonlara, deri isiliklerine, yorgunluğa ve baş ağrısına yol açar, üreme ile ilgili negatif etkileri vardır, spermelere zarar vermek, sakat doğumlar ve düşük doğum gibi [51].

Sinir sistemi civanın tüm formlarına karşı çok duyarlıdır. Yüksek miktarlarda maruziyet beyinde, böbreklerde ve fetus gelişiminde kalıcı zararlara neden olabilir. Beyin fonksiyonlarına yapacağı etkiyle iritabilite, ürkeklik, titreme, görme ve duyma kusurları ve bellekte zayıflama ortaya çıkabilir. Kısa süreli ve yüksek düzeyde maruziyet durumunda akciğer hasarı, bulantı, kusma, ishal, tansiyon yüksekliği, deri döküntüleri ve gözde iritasyon meydana gelebilir [50].

Civanın hayvan deneylerinde kansere neden olduğu gösterilmiştir. İnsanda olası kanserojenler arasında sınıflandırılmaktadır.

Yeni doğan ve fetusta, civa, beyin gelişiminde gerilik, zeka geriliği, körlük, ve konuşamamaya neden olabilir. Çocukta sinir ve sindirim sistemleriyle böbrekler etkilenir [50].

3.1.4 Arsenik

Arsenik azot ailesinden metalloid özellik gösteren bir elementtir. Gri ve sarı kristaller halinde iki ayrı biçimde bulunan ve bileşikleri İ.Ö. 4.y.y. dan beri bilinen arsenik, element olarak ancak 17.y.y.' da tanımlanabilmiştir. Yazılı belgelere göre arseniği ilk kez serbest element halinde tanımlayan, 1649 da oksidini taş kömürü ile ısıtarak arsenik elde etmiş olan Alman Eczacı Johann Schroeder'dir. Arsenik, bakır, kurşun gibi metallerin eritilmesi ile yan ürün olarak da oluşabilmektedir [52].

Tarımda kullanılan ve arsenik içeren kimi pestisitlerin kullanımı son yıllarda yasaklanmış olmakla birlikte, gıda maddelerinin arsenik ile kontaminasyonunda önemli etkenlerdir. Arsenik ile kontamine süttten zehirlenen bebeklerde, karaciğer büyümesi ve kansızlık belirtileri, bazılarında deride kahve renkli pigmentler, tırnaklarda çizgiler ve anormal elektrokardiyogram saptanmıştır. Sudan zehirlenen yetişkinlerde deri dökülmesi, deride nasır şeklinde kalınlaşma, idrarda protein ve reflekslerde yavaşlama görülmüştür. Bira zehirlenmelerinde, acı veren sinirsel krizler, kas zayıflığı, kol ve bacaklarda uyuşma, iştah kaybı, karaciğer rahatsızlığı, deride kahve renkli pigmentler ve deri altında aşırı derecede sıvı toplanması gözlenmiştir. Kemik ve solunum sistemi kanseri de görülebilir [53].

3.1.5 Krom

3 ana şekilde (Krom 0, Krom III, Krom IV) bulunabilen krom bileşikleri tatsız ve kokusuzdur. Sadece Krom III bileşikleri vücut için diyetle eser miktarlarda alınması gerekli elementlerdir. Diğer formlardaki kroma vücudun ihtiyacı yoktur [50].

Krom partikülleri havaya karıştığında 10 gün kadar kalabilir. Toprak partiküllerine sıkıca yapışır. Suda dibe çöker, topraktan küçük miktarlarda sulara karışabilir. Havadan solunarak, suyla ve besinlerle vücuda alınabilir.

Günlük krom ihtiyacı 0.1 – 0.2 mg kadardır. Krom eksikliği, huzursuzluk, halsizlik ve yorgunluğa neden olur. Kalp ve damar sağlığını olumsuz etkileyerek damar sertliği ve şeker hastalığı riskini artırır. Krom eksikliği olanlarda sürekli açlık hissi ve yeme isteği, tatlılara düşkünlük görülür. Krom eksikliği iştahı kontrol etmeyi engellemesinin yanı sıra vücudun yağlanmasına da neden olmaktadır.

Krom bileşiklerinin tümü yüksek miktarlarda alındığında toksik olabilir, ancak Krom IV, Krom III'e göre daha toksiktir. Yüksek miktarlarda solunması burun, akciğer, mide ve bağırsaklara zarar verebilir. Kroma allerjisi olan kişilerde astım krizlerine neden olabilir. Uzun süre yüksek ve orta düzeylerde maruziyet burun kanaması, yaraları, akciğer hasarı ve kanser dışındaki akciğer hastalıklarında artışa neden olabilir. Sindirim yoluyla yüksek düzeylerde alınırsa mide şikayetleri ve ülser, konvülsiyonlara, böbrek ve karaciğer hastalıklarına, hatta ölüme neden olabilir. Cilde temas durumunda cilt ülserleri oluşabilir. Ayrıca ciltte allerjik reaksiyonlara yol açabilir [50].

3.1.6 Bakır

Bakır çok yaygın bir maddedir ve doğada doğal olarak bulunur. Bir çok gıdada, içme suyunda ve havada bulunabilir. Bu yüzden her gün yiyerek, içerek ve soluyarak önemli bir miktar bakırı vücudumuza alırız. Bakırın absorpsiyonu gereklidir, çünkü bakır insan sağlığı için gerekli olan bir eser elementtir.

İnsanların yüksek konsantrasyonlarda bakırı orantılı olarak idare edebilmelerine rağmen, çok fazla bakır önemli sağlık problemlerine yol açabilir.

Çoğu bakır bileşiği su tortusuna ya da toprak parçacıklarına yerleşip bağlanır. Çözünür bakır bileşikleri insan sağlığı için en büyük tehdidi oluşturmaktadır. Genellikle doğada suda çözünür bakır bileşikleri tarım uygulamalarında kullanımı sonucu ortaya çıkmaktadır.

Yetişkinlerde günlük bakır ihtiyacını ortalama 2,5 mg kadardır. Bakırın aşırı dozda alınması, vücutta bakır fazlalığı oluşmasına neden olur ki bakır fazlalığı, kanser riskini büyük oranda arttırmasının yanı sıra depresyon, şizofreni, bunaklık, hipertansiyon gibi ciddi zihinsel ve bedensel rahatsızlıklara yol açabilmektedir. Bakırın yeterince alınmaması durumunca kansızlık görülür. Bakır eksikliği, vücut direncinin azalmasına, güçsüzlük, deride yara ve egzama gibi sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Ayrıca, saç dökülmesi, iştahsızlık, ishal ve çarpıntı meydana gelebilir. Bağışıklık sistemi zayıflar. Kemikler ve dokuların yapısı olumsuz etkilenir. Bakır, vücut tarafından zor absorbe edilen bir maddedir. İnsan vücudu besinlerdeki bakırın ancak %5 kadarını emebilmektedir. Bakır eksikliği, bakır açısından yetersiz beslenme, bakırın vücut tarafından yeterince emilememesi ya da fazla çinko alımı gibi nedenlerden kaynaklanabilmektedir [54].

Bakıra uzun süreli maruz kalma burun, ağız ve göz tahrişine ve baş ağrılarına, karın ağrılarına, baş dönmesine, kusmaya ve ishale neden olmaktadır. Bakırın kasten yüksek miktarda alımı karaciğer ve bakır hasarlarına ve hatta ölüme bile neden olabilir. Bakırın kanserojen olup olmadığı da henüz saptanmamıştır [55].

3.1.7 Çinko

Çinko, sık altıgen düzende kristal yapıya sahip, mavimsi beyaz renkli bir metaldir.

Çinko metali ve birçok bileşiği, diğer ağır metallerle karşılaştırıldığında düşük zehirlilik etkisi gösterirler. Çinko tuzlarının toksikliği, çinkodan daha fazla olup yapısında bulunduğu bileşiğin anyonik kısmının toksikliğine bağlıdır.

Örneğin; çinko kromatın ($ZnCrO_4$) yüksek zehirleyici ve kanserojen özelliği $Zn(II)$ yüzünden değil anyonik CrO_4^{2-} bileşeni sebebiyledir. Çinko ve çinko tuzlarından zehirlenme nadir görülmektedir [56].

Erişkin bir insanda günlük Zn ihtiyacı 15 mg kadardır. Zn en fazla böbrek, karaciğer dokularında birikir. Zn'un fazla alınması durumunda iştah ve bağışıklık sistemi aktivitesinde azalma, yaraların geç iyileşmesi, kolesterolün yükselmesi ve deride hassasiyet gibi olumsuzluklar görülür. Eksikliğinde ise hamile kadınlarda bebeklerin gelişimi yavaşlar, gençlerde büyüme olumsuz etkilenir ve bağışıklık sistemi zayıflar [57].

3.2 Mikrodalga Yöntemi ile Materyal Çözünürleştirme

Mikrodalga, enerji spektrumunda Kızılötesi Işıma (IR) ile radyo dalgalarının arasında kalan bölgedir. Mikrodalga tekniği ile numune çözünürleştirme ilk defa 1975'de Abu Sarma ve arkadaşları tarafından biyolojik materyalleri asitlerle hızlı çözünürleştirmek amacı ile kullanıldı. Mikrodalga ısıtma mekanizması hedef kütledeki bütün molekülleri aynı anda etkileyerek klasik tekniklerin konveksiyon ısıtmasına göre çok daha kısa sürede işlemi tamamlamaktadır. Çünkü klasik ısıtma teknikleri bir kütle için dıştan içe doğru tabaka tabaka ısıtırken, mikro dalga yöntemi bir kütle için her yerini aynı anda ısıtır ve zamandan tasarruf sağlar.

Mikro dalga ısınması dıştan olduğu gibi içten de olduğundan, enerji moleküller çarpışmadan ziyade polarizasyon yolu ile transfer olur. İç ısınma numuneyi mekanik olarak uyarır ve numunenin dış tabakalarını bozar, böylece asit ile numune arasında daha iyi bir temas sağlanır. Son yıllarda önem kazanan bu aletlerin en önemli kısmı çözünürleştirme tüpleridir.

Günümüzde açık (Atmosferik basınç) tüplerde ve kapalı (Yüksek basınç) tüplerde olmak üzere iki tür mikro dalga çözünürleştirme tekniği kullanılmaktadır. Kapalı tüplerde mikrodalga ile çözünürleştirme tekniklerinin başarılı bir şekilde yapılması, tüpün içerisindeki numunenin asitle parçalanma reaksiyonunun ve reaksiyondan kaynaklanan sıcaklık ve basıncın da belirlenmesi ile olur. Numunenin parçalanması esnasında çözünürleştirme kabındaki

gerçek basınç, kabın cinsine, kullanılan asidin türüne, miktarına, asidin sıcaklığına, çözünürleştirilen numunenin boyutuna ve bileşimine bağlıdır. Mikrodalga ile çözünürleştirmenin zamandan tasarruf, tekrarlanabilirlik, minimum enerji ve kimyasal madde sarfiyat, uçucu bileşiklerin ortamda tutulması ve çevresel kirlenmelere neden olmaması gibi avantajları bulunmaktadır [58].

3.3 Ağır Metallerin Analizinde Kullanılan Spektroskopi Teknikleri

Ağır metallerin farklı örneklerde tayini amacı ile farklı yöntemler kullanılmıştır. Bunlar arasında UV-Görünür Bölge Spektrometresi, Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi (FAAS), İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES), İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS), Voltametri, Moleküler Floresans Spektrometresi bulunmaktadır. Bu tezin kapsamında mısır unu örneklerinin yaş yakma sonucunda elde edilen çözeltilerindeki ağır metallerin tayini amacı ile ICP- Kütle Spektroskopisi (ICP-MS) kullanıldığı için aşağıda bu yöntemle ilgili bilgi verilmiştir.

3.3.1 İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP)

Kasyon ve elektronlardan meydana gelen ve elektrik akımını ileten ortama plazma denir. Gaz halindeki iyon akımı olarak tanımlanabilir. Plazmanın dışarıya yükü sıfırdır. Yani negatif yüklerin toplamı yaklaşık pozitif yüklerin toplamına eşittir. Plazmadaki katyonlar farklı katyonlardan meydana gelir. Örneğin argon plazmasında, argon katyonları, elektronlar ve analiz yapılan numuneden buharlaşan atomların katyonları bulunmaktadır. Numuneden buharlaşan atomların katyonları miktar olarak argon katyonları ve elektronlardan azdır. Bir plazmada argon iyonları oluştuktan sonra bu iyonlar, daha fazla iyonlaşma ile plazma halinin sürdürülmesini sağlayacak bir düzeyde sıcaklık oluşturmak için bir dış kaynaktan yeterli güç absorplama yeteneğine sahiptir. Yani argon katyonları enerji absorplayarak ortamın sıcaklığı yaklaşık 10000 K' de sabit olarak tutulur [59].

Üç tip yüksek sıcaklık plazması vardır. Bunlar;

- 1) İndüktif eşleşmiş plazma (ICP)
- 2) Doğru akım plazması (DCP)
- 3) Mikrodalga plazma (MIP)

İndüktif eşleşmiş plazma kaynağı iç içe geçmiş üç kuvars borudan (torch) yapılmıştır. Bunların arasından dakikada 10-17 mL argon gazı geçer. En geniş borunun çapı 2.5 cm dir. Bu borunun üst kısmında suyla soğutulan radyo indüksiyon bobini bulunur. Radyo indüksiyon jenaratörünün gücü 27 veya 41 Mhz de 0.5-2 kw tır. Akan argonun iyonlaşması bir Tesla bobininden kıvılcım ile başlatılır. Oluşan iyon ve elektronlar indüksiyon bobini tarafından oluşturulan manyetik alan salınımları ile etkileşir. Bu etkileşim sonucunda iyonlar ve elektronlar aynı yöne doğru akmaya başlar. Ortamın bu akmaya karşı gösterdiği direnç ile ortamın sıcaklığı 10000 K' e kadar yükselir.

En içteki kuvarz borudan geçen argon gazı akışıyla plazma içerisinde numune taşınır. Numune cihaza 3 şekilde ilave edilebilir.

- 1) Aerosol halinde: Ultrasonik bir sisleştirici vasıtasıyla oluşan çok küçük damlacıklar argon gazı yardımıyla plazmaya taşınır.
- 2) Buhar halinde: Plazmaya sıvı ve katı numuneleri vermek için elektrotermal buharlaştırıcılar kullanılır.
- 3) İnce toz halinde: Nebulizer yerine lazer kullanılır.

Numune atomları taşıyıcı argon gazı sayesinde 4000-8000 K sıcaklığındaki bölgeye ulaşır. Burada 2 ms kalırlar. Bu sıcaklıkta atomlaşma olur. Sıcaklığın bu kadar yüksek olması sonucunda diğer yöntemlerde karşılaşılan kimyasal girişim sorunu ile daha az karşılaşırken iyonlaşma girişimi yok denecek kadar az olur. Plazma sıcaklığı her bölgede aynıdır ve bu nedenle self absorpsiyon ve self dönüşüm etkileriyle karşılaşılmaz [59].

3.3.2 İç Standart

Bir iç standart, bilinmeyen örneğe ilave edilen ve analitten farklı olan, miktarı bilinen bileşiktir. İç standartlar çeşitli rastgele ve sistematik hataları dengeler.

İç standart, girişim sonucu oluşabilecek yanılıgıları minimuma indirmeyi amaçlar. Çözelti ve standartların aynı ortamı içermesi sebebiyle de analizlerin doğruluğu yüksektir.

Bir iç standart, örnek, şahit ve kalibrasyon standartlarına aynı miktarda ilave edilen bir maddedir. Standartlardan alınan ölçme sonuçları, 'analit sinyali / iç standart sinyali' değerleri standartlardaki analit konsantrasyonlarına göre grafiğe alınır. Örnek için elde edilen 'analit sinyali/ iç standart sinyali oranından kalibrasyon eğrisi kullanılarak analitin konsantrasyonu bulunur.

Analit sinyalinin iç standart sinyaline oranı analitik parametre olarak kullanılır. Yöntemin başarılı olabilmesi için iç standart sinyalinin örnekteki diğer maddelerin piklerinden uzakta, analit pikinin yakınında olması tercih edilir. Uygun bir iç standart kullanıldığında bağıl hata % 0,5-1 civarındadır [60].

3.3.3 ICP- Kütle Spektroskopisi (ICP- MS)

Analitik bir cihaz olarak ICP-MS iki üniteden oluşmaktadır:

- 1) İndüktif olarak eşleştirilmiş plazma(ICP)
- 2) Kütle spektrometresi(MS)

ICP – MS (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer) cihazı katı ve sıvı örneklerde olmak üzere son derece hızlı ve hassas olarak ölçüm yapılmasını sağlayan bir analiz tekniğidir. Analiz edilmek istenen örnekteki elementler ICP de iyonlaştırıldıktan sonra kütle spektroskopisine gönderilirler ve burada kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılarak ölçülürler.

ICP-MS direkt olarak çözültide iz element derişimlerinin belirlenmesinde uygundur. Birçok element için gözlenebilme sınırı ng/L'nin (ppb ve daha düşük derişimler) altındadır. Çok sayıda elementi aynı anda analiz edebilme özelliği

sayesinde nitel analizlerde ve izotop oranlarının belirlenmesinde olduğu gibi, başta metalik elementler olmak üzere periyodik tablodaki elementlerin büyük çoğunluğunun nicel ve yarı-nitel tayinlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. ICP-MS'in çalışma aralığı diğer yöntemlere oranla oldukça geniştir.

Oldukça farklı disiplinlerde kullanım alanı bulunan ICP-MS başlıca, jeoloji, hidrojeoloji, çevre, tıp, biyoloji, kimya, petrokimya, metalürji ve gıda mühendisliği alanlarında kullanılmaktadır. Diğer kullanım alanları ise; silah sanayisi (mermi atıkları, madde karakterizasyonu, zehirler), gıda çevre (içme suyu, deniz suyu, atık su, katı atıklar, toprak, çamur), klinik (kan, saç, idrar) [61].



Şekil 3.1: ICP-MS kullanım alanları [61].

3.3.3.1 ICP- Kütle Spektroskopisi (ICP- MS) ile Gıda Örneklerinde Yapılan Ağır Metal Analizleri

Hindistan' da Batı Wengel bölgesinden alınan su ve gıda örneklerinde arsenik, bakır, nikel, mangan, çinko ve selenyum konsantrasyonu araştırılmıştır. Her bir gıda örneği önemli bir miktarda arsenik içerir. Jalangi ve Domkal'da gıda kategorilerindeki arsenik düzeyleri sebze (20.9 ve 21.2mg/kg), tahıllar ve fırın ürünleri (130 ve 179 mg/kg) ve baharatlar (133 ve 202 mg/kg) şeklindedir. Bakır, nikel ve mangan değerleri yüksek, çinko değeri düşük, selenyum değeri hafifçe yüksek bulunmuştur [62].

Bangladeş' in Samta bölgesinde çeşitli gıdalar üzerinde ICP-AES ve ICP-MS ile As,Cd, Pb, Cu ve Zn analizleri yapılmıştır. İri, etli sebze materyallerinde As miktarlarının düşük olduğu görölmüştür. Genel olarak, bazı sebzelerde Pb nin Cd a göre daha yüksek konsantrasyonda ağır metal biriktirme potansiyelinin olduğu görölmüştür [63].

Güney Afrika' da 24 adet çiğ inek sütündeki V, Cr, Mn, Sr, Cd ve Pb analizleri ICP-MS ile analizleri yapılmıştır. 8 farklı çiftlikten alınan 3 er numunede yapılan analizler kemometrik olarak değerlendirilmiştir [64].

Polonya' da 16 bölgeden alınan 3 farklı türe ait 140 adet bal örneği ICP-MS ile analiz edilmiş, Al, B, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr, ve Zn elementleri incelenmiştir. Bal örneklerini sınıflandırmak ve elementler arasındaki ilişkiyi anlamak için kemometrik değerlendirmelere tabi tutulmuştur [65].

Almanya' da süt ve yem örneklerinde ICP-MS ile 40 element araştırılmıştır. 2 farklı çiftlikten iki farklı yem ile beslenen ineklerden alınan taze sütlerde yapılan araştırmalarda Li, P,Mn, Co, Cu, Rb, Sr, Br, I elementlerinin farklılık gösterdiği gözlenmiştir [66].

Brezilya' da meyve sularında basit ve hızlı bir yöntem olan ICP-MS cihazında Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Rb, Sr, V, Zn elementleri analiz edilmiştir. 20 meyve suyu örneğinde yapılan element analizlerinde bulunan sonuçlar bitkinin yetiştiği toprak özellikleri, su ve katkı maddeleri gibi farklı etkenlere göre değişiklik göstermektedir. Bulunan sonuçlar kemometrik değerlendirmelere tabi tutulmuştur [67].

İspanya' da yemeklik yağlar (zeytinyağı, zeytin, prina, ayçiçeği, soya ve mısır) Ag, As, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Ti, Tl ve V ICP-MS cihazıyla analiz edilmiştir. Çeşitli yağ örneklerinde yapılan bu elementlerin analiz sonuçlarında ürünler arasında %10 dan daha az farklılık gözlenmiştir ve bazı kemometrik değerlendirmeler yapılmıştır [68].

Brezilya' da ICP OES ve ICP MS ile Khaki, Cherry and Italy olmak üzere üç domates türü örneklerinde Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Se, Sn, Sr, V ve Zn elementleri araştırılmış, üç türdede olgunlaşmış domateslerde

elementlerin konsantrasyonunun yüksek olduğu görülmüştür. Organik domateslerin olgunlaşmış diğer domateslere oranla besleyici içeriklerinin fazla olduğu, metal kontaminasyonunun daha az olduğu görülmüştür [69].

İspanya' da soya ve günlük yoğurtlarda 20 element içeriği mikrodalga yakma sisteminde çözünürleştirilerek ICP-MS ile analiz edilmiştir. Günlük alınması gereken değerlerin altında kalan besleyici değerlerin ve toksik etki yaratan alınması gerekenden fazla bulunan elementlerin araştırması yapılmıştır. Soya ürünlerinde Cu ve Mn miktarlarının çok daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu görülmüş, Fe ve Zn içeriğinde küçük farklılıklar gözlenmiştir. Bu çalışmada yüksek konsantrasyonda bulunan bir diğer elementte Ni olmuştur. Bunların yanı sıra toksik elementlerin çok düşük düzeyde ve bazı durumlarda dedeksiyon limitinin altında kaldığı görülmüştür [70].

4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

4.1 Korelasyon Analizi

Korelasyon analizi, iki değişken arasındaki doğrusal ilişkiyi veya bir değişkenin iki veya daha fazla değişken ile olan ilişkisini test etmek, varsa bu ilişkinin derecesini ölçmek için kullanılan istatistiksel bir yöntemdir [71].

Korelasyon analizinde amaç, bağımsız değişken (X) değiştğinde bağımlı değişkenin(Y) ne yönde değişeceğini görmektir [71].

Korelasyon analizi yapabilmek için her iki değişkenin de sürekli olmaları ve normal dağılım göstermeleri gerekmektedir [71].

Korelasyon analizi sonucunda, doğrusal ilişki olup olmadığı ve varsa bu ilişkinin derecesi korelasyon katsayısı ile hesaplanır. Korelasyon katsayısı “r” ile gösterilir ve -1 ile +1 arasında değerler alır [71]. Sıfıra yakın değerler iki değişken arasında doğrusal ve zayıf ilişkinin olduğunu, ± 1 'e yakın değerler ise iki değişken arasında doğrusal ve güçlü bir ilişkinin olduğunu gösterir. Bununla birlikte negatif değerler ilişkinin ters yönlü olduğunu, pozitif değerler ise ilişkinin aynı yönlü olduğunu gösterir. Korelasyon katsayısı değişkenler arasındaki nedensel ilişkiyi vermez. Yani hangi değişkenin neden, hangisinin sonuç niteliğinde olduğunu belirtmez. Sadece değişkenlerin birlikte değişiminin ölçümüdür [72].

4.2 Faktör Analizi

Faktör analizi değişkenler arasındaki karşılıklı ilişkileri inceleyerek, değişkenlerin daha anlamlı ve özet bir şekilde sunulmasını sağlar. Değişken grupları arasındaki ilişkilerin altında yatan birlikteliğin ortak örüntülerinin hangi faktörler içinde tanımlanacağı ilişkileri basit anlamda ortaya koyar. Diğer bir

ifade ile, analiz veri grubunda yer alan değişkenler arasındaki ilişkilerin altında yatan ortak özellikleri kurmaya çalışır. Bununla birlikte analiz boyut indirgeme ve bağımlılık yapısını yok etme yöntemi olarak da tanımlanır [72].

Faktör analizinde, ele alınan değişkenlerin bağımlı ve bağımsız değişken şeklinde tanımlanamaması, her bir değişkenin normal bölünmeye sahip olduğu, gözlemlerin birbirinden bağımsız olduğu ve değişkenler arasındaki ilişkinin doğrusal olduğu varsayılır.

Faktör analizinde ilk aşama gözlenen değişken değerlerin değerleri arasında korelasyonların hesaplanarak orijinal değişkenlerin bir korelasyon matrisi haline getirilmesidir. Korelasyon matrisinden faktörlerin türetilerek döndürülmemiş faktör matrisinin elde edilmesi analizin ikinci aşamasını oluşturur. Bu aşamada, herhangi bir veri grubuna faktör analizinin uygulanması için faktör türetme tekniklerinden birinin ele alınması gerekir. Çeşitli faktör türetme teknikleri vardır, fakat en yaygın kullanılanı temel bileşen analiz tekniğidir. Analizin üçüncü aşaması, döndürme yöntemlerinden birinin kullanılarak döndürülmüş faktör matrisinin elde edilmesidir. Dik ve eğik olmak üzere iki farklı döndürme yöntemi, bunlar içinde çeşitli teknikler mevcuttur. Döndürülmüş faktör matrisinin yorumlanması ise analizin son aşamasını oluşturur [72].

Faktör analizinde optimal faktör sayısının bulunmasına karar vermede çeşitli yaklaşımlar söz konusudur. En çok kullanılanı özdeğeri birden büyük olan faktörlerin alınmasıdır.

5. MATERYAL

5.1 Mısır unu

Çalışmada ülkemizin farklı şehir ve köylerinden temin edilen 18 adet, yurtdışından temin edilen 3 adet mısır unu örnekleri ile araştırmalar yapıldı. Afyon, Balıkesir (Balıklı, İvrindi, Savaştepe), Bursa, Erzurum, Gaziantep, Giresun, İzmir, Kırklareli, Rize, Sakarya, Samsun, Tekirdağ, Trabzon, Zonguldak illerinden 18 adet mısır unu temin edildi. Yurtdışından İngiltere’ den 3 adet mısır unu temin edildi.

5.2 Aflatoksin

5.2.1 Kimyasal maddeler

Aflatoksin analizinde kullanılan kimyasal maddeler Tablo 5.1’ de verilmiştir.

Tablo 5.1: Aflatoksin analizinde kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal adı	Formülü	Markası
Sodyum klorür	NaCl	Merck
Potasyum Bromid	KBr	Merck
Asetonitril	CH ₃ CN (HPLC Grade)	Merck
Metanol	CH ₃ OH (HPLC Grade)	Merck
Metanol	CH ₃ OH (Analitik saflıkta)	Tekkim
Nitrik Asit	HNO ₃ (%65, d=1,38 g/mL)	Merck

5.2.2 Aflatoksin analizi için gerekli çözeltilerin hazırlanışı

Ekstraksiyon çözeltilisinin hazırlanışı: 70 mL metanole (analitik saflıkta) 30 mL ultra saf su karıştırılarak hazırlandı.

Hareketli (mobil) faz 600 mL ultra saf su, 200 mL asetonitril ve 300 mL metanol (HPLC saflıkta)ün karıştırılması ile hazırlandı. Mobil fazın içine, 132 mg potasyum bromür ve 110 µL derişik nitrik asit ilave edilerek karıştırıldı, kullanılmadan önce degaze edildi.

Seyreltme çözeltilisi, 50 mL metanole (HPLC saflıkta) 50 mL ultra saf su karıştırılarak hazırlandı.

5.2.3 Aflatoksin analizinde kullanılan alet ve ekipmanlar

Tartımlar için Kern marka 0,1 mg hassasiyette hassas terazi, Blender olarak Waring marka blender, Ultra saf su için Millipore Direct Q3 UV su arıtma cihazı mobil fazın degaze edilmesi için Kudos marka ultrasonik su banyosu kullanıldı. Whatman No:4 filtre kağıdı ve otomatik pipet olarak Axygen marka pipetler kullanıldı.

5.2.4 Aflatoksin Standardı ve Immunoaffinite Kolonu

Araştırmada 1000 ng/mL (R-Biopharm Rhone Ltd, Glasgow, UK) toplam aflatoksin içeren standart kullanıldı. Standart 1:1:1:1 oranında B1: B2: G1: G2 aflatoksinlerini içermektedir. Aflatoksin B1, B2, G1, G2' ye spesifik olan antikoları içeren immunoaffinite kolonları (Aflaprep) kullanıldı. Standart ve immunoaffinite kolonlar 2-8 °C buzdolabında muhafaza edildi.

5.3 Okratoksin

5.3.1 Kimyasal maddeler

Okratoksin analizinde kullanılan kimyasal maddeler Tablo 5.2' de verilmiştir.

Tablo 5.2: Okratoksin analizinde kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal adı	Formülü	Markası
PBS(Fosfat Tampon Çözeltisi)	NaCl : KCl: Na ₂ HPO ₄ : KH ₂ PO ₄ 8,0 : 0,2 : 1,15 : 0,2	Oxoid
Sodyum bikarbonat	NaHCO ₃	Sigma Aldrich
Asetonitril	CH ₃ CN (HPLC saflıkta)	Merck
Glasiyel asetik asit	CH ₃ COOH (%100)	Merck
Metanol	CH ₃ OH (HPLC saflıkta)	Tekkim

5.3.2 Okratoksin için gerekli çözeltilerin hazırlanışı

PBS çözeltisi: 1 tablet PBS 100 mL suyun içerisinde çözündürülerek hazırlandı.

%1 Sodyum bikarbonat: 1 gr sodyum bikarbonat 100 mL ye saf su ile tamamlanarak hazırlandı.

Hareketli (mobil) faz 510 mL asetonitril, 470 mL ultra saf su ve 20 mL asetik asit karıştırılarak hazırlandı, kullanılmadan önce degaze edildi.

Seyreltme çözeltisi, 2:98 oranında asetik asit ve metanol karıştırılarak hazırlandı.

5.3.3 Okratoksin analizinde kullanılan alet ve ekipmanlar

Bölüm 4.2.3’de aflatoksin analizlerinde kullanılan alet ve ekipmanlar okratoksin A analizlerinde de kullanılmıştır.

5.3.4 Okratoksin A Standardı ve Immunoaffinite Kolonu

Araştırmada 1000 ng/mL (R-Biopharm Rhone Ltd, Glassgow, UK) okratoksin A içeren standart kullanıldı. Okratoksin A ya spesifik olan antikorları içeren immunoaffinite kolonları (Ochraprep) kullanıldı. Standart ve immunoaffinite kolonlar 2-8 °C buzdolabında muhafaza edildi.

5.4 Ağır Metaller

5.4.1 Kimyasal maddeler

Ağır metal analizinde kullanılan kimyasal maddeler Tablo 5.3’ de verilmiştir.

Tablo 5.3: Ağır metal analizinde kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Adı	Formülü	Markası
Nitrik asit	HNO ₃ (%65)	Merck
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂ (%30)	Merck
Hidroklorik asit	HCl (%37)	Merck

5.4.2 Ağır metal analizi için gerekli çözeltilerin hazırlanışı

%2' lik (w/v) Nitrik Asit çözeltisi, 22 mL % 65 lik nitrik asit alınarak 1000 mL' lik balon jodede distile su ile çizgisine tamamlanarak hazırlandı.

%2' lik Nitrik Asit + % 0,5' lik Hidroklorik Asit karışımı, 22 mL %65 lik nitrik asit ve 11 mL %37'lik hidroklorik asit alınarak 1000 mL'lik balon jodede distile su ile çizgisine tamamlanarak hazırlandı.

5.4.3 Ağır metal analizinde kullanılan alet ve ekipmanlar

Tartımlar için Ohaus marka 0,1 mg hassasiyette hassas terazi ve yakma işlemleri için CEM Mars Xpress marka mikrodalga cihazı kullanıldı

Agilent 7700x marka ICP-MS cihazı ağır metallerin konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla kullanıldı. ICP-MS cihazındaki analizlerde yüksek saflıkta Ar gazı kullanıldı.

5.4.4 Ağır metal standartları

Araştırmada her biri 10000 µg/mL (AccuNoHaz reference standart) Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn ve Cr içeren standartlar kullanıldı. İç standart karışım çözeltisi olarak, ticari Agilent (100 mg/L Bi, Ge, In, Li, Lu, Rh, Sc, Tb) içeren karışım kullanıldı.

6. METOT

6.1 Mısır Unu

Toplam 21 adet mısır unu örneğindeki aflatoksin ve okratoksin A, immunuaffinite kolon kullanılarak ekstrakte edildi. Ekstraktlardaki toksin türleri yüksek performansı sıvı kromatografi cihazı ile kantitatif olarak belirlendi.

Bunların yanı sıra Mikrodalga cihazı ile yaş yakma yöntemiyle yakılan mısır unu örneklerinin asit ekstraktlarındaki Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn ve Cr un konsantrasyonları ICP-MS ile analiz edilerek belirlendi.

6.2 Aflatoksin standart çözeltisinin hazırlanması

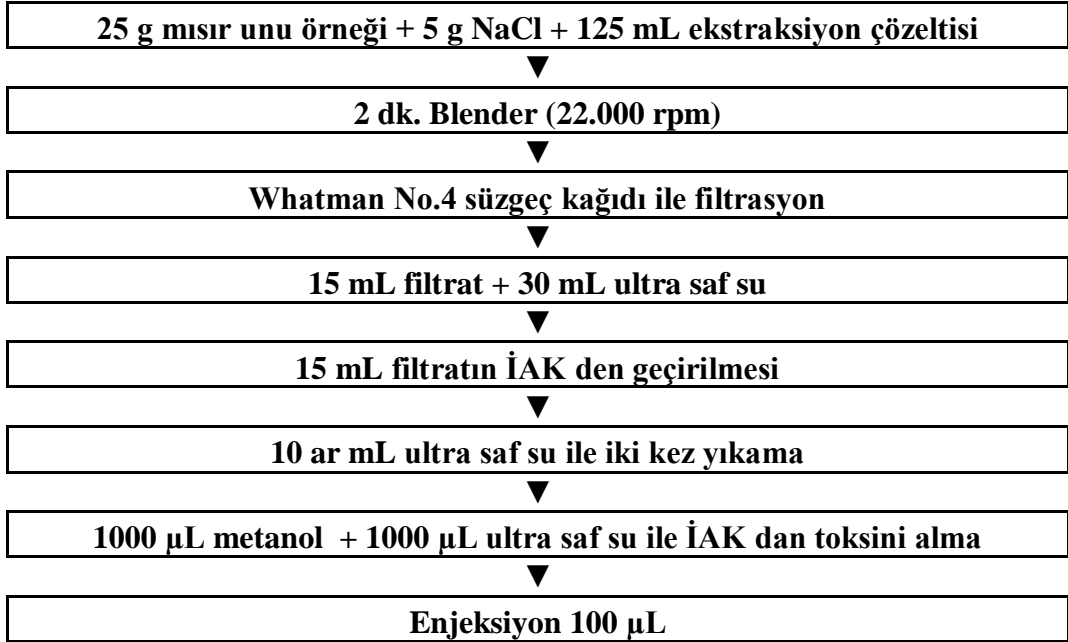
Aflatoksin çalışma çözeltisinin hazırlanması amacıyla stok çözeltiden 500 µL alınarak 5 mL'lik balon jöjeye aktarıldı ve 100 µg/mL (100 ppb) ara stok elde etmek amacıyla metanol/su (1:1) ile 5 mL'ye tamamlandı. Aflatoksin çalışma standart çözeltisi kullanılmadan önce, sıcaklığının oda koşullarına gelmesi beklendi.

6.3 Mısır unlarında aflatoksin varlığının araştırılması

Bu çalışmada aflatoksinin belirlenmesi için AOAC'e ait metotdan yararlanıldı. AOAC Official Method 991.31 Aflatoxins in Corn, Raw Peanuts, and Peanut Butter metodu kullanıldı.

25 g mısır unu örneği $\pm 0,1$ g hassesiyetle tartıldı. Waring blendera (Waring Commercial Laboratory Blender - Waring Products Division USA) konuldu, üzerine 5 g NaCl ve 125 mL ekstraksiyon çözeltisi (87,5 mL metanol, 37,5 mL ultra saf su) eklendi. 2 dakika yüksek devirde (22.000 rpm) karıştırılıp homojenize edildikten sonra Whatman No.4 süzgeç kağıdından süzüldü. 15 mL

filtrat ve 30 mL ultra saf su ile karıştırılır ve bu karışımdan 15 mL alınarak aflatoksine duyarlı antikolar içeren immunoaffinite kolondan saniyede 2 damla olacak şekilde geçirildi. Daha sonra yaklaşık saniyede 2 damla olacak şekilde 10 mL ultra saf su geçirilerek 2 kez yıkandı ve kolon kurutuldu. İmmunoaffinity kolonda tutunmuş aflatoksin kolondan saniyede 1 damla geçecek şekilde 1 mL metanol (HPLC Saflıkta) ile elue edildi ve 15 mL lik falcon tüpüne toplandı. Immunoaffinite kolondan son olarak 1 mL ultra saf su geçirildi ve toplam eluat miktarı 2 mL olacak şekilde aynı falcon tüpüne toplandı. Eluat 0,45 µm lik filtreden geçirildi. 100 µL örnek, floresans dedektörlü HPLC cihazına yerleştirilerek, mısır unlarında aflatoksin miktarı tespit edildi. Şekil 6.1' de mısır unu örneklerinin ekstraksiyon aşaması verilmiştir.



Şekil 6.1: Mısır unu örneklerinin aflatoksin ekstraksiyon aşaması

6.4 HPLC' de Aflatoksin Analizi

Mısır unu örneklerinde aflatoksin derişimlerinin belirlenmesi amacıyla floresans dedektörlü Shimadzu marka LC 20-AT Model HPLC cihazı kullanılmıştır. Aflatoksin analizi için metot, cihazda aşağıdaki gibi oluşturulmuştur.

Kobracell: HPLC' de kolondan sonra brominasyon ile türevlendirme işlevini yapan elektrokimyasal hücre, R-Biopharm

Kolon: C18 (5 µm, 4,6×250 mm, ODS3, Inertsil)

Hareketli faz: Metanol/Asetonitril/Su (3/2/6, hacim/hacim/hacim) + 132 mg potasyum bromür+110 µL nitrik asit

Hareketli faz akış hızı: 1 mL/dak

Basınç: Minimum 0 bar, maksimum 378 bar

Analiz süresi:20 dakika

Enjeksiyon hacmi: 100 µL

Dalga Boyu: 360 – 420 nm

Kolon sıcaklığı:40 °C

Çalışmada kullanılan metotun yanı sıra HPLC cihazında okutulan mısır unu örneklerindeki aflatoksin derişimlerinin belirlenmesi amacıyla aflatoksin standardı kullanılarak farklı konsantrasyonlarda standartlar hazırlandı, hazırlanan standartlar cihaza okutularak kalibrasyon grafiği çizildi. Kalibrasyon grafiği çizilirken 0,25-0,5-1-2,5-5-10 ppb lik aflatoksin standart çözeltileri kullanıldı.

Kalibrasyon grafiği HPLC cihazında bulunan 'LC Solution software (Shimadzu) paket program' yazılımı kullanılarak oluşturulmuştur. Mısır unu örneklerindeki aflatoksin varlığının araştırılmasında, hazırlanan bu kalibrasyon grafiği kullanıldı.

6.5 Okratoksin A standart çözeltilisinin hazırlanması

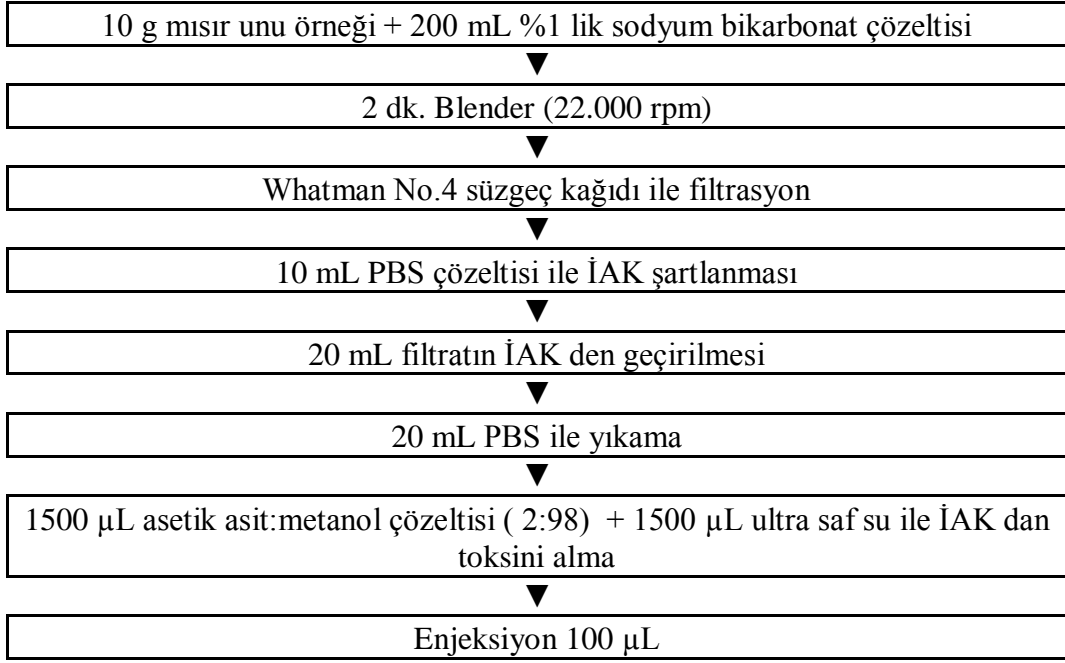
Okratoksin çalışma çözeltilisinin hazırlanması amacıyla stok çözeltiden 500 µL alınarak 5 mL'lik balon jøjeye aktarıldı ve 100 µg/mL (100 ppb) ara stok elde

etmek amacıyla metanol/su (1:1) ile 5 mL'ye tamamlandı. OTA çalışma standart çözeltisi kullanılmadan önce, sıcaklığının oda koşullarına gelmesi beklendi.

6.6 Mısır unlarında okratoksin varlığının araştırılması

Bu çalışmada okratoksinin belirlenmesi için R-Biopharm a ait metottan yararlanıldı. R-Biopharm Cereal Ochratoxin A extraction method A9-P14.V4 Date May 2009 metodu kullanıldı.

10 g mısır unu örneği $\pm 0,1$ g hassasiyetle tartıldı. Waring blendera (Waring Commercial Laboratory Blender - Waring Prducts Division USA) konuldu, üzerine 200 mL %1 lik sodyum bikarbonat çözeltisi eklendi. 2 dakika yüksek devirde (22.000 rpm) karıştırılıp homojenize edildikten sonra Whatman No.4 süzgeç kağıdından süzüldü. Immunoaffinite kolon 5 mL/dak hızla 10 mL PBS çözeltisi geçirilerek şartlandırıldı. 20 mL filtrat okratoksin duyarlı antikorlar içeren immunoaffinite kolondan dakikada 3 mL olacak şekilde geçirildi. Daha sonra yaklaşık dakikada 5 mL olacak şekilde 20 mL PBS geçirilerek yıkandı. Kolon Yaklaşık 10 s şırınga ile hava geçirilerek kurutuldu. İmmunoaffinite kolonda tutunan okratoksin kolondan saniyede 1 damla geçecek şekilde 1,5 mL asetik asit:metanol çözeltisi (2:98) ile elue edildi ve 15 mL lik falcon tüpüne toplandı. Immunoaffinite kolondan son olarak 1,5 mL ultra saf su geçirildi ve toplam eluat miktarı 3 mL olacak şekilde aynı falcon tüpüne toplandı. Eluat 0,45 μm 'lik filtreden geçirildi. 100 μL örnek, floresans dedektörlü HPLC cihazına yerleştirilerek, mısır unlarında okratoksin miktarı tayin edildi. Şekil 6.2' de mısır unu örneklerinin ekstraksiyon aşaması verilmektedir.



Şekil 6.2: Mısır unu örneklerinin okratoksin A ekstraksiyon aşaması

6.7 HPLC' de Okratoksin A analizi

Mısır unu örneklerinde okratoksin derişimlerinin belirlenmesi amacıyla floresans dedektörlü Shimadzu marka LC 20-AT Model HPLC cihazı kullanıldı. Okratoksin analizi için metod cihazda aşağıdaki gibi oluşturuldu.

Kolon: C18 (5 µm, 4,6×150 mm, ODS4, Inertsil)

Hareketli faz: Asetonitril/Su/Asetik asit (51/47/2, hacim/hacim/hacim)

Hareketli faz akış hızı: 1 mL/dak

Basınç: Minimum 0 bar, maksimum 378 bar

Analiz süresi: 8 dakika

Enjeksiyon hacmi: 100 µL

Dalga Boyu: 333 – 443 nm

Kolon sıcaklığı: 40 °C

HPLC cihazında okutulan mısır unu örneklerinde okrotoksin derişimlerinin belirlenmesi amacıyla okratoksin standardı kullanılarak farklı konsantrasyonlarda standartlar hazırlandı, hazırlanan standartlar cihaza okutulurak kalibrasyon grafiği çizildi. Kalibrasyonda 0,125-0,25-0,5-0,75-1,25-2,5-10 ppb okrotoksin standart çözeltileri kullanıldı.

Kalibrasyon grafiği HPLC cihazında bulunan 'LC Solution software (Shimadzu) paket program' yazılımı kullanılarak oluşturuldu. Mısır unu örneklerindeki okratoksin derişimlerinin belirlenmesi amacıyla hazırlanan bu kalibrasyon grafiği kullanıldı.

6.8 Ağır metaller için standart çözeltilerinin hazırlanması

Ağır metal çalışma çözeltilerinin hazırlanması amacıyla 10.000.000 ppb lik ana stoktan 50 µl alındı ve 50 mL' lik balon jodede 10.000 ppb' lik ara stok hazırlandı. Bu ara stoktan 500 µl alındı, 50 mL' lik balon jodede 100 ppb ikinci ara stok hazırlandı.

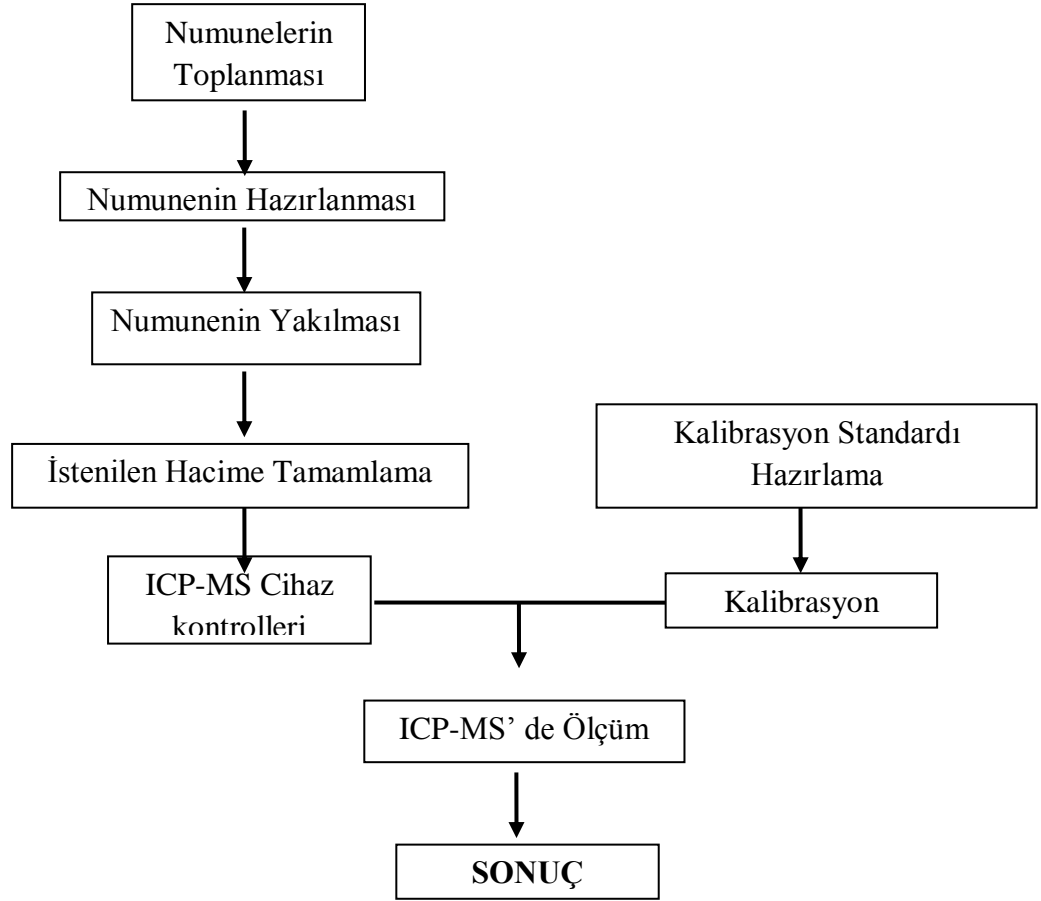
Çalışmada araştırması yapılan metallerin ana stok, ara stok ve standartlarının hazırlanması işlemi %2' lik nitrik asit + % 0,5' lik hidroklorik asit karışımı ile yapıldı..

6.9 Mısır unlarında ağır metal varlığının araştırılması

Bu çalışmada ağır metallerin belirlenmesi için NMKL' ye ait metottan yararlanıldı. Trace elements-As, Cd, Hg, Pb and other elements, determination by ICP-MS after pressure digestion (NMKL Method no.186, 2007) metodu kullanıldı.

0,25 g mısır unu numunelerinden mikrodalga tüplerine tartıldı. Üzerine 5 mL %65'lik nitrik asit ve 2 mL hidrojen peroksit eklenerek Mikrodalga cihazında hazırladığımız programda parçalama işlemi yapıldı. Parçalama işlemi

tamamlandıktan sonra numune ultra saf su ile 25 mL lik balon jodede çizgisine tamamlandı. Numune ile birlikte aynı koşullar altında bir de blank çözelti hazırlandı.



Şekil 6.3: Mısır unu örneklerinin ağır metal analizlerine ait basamakları

6.10 ICP-MS' te Ağır metal analizleri

6.10.1 Mikrodalga Yöntemi ile Materyal Çözünürleştirme

0,0001 gr hassasiyetli terazi ile mısır unu örneklerinden 0,25 gr tartılarak, CEM Mars Xpress marka mikrodalga cihazına ait teflon tüplere konuldu. Her bir teflon tüpün içerisine 5 mL HNO₃ (%65) ve 2 mL H₂O₂ (%30) ilave edildi. Mısır unu örnekleri 3 paralel olarak hücrelere konuldu ve kapakları

kapatılarak mikrodalga fırınına yerleştirildi. Belli zaman, güç ve sıcaklık aralıklarında çözüldürüldü. Çözüldürme programı Tablo 6.1' de verilmektedir.

Tablo 6.1: Mikrodalga yakma programı

Basamak	Güç	%	Sıcaklık	Ulaşma süresi	Sıcaklık	Bekleme süresi
1	1600 W	65	160 °C	15 dk	160 °C	5 dk
2	1600 W	65	200 °C	8 dk	200 °C	15 dk

Mikrodalga fırınında 43 dakikalık çözümlerleştirme işlemi yapıldıktan sonra fırından çıkarılan hücreler çeker ocak içinde oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Soğuyan hücrelerin kapakları açıldıktan sonra çözünen numuneler ultra saf su ile 25 mL' ye seyreltilerek balon jojelere aktarıldı.

6.10.2 Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn, Cr analizleri:

Mısır unu örneklerindeki Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn, Cr` un tayini amacıyla Agilent marka 7700x model ICP-MS cihazı kullanıldı. Ağır metallerin analizi için ICP-MS cihazında yapılan ayarlar Tablo 6.2' de verildi.

Tablo 6.2: ICP-MS parametreleri

Parametre	Ayarlar
RF-Güç (W)	1550
Taşıyıcı gaz akış hızı (L/dak)	1,05
Yardımcı gaz akış hızı (L/dak)	0,90
Seyreltme gazı akış hızı (L/dak)	0,08
Atomlaştırıcı	MicroMist
Atomlaştırıcı pompası (rps)	0,1
Sisleştirici sıcaklığı (°C)	2
Tekrar sayısı	3

ICP-MS cihazında mısır unu örneklerindeki ağır metallerin derişimlerinin belirlenebilmesi amacı ile farklı konsantrasyonlarda elementler içeren multi element standart çözeltileri hazırlandı. Multi element standart çözeltileri Pb, Cd, As, Hg derişimleri 0,05- 0,1- 0,5- 1,0- 5,0- 10,00 ppb, Cu ve Cr derişimleri 0,5- 1,0- 5,0- 10,00- 20,00- 50,00 ppb, son olarak Zn derişimi 25,00- 50,00 -100,00- 200,00- 300,00- 500,00 ppb olacak şekilde 50 mL'lik balon jöjelere önceden hazırlanan ara stok (10000 ppb) ve ikinci ara stok (100 ppb) çözeltileri kullanılarak hazırlandı.

Girişim etkilerinin önlenmesi amacıyla 100 mg/L Bi, Ge, In, Li, Lu, Rh, Sc, Tb iç standart karışım çözeltisi kullanıldı. Bu çözeltiden 1250 µL alınarak %2' lik Nitrik Asit + % 0,5' lik hidroklorik asit karışımı ile 250 mL ye tamamlanarak 500 µg/l lik çözeltisi hazırlandı. Bu çözelti standartlarla ve numunelerle birlikte cihaza gönderildi.

Kalibrasyon grafiğı ICP-MS cihazında bulunan 'ICP-MS Top (Agilent) paket program' yazılımı kullanılarak oluşturuldu.

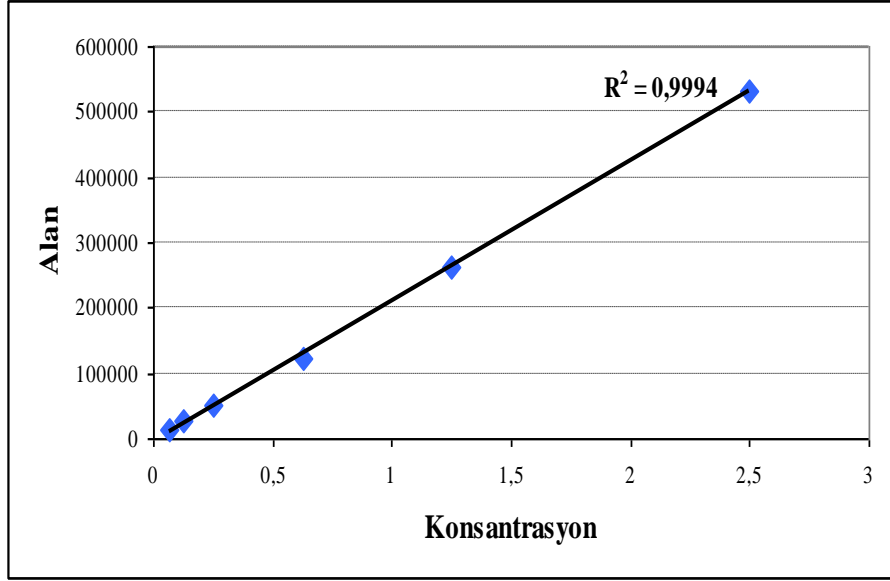
Analiz süresince yıkama işlemleri için üç adet çözelti kullanıldı. Bunlar saf su, %2' lik nitrik asit çözeltisi ve %2' lik nitrik asit + %0,5' lik hidroklorik asit içeren çözeltilerdir.

7. ARAŞTIRMA BULGULARI

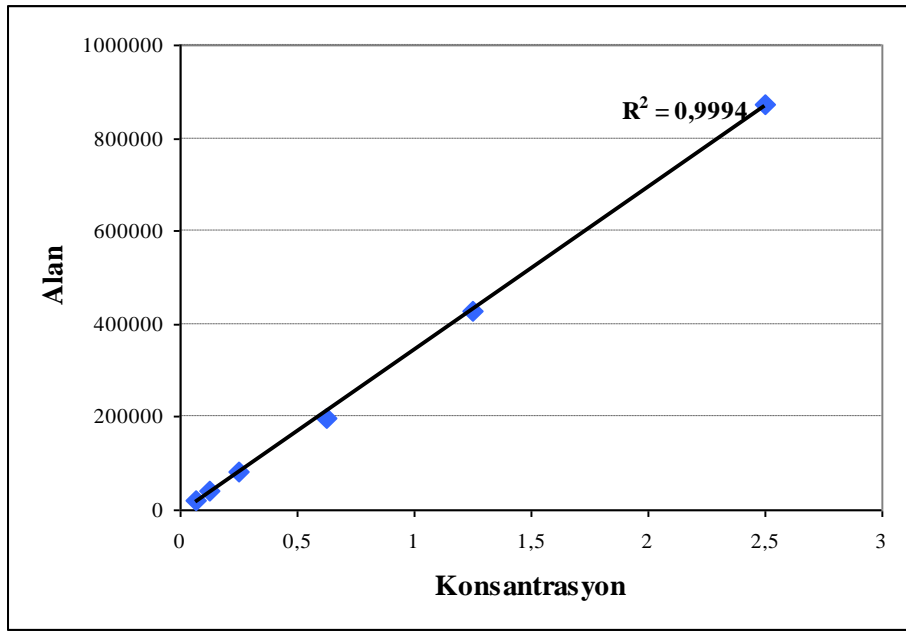
Mısır ve mısır ürünleri dünyada tüketilen en popüler yiyeceklerdendir. Araştırmamızda şehir pazarlarından, köylerden temin edilen halkın satışına sunulan yirmi bir farklı üreticiye ait mısır unu örneklerinin toplam aflatoksin ve aflatoksin B1, okratoksin A ve bazı ağır metallerin içeriklerinin belirlenmesi amacı ile çalışmalar yapıldı.

7.1 Aflatoksin analizleri

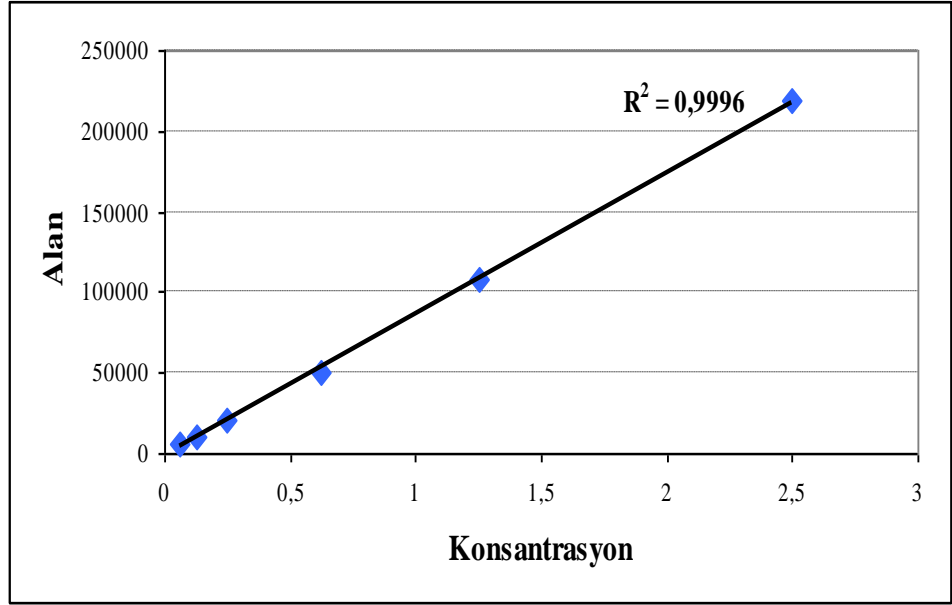
Aflatoksin analizlerinde Bölüm 6.2' de de belirtildiği gibi toplam aflatoksin içeren standartlar kullanılarak hazırlanan 0,25-0,5-1-2,5-5-10 ppb lik standartlar ile 6 noktalı kalibrasyon grafiği hazırlandı. Her standart üçer kez okutuldu ve taradığı alan-konsantrasyon değerlerine göre grafikler çizildi. Aflatoksinlere ait kalibrasyon grafikleri Şekil 7.1, 7.2, 7.3 ve 7.4' te gösterilmektedir.



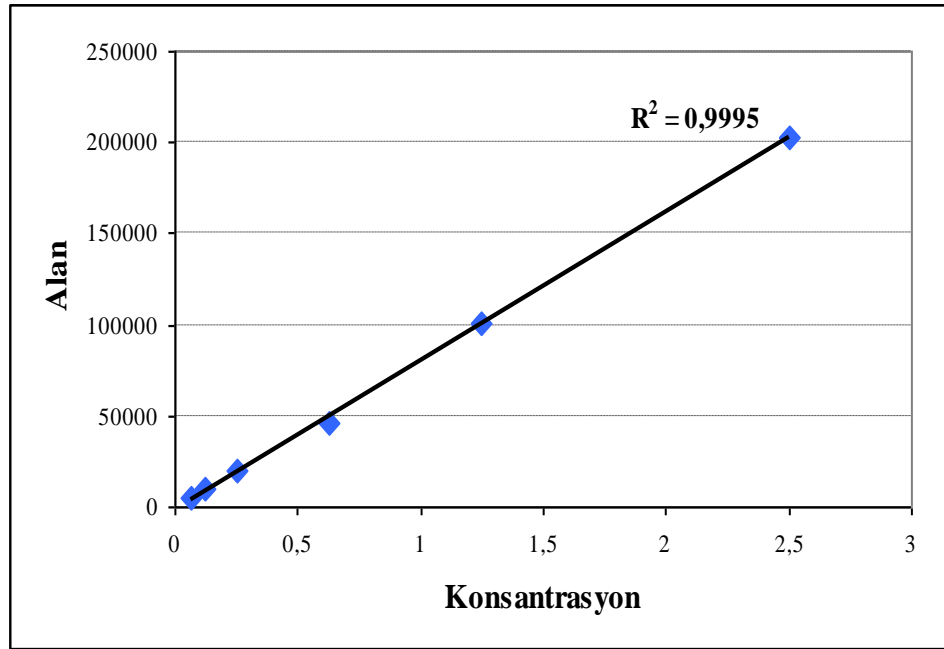
Şekil 7.1: Aflatoxin B1 kalibrasyon grafiği



Şekil 7.2: Aflatoxin B2 kalibrasyon grafiği



Şekil 7.3: Aflatoxin G1 kalibrasyon grafiği



Şekil 7.4: Aflatoxin G2 kalibrasyon grafiği

Her bir toksine ait pikin alanına karşı konsantrasyon grafiği çizildi ve R^2 değerlerinin 0,995 rakamının altında olmamasına dikkat edildi.

Çalışmamızın doğruluğunu göstermek amacı ile Aflatoksin tayinleri için kullanılan Fapas T04164 Hazelnut sertifikalı referans maddesi kullanıldı. Bu maddedeki sertifikalı referans değerleri ve elde edilen sonuçlar Tablo 7.1’ de verilmektedir.

Tablo 7.1: Hazelnut T04164 sertifikalı referans materyal ile yapılan çalışmaya ait değerler

Hazelnut T04164	Analit	Birim	Hedef değer	Kabul edilebilir aralık
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Aflatoksin B1	µg/kg	4,48	2,51-6,46
Çalışma sonucunda bulunan değerler	Aflatoksin B1	µg/kg	5,52±0,06	Aralığın içinde
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Aflatoksin B2	µg/kg	1,39	0,78-2,01
Çalışma sonucunda bulunan değerler	Aflatoksin B2	µg/kg	1,73±0,05	Aralığın içinde
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Aflatoksin G1	µg/kg	2,94	1,64-4,23
Çalışma sonucunda bulunan değerler	Aflatoksin G1	µg/kg	3,66±0,02	Aralığın içinde
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Aflatoksin G2	µg/kg	0,72	0,40-1,04
Çalışma sonucunda bulunan değerler	Aflatoksin G2	µg/kg	0,83±0,02	Aralığın içinde
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Toplam Aflatoksin	µg/kg	9,54	5,34-13,74
Çalışma sonucunda bulunan değerler	Toplam Aflatoksin	µg/kg	11,84±0,04	Aralığın içinde

Ülkemizin farklı şehir ve köylerinden temin edilen 18 adet, yurtdışından temin edilen 3 adet mısır unu örneklerinde toplam aflatoksin derişimleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 7.2` de verilmiştir.

Tablo 7.2: Mısır unu örneklerinde Toplam Aflatoksin düzeyleri

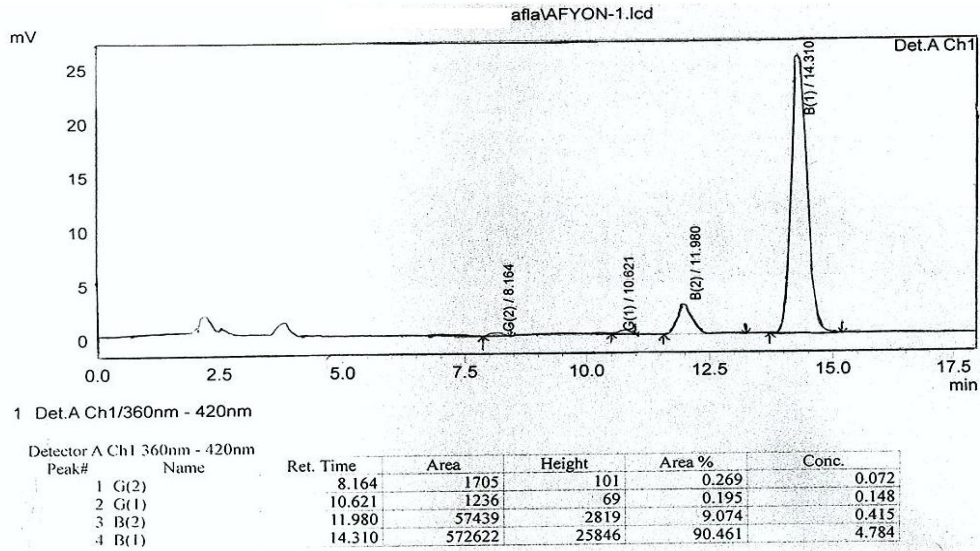
Örnek	Toplam aflatoksin (µg/kg)	Örnek	Toplam aflatoksin (µg/kg)	Örnek	Toplam aflatoksin (µg/kg)
Afyon	5,35±0,06	Giresun 1	<LOD	Rize	1,62±0,00
Balıkesir-Balıklı	1,08±0,02	Giresun 2	0,24±0,07	Sakarya	13,92±0,04
Balıkesir-İvrindi	0,37±0,04	İngiltere 1	<LOD	Samsun	0,18±0,04
Balıkesir-Savaştepe	0,69±0,60	İngiltere 2	<LOD	Tekirdağ	3,87±0,04
Bursa	0,79±0,00	İngiltere 3	0,13±0,00	Trabzon 1	0,32±0,03
Erzurum	3,61±0,03	İzmir	1,69±0,04	Trabzon 2	0,35±0,00
Gaziantep	0,50±0,00	Kırklareli	0,56±0,01	Zonguldak	0,21±0,00

Ülkemizin farklı şehir ve köylerinden temin edilen 18 adet, yurtdışından temin edilen 3 adet mısır unu örneklerinde Aflatoksin B1 derişimleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 7.3` de verilmiştir.

Tablo 7.3: Mısır unu örneklerinde Aflatoksin B1 düzeyleri

Örnek	Aflatoksin B1 (µg/kg)	Örnek	Aflatoksin B1 (µg/kg)	Örnek	Aflatoksin B1 (µg/kg)
Afyon	4,79±0,02	Giresun 1	<LOD	Rize	1,41±0,00
Balıkesir-Balıklı	0,59±0,01	Giresun 2	0,17±0,01	Sakarya	12,87±0,05
Balıkesir-İvrindi	0,18±0,01	İngiltere 1	<LOD	Samsun	0,13±0,00
Balıkesir-Savaştepe	0,52±0,01	İngiltere 2	<LOD	Tekirdağ	3,45±0,02
Bursa	0,62±0,00	İngiltere 3	0,13±0,00	Trabzon 1	0,14±0,00
Erzurum	3,25±0,01	İzmir	0,91±0,00	Trabzon 2	0,21±0,00
Gaziantep	0,35±0,00	Kırklareli	0,25±0,01	Zonguldak	0,21±0,00

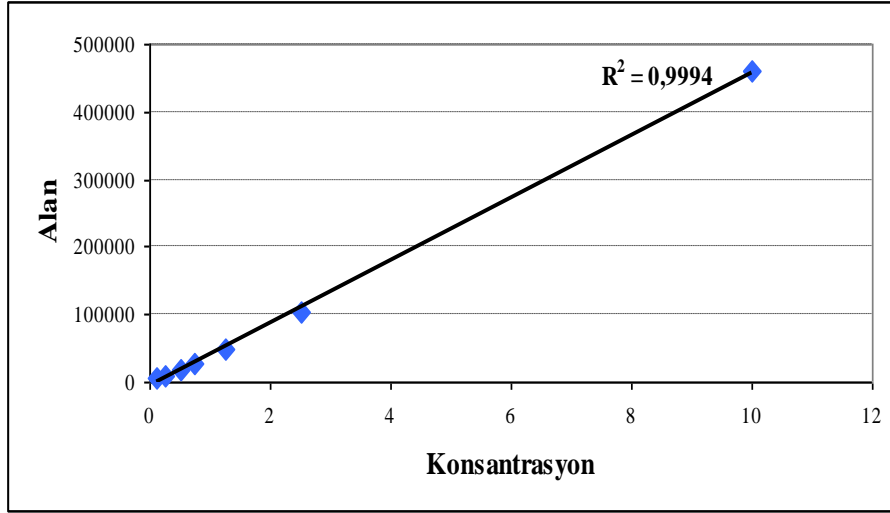
Afyon iline ait Aflatoksin piklerini ve verilerini içeren kromatogram Şekil 7.5'te verilmiştir.



Şekil 7.5: HPLC cihazında aflatoksin için kromatogram

7.2 Okratoksin A analizleri

Okratoksin analizlerinde 6.5' te belirtildiği gibi okratoksin A içeren standart kullanılarak hazırlanan 0,125-0,25-0,5-0,75-1,25-2,5-10 ppb lik standartlar ile 7 noktalı kalibrasyon grafiği hazırlandı. Her standart üçer kez okutuldu ve taradığı alan-konsantrasyon değerlerine göre grafikler çizildi. OTA' ya ait kalibrasyon grafiği Şekil 7.6' da verilmektedir.



Şekil 7.6: Okratoksin A kalibrasyon eğrisi

Okratoksin için kullanılan sertifikalı referans madde Fapas T17100, maize flour'dur. Bu maddedeki sertifikalı referans değerleri ve bu çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo 7.4' te verilmektedir.

Tablo 7.4: Maize flour T17100 sertifikalı referans materyal ile yapılan çalışmaya ait değerler

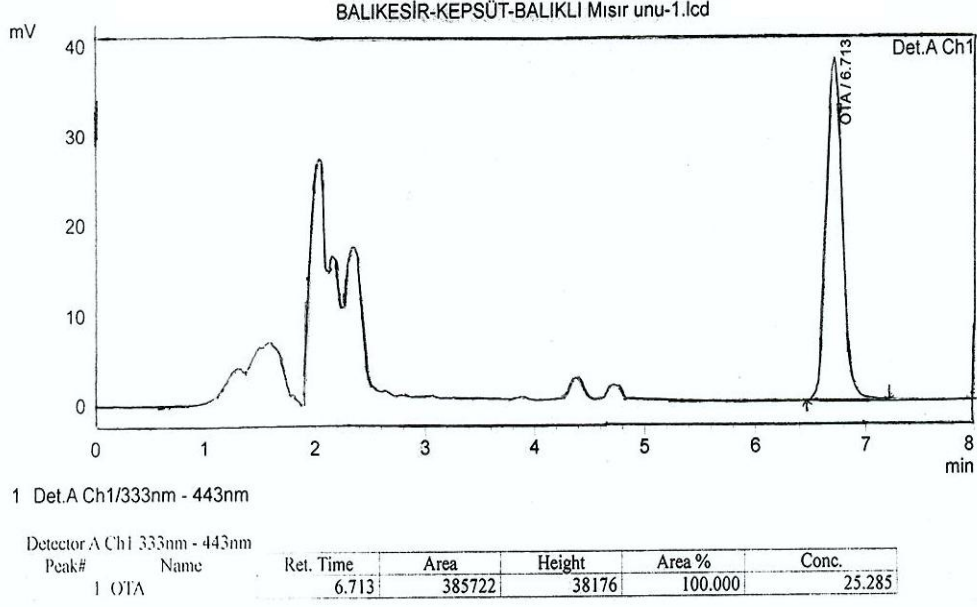
Maize flour T17100	Analit	Birim	Hedef değer	Kabul edilebilir aralık
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Okratoksin A	µg/kg	1,10	0,62-1,59
Çalışma sonucunda bulunan değerler	Okratoksin A	µg/kg	1,02±0,02	Aralığın içinde

Ülkemizin farklı şehir ve köylerinden temin edilen 18 adet, yurtdışından temin edilen 3 adet mısır unu örneklerinde Okratoksin A derişimleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 7.5` te verilmiştir.

Tablo 7.5: Mısır unu örneklerinde Okratoksin A düzeyleri

Örnek	Okratoksin A (µg/kg)	Örnek	Okratoksin A (µg/kg)	Örnek	Okratoksin A (µg/kg)
Afyon	<LOD	Giresun 1	<LOD	Rize	0,48±0,00
Balıkesir-Balıklı	25,34±0,05	Giresun 2	<LOD	Sakarya	0,73±0,00
Balıkesir-İvrindi	0,72± 0,01	İngiltere 1	0,38±0,00	Samsun	0,70±0,00
Balıkesir-Savaştepe	0,94±0,00	İngiltere 2	<LOD	Tekirdağ	0,55±0,00
Bursa	0,42±0,00	İngiltere 3	<LOD	Trabzon 1	<LOD
Erzurum	0,56±0,00	İzmir	0,37±0,00	Trabzon 2	<LOD
Gaziantep	0,37±0,00	Kırklareli	0,50±0,00	Zonguldak	2,14±0,01

Balıkesir ili Balıklı köyüne ait Okratoksin A pikini ve verisini içeren kromatogram Şekil 7.7` de verilmiştir.



Şekil 7.7: HPLC cihazında okratoksine ait kromatogram

7.3 Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn, Cr analizleri

Yaptığımız çalışmada da örneklerde tayin edilen elementlerin kalibrasyon eğrisindeki aralığın içinde yer alabilmesi için her elementin örnekteki konsantrasyonları ön çalışmalarla araştırıldı ve buna uygun olacak şekilde her element için farklı konsantrasyonlarda standartlar hazırlandı.

Çalışmamızda kullanılan elementlerin kütle değerleri ve Pb, Cr elementlerine ait izotopların kütle değerleri Tablo 7.6' da verilmektedir.

Tablo 7.6: Çalışılan elementlere ait kütle değerleri

Element	Kütle	Element	Kütle
Cr	52	Cd	111
Cr	53	Hg	202
Cu	63	Pb	206
Zn	66	Pb	207
As	75	Pb	208

Krom, kadmiyum, bakır, çinko analizlerinin doğruluğunun belirlenmesi amacı ile kullanılan sertifikalı referans madde Fapas T07101 Soft drink' tir. Bu maddedeki sertifikalı referans değerleri ve bu çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo 7.7' de verilmektedir.

Arsenik, kadmiyum, civa analizlerinin doğruluğunun belirlenmesi amacı ile kullanılan sertifikalı referans madde Fapas T07139 Canned Fish' tir. Bu maddedeki sertifikalı referans değerleri ve bu çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo 7.8' de verilmektedir.

Arsenik, kadmiyum, kurşun analizlerinin doğruluğunun belirlenmesi amacı ile kullanılan sertifikalı referans madde Fapas T07141 Chilli Powder' dır. Bu maddedeki sertifikalı referans değerleri ve bu çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo 7.9' da verilmektedir.

Tablo 7.7: Soft Drink T07101 sertifikalı referans materyal ile yapılan çalışmaya ait değerler

Soft Drink T07101	Analit	Birim	Hedef değer	Kabul edilebilir aralık
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Krom	µg/kg	210	125-295
Çalışma sonucunda bulunan değerler	Krom	µg/kg	224,4±3,9	Aralığın içinde
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Kadmiyum	µg/kg	96,3	53,9-138,7
Çalışma sonucunda bulunan değerler	Kadmiyum	µg/kg	91,2±1,1	Aralığın içinde
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Bakır	µg/kg	763	509-1017
Çalışma sonucunda bulunan değerler	Bakır	µg/kg	743,8±11,1	Aralığın içinde
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Çinko	µg/kg	1436	1001-1871
Çalışma sonucunda bulunan değerler	Çinko	µg/kg	1382,3±38,2	Aralığın içinde

Tablo 7.8: Canned Fish T07139 Sertifikalı referans materyal ile yapılan çalışmaya ait değerler

Canned Fish T07139	Analit	Birim	Hedef değer	Kabul edilebilir aralık
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Arsenik	µg/kg	762	508-1016
Çalışma sonucunda bulunan Değerler	Arsenik	µg/kg	607,8±15,4	Aralığın içinde
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Kadmiyum	µg/kg	46,8	26,2-67,4
Çalışma sonucunda bulunan Değerler	Kadmiyum	µg/kg	43±1,1	Aralığın içinde
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Civa	µg/kg	539	350-728
Çalışma sonucunda bulunan Değerler	Civa	µg/kg	423,4±6,5	Aralığın içinde

Tablo 7.9: Chilli Powder T07141 Sertifikalı referans materyal ile yapılan çalışmaya ait değerler

Chilli Powder T07141	Analit	Birim	Hedef değer	Kabul edilebilir aralık
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Arsenik	µg/kg	508	328-688
Çalışma sonucunda bulunan Değerler	Arsenik	µg/kg	493,9±5,3	Aralığın içinde
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Kadmiyum	µg/kg	375	236-514
Çalışma sonucunda bulunan Değerler	Kadmiyum	µg/kg	350,1±3,9	Aralığın içinde
Sertifikalı referans materyalin gerçek değerleri	Kurşun	µg/kg	320	198-441
Çalışma sonucunda bulunan Değerler	Kurşun	µg/kg	377,9±2,8	Aralığın içinde

Çalışmamızda kullanılan mısır unu örneklerinde tayin edilen bakır ve çinko derişimleri Tablo 7.10' da, kurşun ve kadmiyum derişimleri Tablo 7.11' de ve arsenik, civa ve krom derişimleri Tablo 7.12' de verilmiştir.

Tablo 7.10: Bakır ve çinkoya ait ICP-MS sonuçları

	63 Cu	66 Zn
Örnek	Derişim [mg/kg] $\bar{x} \pm s$	Derişim [mg/kg] $\bar{x} \pm s$
Afyon	1,22±0,00	10,70±0,06
Balıkesir-Balıklı	1,97±0,01	23,21±0,00
Balıkesir-İvrindi	1,28±0,01	13,98±0,15
Balıkesir-Savaştepe	1,70±0,01	25,18±0,04
Bursa	0,75±0,07	6,25±0,07
Erzurum	0,79±0,01	7,47±0,04
Gaziantep	0,63±0,00	7,27±0,05
Giresun 1	2,00±0,02	19,80±0,09
Giresun 2	1,94±0,01	22,59±0,14
İngiltere 1	0,14±0,00	0,48±0,01
İngiltere 2	0,08±0,00	0,25±0,01
İngiltere 3	0,77±0,00	6,45±0,00
İzmir	1,25±0,01	14,53±0,03
Kırklareli	1,68±0,01	19,59±0,07
Rize	1,53±0,03	13,27±0,21
Sakarya	1,36±0,00	13,43±0,04
Samsun	1,78±0,02	24,24±0,15
Tekirdağ	1,24±1,78	11,33±0,02
Trabzon 1	1,19±0,00	15,41±0,06
Trabzon 2	1,05±0,01	6,54±0,03
Zonguldak	1,49±0,00	21,91±0,06

Tablo 7.11: Kurşun ve kadmiyuma ait ICP-MS sonuçları

	208 Pb	111 Cd
Örnek	Değişim [µg/kg] $\bar{x} \pm s$	Değişim [µg/kg] $\bar{x} \pm s$
Afyon	34,32±0,43	7,50±0,19
Balıkesir-Balıklı	75,18±0,42	4,16±0,09
Balıkesir-İvrindi	80,94±4,42	2,78±0,12
Balıkesir-Savaştepe	210,22±0,27	6,38±0,10
Bursa	31,78±0,70	2,41±0,07
Erzurum	57,47±0,19	1,89±0,08
Gaziantep	20,08±0,42	0,97±0,04
Giresun 1	20,12±0,52	2,73±0,04
Giresun 2	39,32±0,47	2,29±0,04
İngiltere 1	38,97±0,07	0,96±0,08
İngiltere 2	50,47±0,31	1,03±0,00
İngiltere 3	47,81±0,29	1,76±0,08
İzmir	136,73±0,28	5,69±0,14
Kırklareli	46,18±0,29	2,81±0,16
Rize	27,21±0,14	3,13±0,15
Sakarya	15,03±0,14	3,03±0,10
Samsun	33,68±0,71	4,60±0,15
Tekirdağ	111,58±1,25	2,36±0,16
Trabzon 1	21,90±0,25	1,98±0,11
Trabzon 2	47,07±0,25	8,86±0,26
Zonguldak	51,20±0,32	2,05±0,06

Tablo 7.12: Arsenik, civa ve kroma ait ICP-MS sonuçları

	75 As	202 Hg	52 Cr
Örnek	Derişim [µg/kg]	Derişim [µg/kg]	Derişim [µg/kg]
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
Afyon	4,21±0,77	1,14±0,37	84,67±1,44
Balıkesir-Balıkli	34,01±1,30	<LOD	115,73±5,26
Balıkesir-İvrindi	27,24±1,74	<LOD	99,10±1,70
Balıkesir-Savaştepe	51,88±2,58	<LOD	137,24±0,80
Bursa	5,20±1,16	<LOD	74,32±1,02
Erzurum	3,76±1,04	<LOD	96,18±4,40
Gaziantep	2,66±0,67	1,18±0,30	89,16±1,71
Giresun 1	3,78±1,02	<LOD	78,68±1,77
Giresun 2	8,51±0,52	<LOD	83,61±0,63
İngiltere 1	2,63±0,53	<LOD	82,26±0,80
İngiltere 2	2,02±1,13	<LOD	102,77±0,68
İngiltere 3	2,96±0,92	<LOD	98,36±0,96
İzmir	29,88±0,85	<LOD	92,86±0,53
Kırklareli	5,41±0,75	<LOD	148,70±1,35
Rize	11,78±1,14	<LOD	131,58±3,13
Sakarya	6,28±0,44	0,72±0,45	284,83±2,38
Samsun	12,12±1,23	1,74±0,42	80,62±0,81
Tekirdağ	3,46±0,26	<LOD	99,53±0,36
Trabzon 1	5,47±0,57	<LOD	76,55±0,73
Trabzon 2	4,00±0,35	<LOD	94,33±0,90
Zonguldak	9,08±0,96	7,01±0,73	92,98±0,51

8. TARTIŞMA

Mısır ve mısır ürünleri dünyada tüketilen en popüler yiyeceklerdendir. Bu çalışmada mısır unu örneklerinin toplam aflatoksin ve aflatoksin B1, okratoksin A ve bazı ağır metallerin içeriklerinin Türk Gıda Kodeksi değerlerine uygunluğunun değerlendirilmesi ve sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi amaçlandı.

8.1 Mısır ununda Aflatoksin, Okratoksin A ve ağır metal içeriklerinin belirlenmesine ait bulguların değerlendirilmesi

8.1.1 Aflatoksin analizlerine ait bulguların değerlendirilmesi

Aflatoksin varlığını araştırmak için resmi olarak yayınlanmış çeşitli metotlar bulunmaktadır. Yayınlanan metotlarda temelde floresans dedektörlü sıvı kromatografisi önerilmekte olup, ekstraksiyon aşamasında da katı-faz ekstraksiyon temizleme veya immunoaffinite kolon yaygın olarak kullanılmaktadır. Yayınlanan metotların tespit limitlerinin düşük olması (<0.5 µg/kg) ve bir çok gıda ürününe başarı ile uygulanabilmesi önemli avantajlar sunmaktadır.

Çalışmamızda da önemli avantajlar sağladığı için floresans dedektörlü sıvı kromatografisi , ekstraksiyon aşamasında da immunoaffinite kolon kullanıldı.

Çalışmamızın doğruluğunu göstermek amacı ile Aflatoksin tainleri için kullanılan Fapas T04164 Hazelnut sertifikalı referans maddesi kullanıldı. Hazelnut T04164 nolu standart referans örneğindeki toplam aflatoksin'in konsantrasyonu $9,54 \pm 4,2$ µg / kg'dir. Çalışmada ekstrakte edilen toplam aflatoksin konsantrasyonu $11,84 \pm 0,04$ µg / kg olarak bulunmuştur (bkz. Tablo 7.1) Toplam Aflatoksin konsantrasyonu standart referans örneğinin değerine yakın olarak bulunmuştur. Hazelnut T04164 nolu standart referans örneğindeki aflatoksin B1'in konsantrasyonu $4,48 \pm 1,97$ µg / kg'dir. Çalışmada ekstrakte edilen aflatoksin B1 konsantrasyonu $5,53 \pm 0,06$ µg / kg olarak bulunmuştur (bkz.

Tablo 7.1) Aflatoksin B1 konsantrasyonu standart referans örneğinin değerine yakın olarak bulunmuştur.

Fapas T04164 Hazelnut sertifikalı referans maddesinin analizi ile elde edilen sonuçların kabul edilebilir aralık içinde olduğu Tablo 7.1' de görülmektedir. Bu sonuçlar Aflatoksin analizleri için kullanılan yöntemin mısır unu örneklerinde aflatoksin miktarlarının belirlenmesi amacı ile kullanılabilmesini göstermektedir.

Ülkemizin farklı şehir ve köylerinden temin edilen 18 adet, yurtdışından temin edilen 3 adet mısır unu örneklerindeki toplam aflatoksin derişimlerinin belirlenmesi amacı ile yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar (Tablo 7.2) değerlendirildiğinde Afyon ve Sakarya şehirlerimizden temin edilen mısır unu örneklerindeki toplam aflatoksin değerlerinin Türk Gıda Kodeksi' nde belirtilen sınır değerin (4 ppb) üstünde olduğu bulundu. Giresun1, İngiltere-1 ve İngiltere-2 kod numaralı örneklerde ise tespit edilebilir düzeyde sonuç bulunamadı.

Analiz edilen mısır unu örneklerinde belirlenen Aflatoksin B1 miktarları (Tablo 7.3) incelendiğinde Afyon, Erzurum, Sakarya ve Tekirdağ şehirlerinden temin edilen örneklerdeki Aflatoksin B1 miktarlarının Türk Gıda Kodeksi' nde belirtilen sınır değerin (2 ppb) üstünde olduğu bulundu. Giresun 1, İngiltere 1 ve İngiltere 2 kodu ile gösterilen örneklerde ise Aflatoksin B1 tespit edilebilir düzeyde bulunamadı.

8.1.2 Okratoksin A analizlerine ait bulguların değerlendirilmesi

Okratoksin A için kullanılan sertifikalı referans madde Fapas T17100, maize flour'dur. Maize flour T17100 nolu standart referans örneğindeki okratoksin A'nın konsantrasyonu $1,10 \pm 0,49 \mu\text{g} / \text{kg}$ 'dir. Çalışmada ekstrakte edilen okratoksin A konsantrasyonu $1,02 \pm 0,02 \mu\text{g} / \text{kg}$ olarak bulunmuştur (bkz. Tablo 7.4). Okratoksin A konsantrasyonu standart referans örneğinin değerine yakın olarak bulunmuştur.

Bu sertifikalı referans maddesinin analizi ile elde edilen sonuçların kabul edilebilir aralık içinde olduğu Tablo 7.4' de görülmektedir. Bu sonuçlar Okratoksin A analizleri için kullanılan yöntemin mısır unu örneklerinde Okratoksin A miktarlarının belirlenmesi amacı ile kullanılabilceğini göstermektedir.

Ülkemizin farklı şehir ve köylerinden temin edilen 18 adet, yurtdışından temin edilen 3 adet mısır unu örneklerindeki Okrotoksin A derişimlerinin belirlenmesi amacı ile yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar (Tablo 7.5) değerlendirildiğinde Balıkesir-Balıkli' dan temin edilen mısır unu örneklerindeki Okratoksin A değerinin Türk Gıda Kodeksi' nde belirtilen sınır değerin (3 ppb) üstünde olduğu bulundu.

8.1.3 Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn, Cr analizlerine ait bulguların değerlendirilmesi

ICP-MS cihazı, bir çok elementi tayin edebilme özelliği sayesinde kantitatif analizlerde ve izotop oranlarının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Farklı derişime sahip elementlerin aynı anda tayinine olanak sağlamaktadır.

Mısır unu örneklerinde ağır metallerin tayinleri amacı ile kullanılan yöntemin doğruluğunun gösterilmesi amacı ile farklı sertifikalı referans materyaller kullanılmıştır. Bu amaçla krom, kadmiyum, bakır, çinko analizlerinin doğruluğunun belirlenmesi amacı ile Fapas T07101 Soft Drink, arsenik, kadmiyum, civa analizlerinin doğruluğunun belirlenmesi amacı ile Fapas T07139 Canned Fish ve arsenik, kadmiyum, kurşun analizlerinin doğruluğunun belirlenmesi amacı Fapas T07141 Chilli Powder sertifikalı referans maddeleri kullanılmıştır.

Soft Drink T07101 nolu standart referans örneğindeki bakırın konsantrasyonu $763 \pm 254 \mu\text{g} / \text{kg}$ ' dir. Çalışmada mikrodalga ile yaş yakma yöntemi ile elde edilen ekstraktlardaki Cu konsantrasyonu $743,8 \pm 11,1 \mu\text{g} / \text{kg}$ olarak bulunmuştur (bkz. Tablo 7.7) Cu konsantrasyonu standart referans örneğin değerine yakın olarak bulunmuştur.

Soft Drink T07101 nolu standart referans örneğindeki kadmiyumun konsantrasyonu $96,3 \pm 42,4$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ' dir. Çalışmada mikrodalga ile yaş yakma yöntemi ile elde edilen ekstraktlardaki Cd konsantrasyonu $91,2 \pm 1,1$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak bulunmuştur (bkz. Tablo 7.7). Canned Fish T07139 nolu standart referans örneğindeki kadmiyumun konsantrasyonu $46,8 \pm 20,6$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ' dir. Çalışmada mikrodalga ile yaş yakma yöntemi ile elde edilen ekstraktlardaki Cd konsantrasyonu $43 \pm 1,1$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak bulunmuştur (bkz. Tablo 7.8). Chilli Powder T07141 nolu standart referans örneğindeki arseniğin konsantrasyonu 375 ± 139 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ' dir. Çalışmada mikrodalga ile yaş yakma yöntemi ile elde edilen ekstraktlardaki Cd konsantrasyonu $350,1 \pm 3,9$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak bulunmuştur (bkz. Tablo 7.9). Cd konsantrasyonu standart referans örneğinin değerine yakın olarak bulunmuştur.

Chilli Powder T07141 nolu standart referans örneğindeki kurşunun konsantrasyonu 320 ± 122 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ' dir. Çalışmada mikrodalga ile yaş yakma yöntemi ile elde edilen ekstraktlardaki Pb konsantrasyonu $377,9 \pm 2,8$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak bulunmuştur (bkz. Tablo 7.9). Pb konsantrasyonu standart referans örneğinin değerine yakın olarak bulunmuştur.

Canned Fish T07139 nolu standart referans örneğindeki arseniğin konsantrasyonu 762 ± 254 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ' dir. Çalışmada mikrodalga ile yaş yakma yöntemi ile elde edilen ekstraktlardaki As konsantrasyonu $607,8 \pm 15,4$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak bulunmuştur (bkz. Tablo 7.8). Chilli Powder T07141 nolu standart referans örneğindeki arseniğin konsantrasyonu 508 ± 180 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ' dir. Çalışmada mikrodalga ile yaş yakma yöntemi ile elde edilen ekstraktlardaki As konsantrasyonu $493,9 \pm 5,3$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak bulunmuştur (bkz. Tablo 7.9). As konsantrasyonu standart referans örneklerinin değerine yakın olarak bulunmuştur.

Canned Fish T07139 nolu standart referans örneğindeki cıvanın konsantrasyonu 539 ± 189 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ' dir. Çalışmada mikrodalga ile yaş yakma yöntemi ile elde edilen ekstraktlardaki Hg konsantrasyonu $423,4 \pm 6,5$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak bulunmuştur (bkz. Tablo 7.8). Hg konsantrasyonu standart referans örneğinin değerine yakın olarak bulunmuştur.

Soft Drink T07101 nolu standart referans örneğindeki kromun konsantrasyonu $210 \pm 85 \mu\text{g} / \text{kg}$ ' dir. Çalışmada mikrodalga ile yaş yakma yöntemi ile elde edilen ekstraktlardaki Cr konsantrasyonu $224,4 \pm 3,8 \mu\text{g} / \text{kg}$ olarak bulunmuştur (bkz. Tablo 7.7) Cr konsantrasyonu standart referans örneğinin değerine yakın olarak bulunmuştur.

Bu sertifikalı referans maddelerin analizi ile elde edilen sonuçların kabul edilebilir aralık içinde olduğu Tablo 7.7, Tablo 7.8 ve Tablo 7.9` da da görülmektedir. Bu sonuçlar mısır unlarında ağır metallerin tayini amacı ile verilen yaş yakma ve ölçüm tekniğinin kullanılabilceğini göstermektedir.

Tablo 7.10` da mısır unlarında tayin edilen bakır ve çinkoya ait sonuçlar yer almaktadır ve günlük ihtiyaçlar göz önüne alındığında bulunan bakır miktarlarının sağlığa zarar verecek boyutlarda olmadığı fakat çinko değerlerinin genel olarak fazla olduğu görülmektedir.

Tablo 7.11` de kurşun ve kadmiyuma ait sonuçlar $\mu\text{g}/\text{kg}$ cinsinden verilmektedir. Kurşun ve kadmiyumun Türk Gıda kodeksinde yer alan limitleri dikkate alındığında tahıllar için kurşunun $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ ' ın altında, kadmiyumun ise $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ ' ın olması gerekmektedir. Mısır unlarında kurşun değerleri incelendiğinde yalnızca bir mısır ununun limitin üstünde olduğu (Balıkesir Savaştepe), iki adet mısır ununun 100 ppb ' nin üstünde olduğu (İzmir ve Tekirdağ) ve diğer mısır unlarının ise 100 ppb ' nin altında olduğu görülmektedir. Kadmiyum değerlerine bakıldığında sonuçların 100 ppb ' nin altında olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra sonuçların 10 ppb ' den bile az olması kadmiyum açısından olumlu bir durum olmasına rağmen unutulmamalıdır ki kurşun ve kadmiyum çok düşük dozlarda bile organizmalar için toksik etki gösterebilmektedir.

Arsenik ve civa günümüzün en popüler ağır metallere aittir. Arsenik solunum, sindirim ve deri yoluyla alınır. Saç, tırnak, karaciğer ve böbreklerde birikim gösterir. Kanserojen etkiye sahiptir.

Arsenik, civa ve kromun olumlu ve olumsuz etkileri bu şekilde olmakla beraber çalışmamızda kullandığımız mısır unlarına ait sonuçlar Tablo 7.12' de verilmiştir. Mısır unlarında krom değerlerinin genel olarak günlük ihtiyacın çok üzerinde olmadığı görülmektedir. Tüm mısır unlarının belirli seviyelerde arsenik içerdiği ve civa açısından sonuçların olumlu olduğu görülmektedir. Birçok mısır ununda civa derişimlerinin tayin sınırlarının altında kaldığı görülmektedir.

8.2 Mısır ununda Aflatoksin, Okratoksin A ve ağır metal içeriklerinin kemometrik olarak değerlendirilmesi

Her bir mısır unu örneği için araştırılan metal ve toksin içerikleri arasındaki ilişkileri incelemek amacıyla korelasyon analizleri ve temel bileşen analizleri SPSS programı kullanılarak yapılmıştır.

8.2.1 Korelasyon Analizleri

21 farklı mısır ununda yaş yakma yöntemi ile yapılan deneylerden elde edilen toplam metal iyonları konsantrasyonlarını (Pb, Cd, Hg, As, Cu, Zn, Cr) kullanarak metal iyonları ve HPLC yöntemiyle bulunan toplam aflatoksin, aflatoksin B1 ve okratoksin A arasında ilişki kurulmaya çalışılmıştır. Bir çok mısır unu örneğindeki civa derişimlerinin tayin sınırlarının altında çıkması nedeni ile civa sonuçları istatistiksel değerlendirmeye alınmamıştır. Tablo 8.1' de her bir metal iyonları ve toksinlerin en yüksek korelasyon gösterdiği metal iyonları ve toksinler gösterilmiştir. Bu çizelgeden yüksek korelasyon gösteren metal iyonları ve toksinler 4 farklı grupta sınıflandırılabilir. Bu gruplar:

1. grup Cu, Zn
2. grup Zn, As
3. grup Pb, As
4. grup Cr, Toplam Aflatoksin, Aflatoksin B1

olarak belirlenmiştir.

Tablo 8.1’ de de görüleceği gibi Cd ve Okratoksin A’ nin hiç bir ağır metal ve toksin ile arasında istatistiksel bir ilişki görülmemiştir.

Tablo 8.1: Mısır unu örneklerindeki metaller ve toksinler arasındaki korelasyon

	Cu	Zn	Pb	Cd	As	Cr	Toplam Aflatoksin	Aflatoksin B1	OTA
Cu	1,00	0,93	0,16	0,35	0,43	0,17	-0,05	-0,06	0,42
Zn	0,93	1,00	0,29	0,26	0,55	0,12	-0,18	-0,19	0,37
Pb	0,16	0,29	1,00	0,36	0,80	0,01	-0,17	-0,19	0,05
Cd	0,35	0,26	0,36	1,00	0,40	0,04	0,04	0,03	0,19
As	0,43	0,55	0,80	0,40	1,00	0,12	-0,18	-0,20	0,38
Cr	0,17	0,12	0,01	0,04	0,12	1,00	0,80	0,80	0,001
Toplam Aflatoksin	0,05	0,18	0,17	0,04	0,18	0,80	1,00	0,99	0,09
Aflatoksin B1	0,06	0,19	0,19	0,03	0,20	0,80	0,99	1,00	0,12
OTA	0,42	0,37	0,05	0,19	0,38	0,001	-0,09	-0,12	1,00

8.2.2 Temel Bileşen Analizi

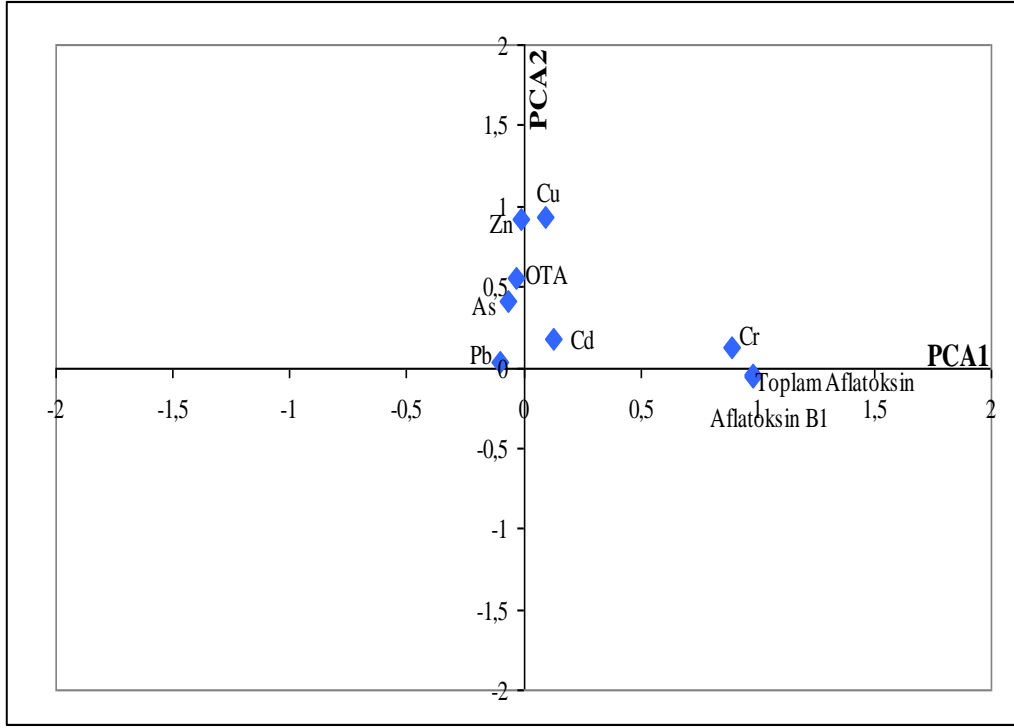
Temel bileşen analizinin uygulaması korelasyon analizlerinde olduğu gibi mısır unlarındaki toplam metal iyonu konsantrasyonları ve toksin konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi kurmak ve gruplandırma amacı ile yapıldı. SPSS programını kullanarak faktör loading değerleri bulunmaya çalışıldı. Bu değerlendirmeden metal iyonları için elde edilen faktör loading değerleri Tablo 8.2’ de verilmiştir. Bu değerlendirmede 3 faktör elde edilmiştir ve bu bize metaller ve toksinler arasında 3 farklı gruplanmanın olduğunu göstermektedir.

Tablo 8.2: Mısır unu örnekleri için metal iyonları ve toksinler arasındaki ilişkiyi gösteren faktör loading değerleri

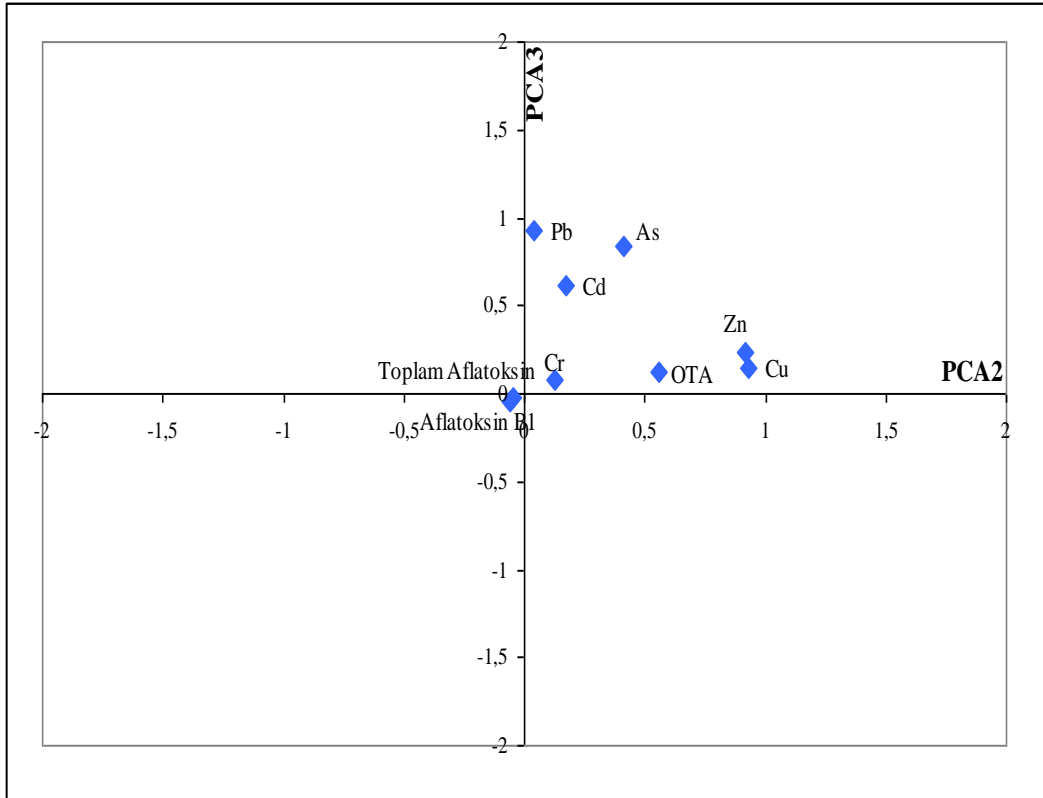
	PCA 1	PCA2	PCA3
Cu	0,093	0,933	0,141
Zn	-0,010	0,919	0,230
Pb	-0,103	0,038	0,929
Cd	0,130	0,172	0,616
As	-0,064	0,412	0,838
Cr	0,893	0,123	0,075
Toplam Aflatoksin	0,982	-0,046	-0,024
Aflatoksin B1	0,982	-0,058	-0,050
OTA	-0,034	0,560	0,120

Tablo 8.2’ de verilen temel bileşen analizi ile elde edilen sonuçlar en yüksek ilişkiyi veren ilk grupta Cr, Toplam Aflatoksin ve Aflatoksin B1 bulunduğunu göstermektedir. İkinci grupta ise aynı şekilde Cu, Zn ve kısmen Okratoksin A arasında bir ilişkinin olduğunu ve üçüncü grupta ise Pb, Cd ve As arasında bir ilişkiyi vermektedir. Bu elde edilen değerlendirme Bölüm 8.2.1’ de verilen korelasyon analizleri ile elde edilen sonuçlara benzemektedir.

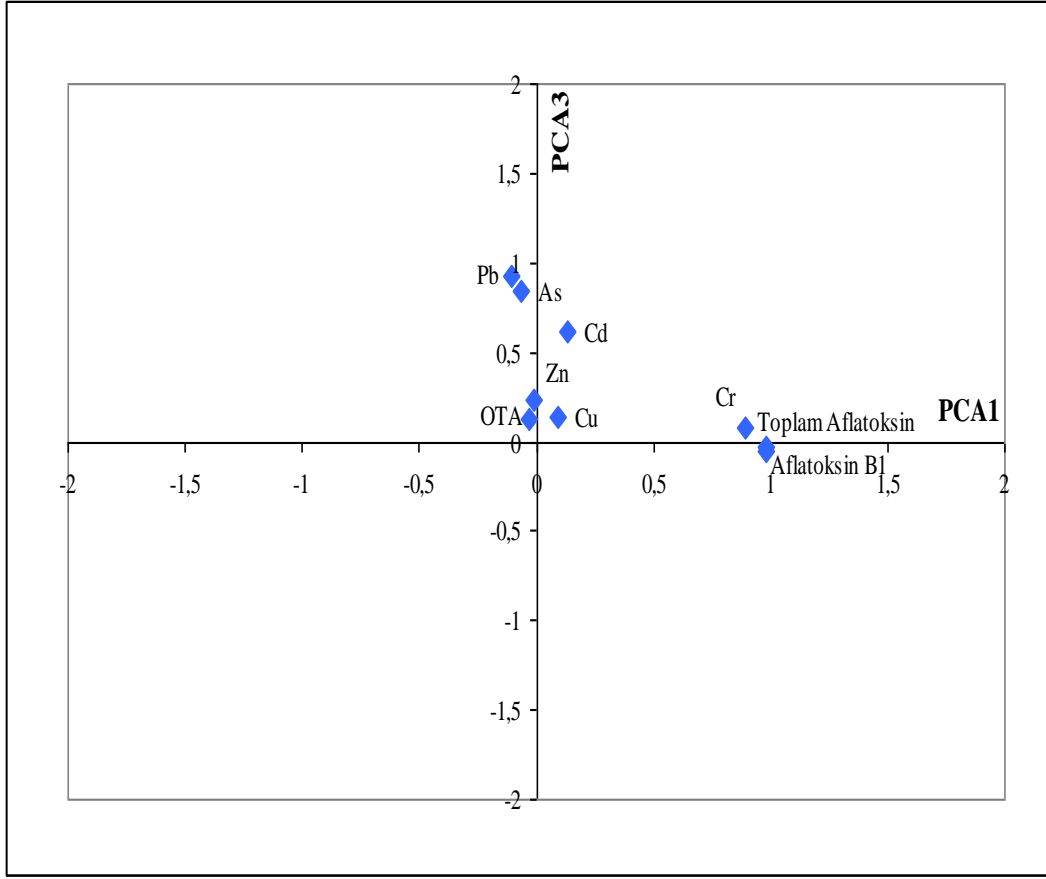
Temel Bileşen Analizi ile elde edilen faktör loading değerleri grafiğe geçirilerek metal iyonları ve toksinler arasındaki ilişki grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 8.1: Mısır unu örnekleri için PCA1-PCA2 faktör loadingleri grafiği



Şekil 8.2: Mısır unu örnekleri için PCA2-PCA3 faktör loadingleri grafiği



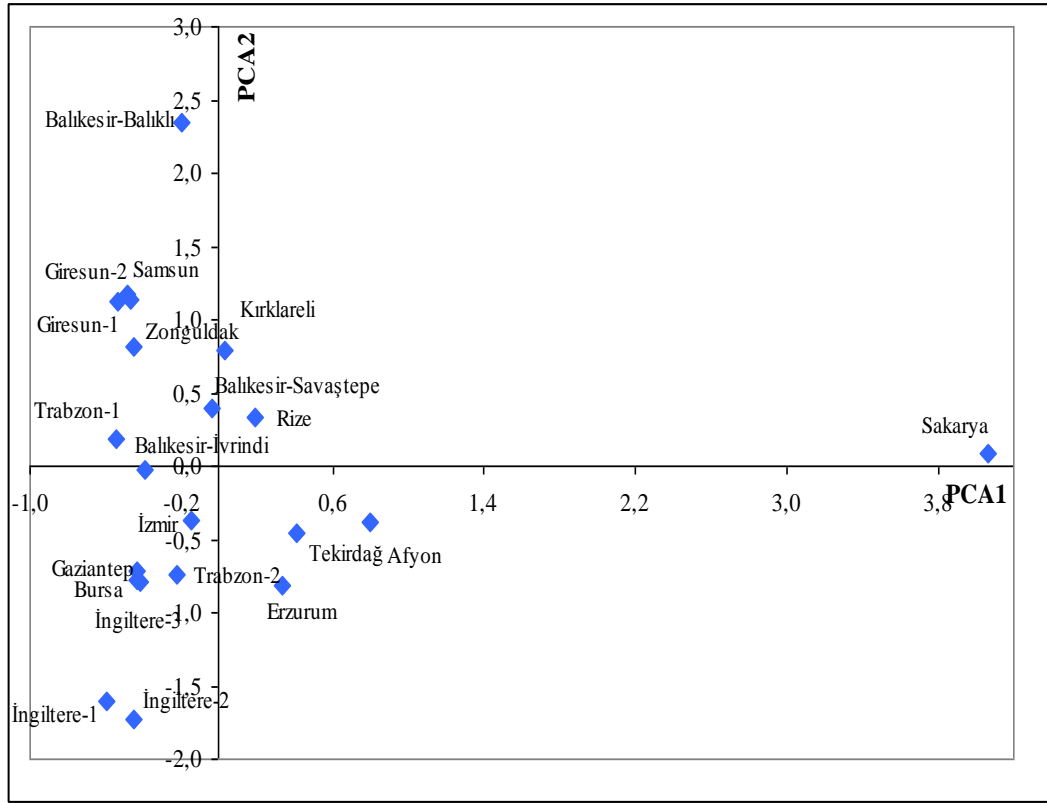
Şekil 8.3: Mısır unu örnekleri için PCA1-PCA3 faktör loadingleri grafiği

Bu üç farklı faktör loading grafikleri yine bu üç gruplanmayı göstermektedir. Cr, toplam aflatoksin ve aflatoksin B1 bir arada bulunmaktadır ve PCA1 ekseninde maksimum değeri almaktadırlar. Zn, Cu ve OTA ise PCA2 ekseninde maksimum değeri alırken Pb, As ve Cd elementleri ise PCA3 ekseninde maksimum değerleri almışlardır. Bu grafikler, toksinler ve ağır metaller arasındaki ilişkiyi göstermektedir.

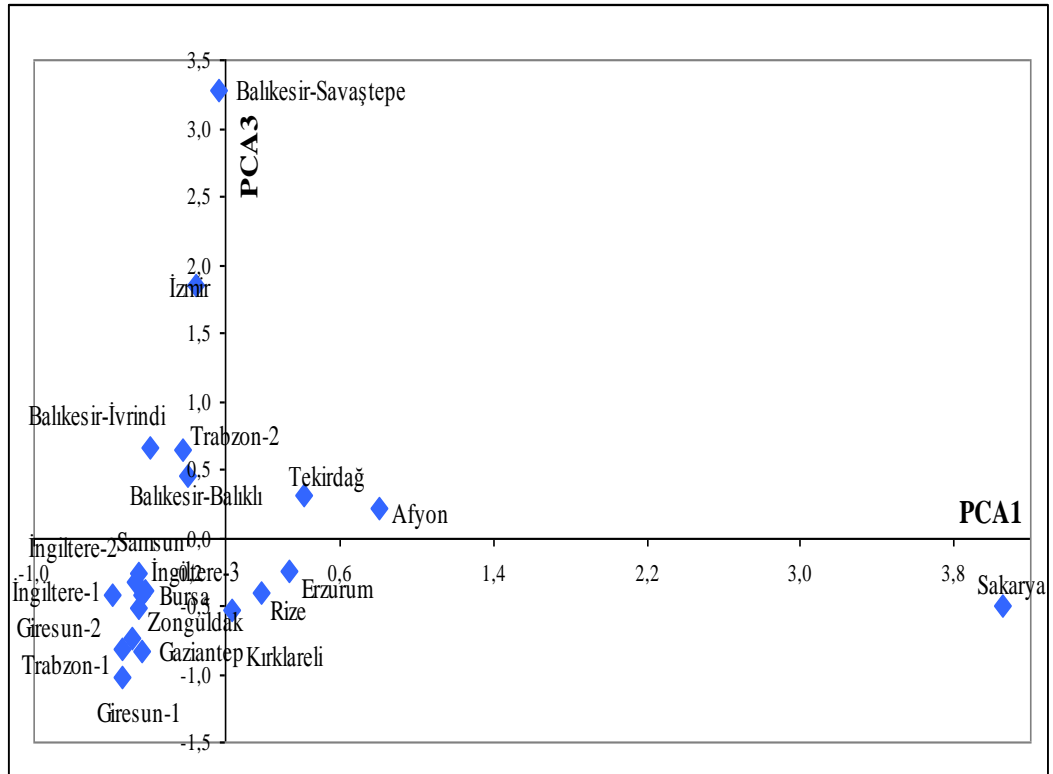
Tablo 8.3: Mısır unu örnekleri için şehirler arasındaki ilişkiyi gösteren faktör skor değerleri

Mısır ununun temin edildiği şehir	PCA1	PCA2	PCA3
Afyon	0,799	-0,378	0,219
Balıkesir-Balıklı	-0,194	2,351	0,459
Balıkesir-İvrindi	-0,393	-0,020	0,666
Balıkesir-Savaştepe	-0,038	0,401	3,275
Bursa	-0,438	-0,772	-0,428
Erzurum	0,330	-0,813	-0,240
Gaziantep	-0,433	-0,712	-0,834
Giresun 1	-0,535	1,122	-1,025
Giresun 2	-0,485	1,168	-0,734
İngiltere 1	-0,594	-1,603	-0,421
İngiltere 2	-0,451	-1,725	-0,257
İngiltere 3	-0,418	-0,792	-0,394
İzmir	-0,151	-0,376	1,854
Kırklareli	0,033	0,790	-0,526
Rize	0,188	0,339	-0,403
Sakarya	4,054	0,091	-0,502
Samsun	-0,470	1,130	-0,327
Tekirdağ	0,408	-0,457	0,304
Trabzon 1	-0,540	0,186	-0,813
Trabzon 2	-0,221	-0,739	0,636
Zonguldak	-0,450	0,809	-0,510

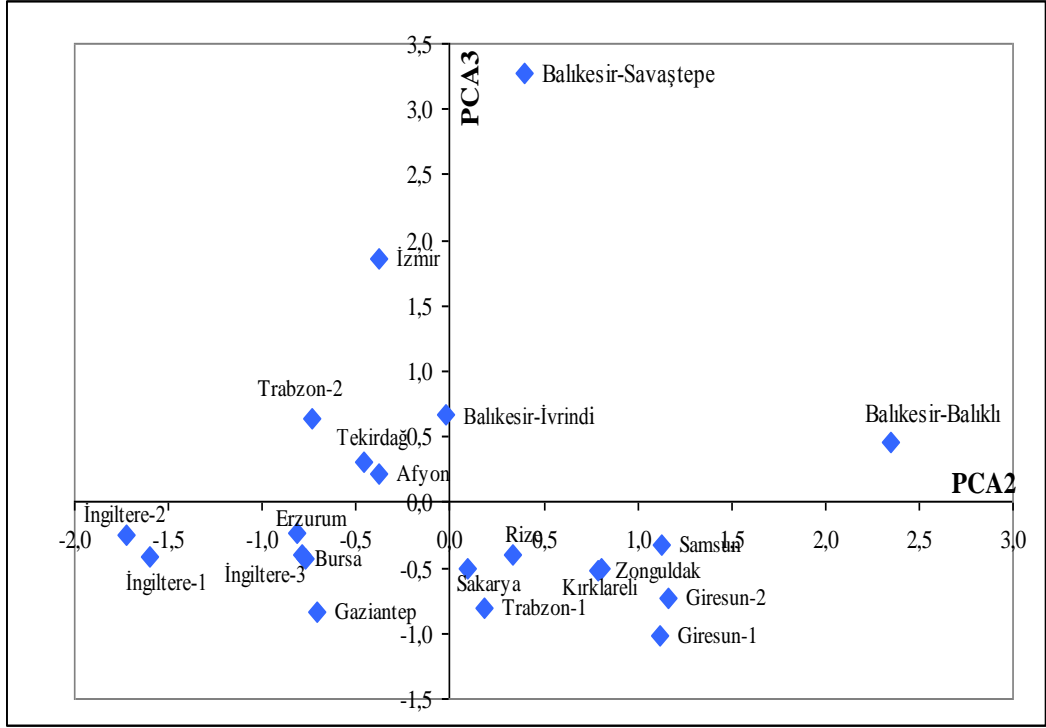
Bu değerlendirme ile elde edilen faktör skor değerleri grafiğe geçirilerek temin edilen şehirler arasındaki ilişki grafiksel olarak da gösterilmiştir.



Şekil 8.4: Mısır unu örnekleri için PCA1-PCA2 faktör skor grafiği



Şekil 8.5: Mısır unu örnekleri için PCA1-PCA3 faktör skor grafiği



Şekil 8.6: Mısır unu örnekleri için PCA2-PCA3 faktör skor grafiği

Faktör loading ve faktör skor grafiklerinin beraber değerlendirilmesi Cr, toplam aflatoksin ve aflatoksin B1` in konsantrasyonlarının en yüksek Sakarya ilimizden alınan örnekte olduğunu göstermektedir. Çünkü Sakarya ilimizden alınan örnek en yüksek PCA1 değerine sahiptir. Yine bu bileşenlerin konsantrasyonları sırasıyla Afyon, Tekirdağ ve Erzurum illerimizden alınan örneklerde de yüksektir. Zn, Cu ve OTA`nın konsantrasyonu ise en yüksek Balıkesir` in Balıklı köyünden alınan örnekte gözlenmiştir. Sırasıyla bu elementlerin konsantrasyonlarının yüksek olduğu diğer iller Balıkesir Savaştepe, Giresun, Samsun, Zonguldak, Kırklareli ve en son olarak da Rize illerimizden alınan örneklerdededir. Pb, As ve Cd elementlerinin konsantrasyonunun en yüksek olduğu örnek Balıkesir` in Savaştepe ilçesinden alınan örnektir. Bu elementlerin konsantrasyonlarının yüksek olduğu diğer illerimiz sırasıyla İzmir, Balıkesir-İvrindi, Trabzon-2`den temin edilen örneklerdir. Bursa, Gaziantep, İngiltere (1-2-3) ve Trabzon-1 nolu örneklerde tüm PCA skor değerleri negatif çıkmıştır. Bu örneklerde analiz edilen toksin ve ağır elementlerin konsantrasyonlarının diğer örneklerden çok düşük olduğunu göstermektedir.

9. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tarımsal ürünlerde mikotoksin oluşumu ve ağır metal içeriği , ürüne bağlı olmakla birlikte yetiştirme sürecinden tüketime kadar her aşamada şartlara bağlı olarak artış gösterebilir.

Mısır ve mısır ürünleri oldukça sık tüketilen gıdalar olduğu için içerdikleri toksin ve ağır metal açısından riskli gıda kategorisinde değerlendirilebilirler.

Bu çalışmada çeşitli şehir ve köylerden temin edilen mısır unlarında aflatoksin, okratoksin A ve ağır metal içerikleri araştırıldı. Mısır unlarındaki toksin konsantrasyonlarını belirlemek için immunoaffinite kolon kullanılarak mısır unlarındaki aflatoksin ve okratoksin A ekstrakte edildi. Mısır unlarındaki toplam metal konsantrasyonlarını belirlemek için de mısır unlarına HNO₃ ile yaş yakma işlemi uygulandı.

Ayrıca yöntemin doğruluğunu belirlemek için aynı işlemler uygulanarak standart referans maddeler analiz edildi. Hazelnut T04164 standart referans materyali toplam aflatoksin ve Aflatoksin B analizlerinin, Maize Flour T17100 sertifikalı referans materyali okratoksin A analizlerinin, Fapas T07101 Soft Drink krom, kadmiyum, bakır, çinko analizlerinin, Fapas T07139 Canned Fish arsenik, kadmiyum, civa analizlerinin ve son olarak da Fapas T07141 Chilli Powder arsenik, kadmiyum, kurşun analizlerinin doğruluklarının gösterilmesi amacı ile kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar seçilen yöntemlerin doğruluklarını göstermektedir (bkz. Tablo 7.1, Tablo 7.4, Tablo 7.7, Tablo 7.8 ve Tablo 7.9). Seçilen tayin yöntemlerinin mısır unlarındaki aflatoksin, okratoksin A ve ağır metallerin analizlerinde kullanılabileceğini göstermiştir.

Mısır unları arasında en yüksek toplam aflatoksin konsantrasyonu Sakarya'dan temin edilen örnekten belirlenmiş olup gıdalardaki kabul edilebilir sınır değerinin oldukça üstündedir. Mısır unları arasında en yüksek Aflatoksin B1 konsantrasyonu Sakarya' dan temin edilen örnekten belirlenmiş olup gıdalardaki kabul edilebilir sınır değerinin oldukça üstündedir.

Mısır unları arasında en yüksek okratoksin A konsantrasyonu Balıkesir Balıklı' dan temin edilen örnekten belirlenmiş olup gıdalardaki kabul edilebilir sınır değerinin oldukça üstündedir.

Mısır unları arasında en yüksek bakır konsantrasyonu Giresun-1' den temin edilen örnekten belirlenmiş olup gıdalardaki kabul edilebilir sınır değerinin çok altındadır.

Mısır unları arasında en yüksek çinko konsantrasyonu Balıkesir-Savaştepe' den temin edilen örnekten belirlenmiş olup gıdalardaki kabul edilebilir sınır değerinin çok altındadır.

Mısır unları arasında en yüksek kadmiyum konsantrasyonu Trabzon-2' den temin edilen örnekten belirlenmiş olup gıdalardaki kabul edilebilir sınır değerinin çok altındadır.

Mısır unları arasında en yüksek kurşun konsantrasyonu Balıkesir-Savaştepe' den temin edilen örnekten belirlenmiş olup gıdalardaki kabul edilebilir sınır değerinin üstündedir.

Mısır unları arasında en yüksek arsenik konsantrasyonu Balıkesir-Balıklı' dan temin edilen örnekten belirlenmiş olup gıdalardaki kabul edilebilir sınır değerinin çok altındadır.

Mısır unları arasında en yüksek civa konsantrasyonu Zonguldak' tan temin edilen örnekten belirlenmiş olup gıdalardaki kabul edilebilir sınır değerinin altındadır.

Mısır unları arasında en yüksek krom konsantrasyonu Sakarya' dan temin edilen örnekten belirlenmiş olup gıdalardaki kabul edilebilir sınır değerinin çok altındadır.

Bu çalışma her ne kadar farklı şehirlerden temin edilen mısır unları hakkında bilgi sağlasa da, farklı satıcılardan temin edilen daha fazla sayıda örneğin incelenmesi ve farklı illerde yapılacak çalışmalarla birleştirilmesi

gerekmektedir. Ancak, o zaman Türkiye’ de ve Dünya genelinde sıkça tüketilen mısır ve mısır ürünlerinin kalite özellikleri tam olarak belirlenebilecektir.

9.1 İstatistiksel Değerlendirme

Analizi yapılan tüm mısır unu örnekleri için toplam metal iyonu konsantrasyonları ile toksin konsantrasyonları arasındaki ilişki korelasyon analizi ve temel bileşen analizi ile ayrı ayrı incelenmiştir. Korelasyon analizi ve temel bileşen analizi ile yapılan istatistiksel değerlendirme ile elde edilen sonuçlar kısmen birbiri ile uyumlu bulunmuştur. Bu tez çalışması ağır metaller ve mikotoksinlerin konsantrasyonları arasında bir ilişki olup olmadığını inceleyen ilk çalışmadır.

Toksinlerin ve metallerin gruplandırılması amacıyla yapılan istatistiksel değerlendirmede mısır unu örneklerinde benzer gruplar elde edilmiştir. Mısır unu örneklerinde Cr, Toplam Aflatoksin ve Aflatoksin B1 bir grupta yer almıştır. Cu, Zn ve OTA diğer bir grupta ve Pb, Cd ve As ise ayrı bir grup oluşturmuştur.

Ayrıca temel bileşen analizlerinde de şehirler arasında benzerlik olup olmadığı gözlemlenmiştir. Balıkesir-Balıklı, Giresun-1, Giresun-2, Samsun, Zonguldak, Kırklareli bir grup, Savaştepe, İzmir, Balıkesir-İvrindi, Trabzon-2 diğer bir grup, Sakarya, Afyon, Tekirdağ ve Erzurum ise ayrı bir grup oluşturmuştur.

Yapılan istatistiksel testlerle toksinler ile ağır metaller arasında ilişki kurulmaya çalışılmış ve Cr metali ile Aflatoksin arasında yakın bir ilişki olduğu hem korelasyon hem de temel bileşen analizi ile gösterilmiştir. Bu çalışma ağır metal ile toksin arasında ilişki kuran ilk çalışma olması sebebiyle önem arz etmektedir.

10. KAYNAKLAR

- [1] Taşdan, K. ve Çetin, F., ve Gürer, B., “Durum ve Tahmin Raporu, Mısır”, Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, 1-12, (2011- 2012).
- [2] Babaoğlu, M., “Mısır Tarımı, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü”, Edirne, (2005).
- [3] Ulukan, H., *Tarla Bitkileri Yetiştirme – I Ders Notları (Metin)*, A.Ü.Z.F., Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara, 3-4, (2011).
- [4] Mısır Unu [online]. (05 Haziran 2012) , http://www.hammaddeler.com/index.php?option=com_content&view=article&id=4626&Itemid=409
- [5] “Un ve Unlu Mamulleri”, Çevre Sağlığı, MEB, Ankara, 20, (2011).
- [6] “Mısır Üretimi”, Türkiye İstatistik Kurumu, (2011)
- [7] Atasayar Sabuncuoğlu S., Baydar T., Giray B., Şahin G., Mikotoksinler, Toksik Etkileri, Degredasyonları, Oluşumlarının Önlenmesi ve Zararlı Etkilerinin Azaltılması, *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 28 (1), 63-92, (2008).
- [8] *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Sim Matbaası, Ankara, 3 (13), 522, (2000).
- [9] Evren, M., “Aflatoksinlerin etki şekilleri, gıdalarda bulunma durumları ve önleme çareleri”, *O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, Samsun, 14 (2), (1999).

- [10] Özkaya Ş., “*Kırmızı Biber ve Aflatoksin*”, Tarım ve Köy işleri Bakanlığı Teşkilatlanma ve Destekleme Genel Müdürlüğü Yayım Dairesi Başkanlığı, (2000).
- [11] Akçadağ F. , “Gıda Maddelerinde Aflatoksin Tayini Yeterlilik Testi Raporu”, Tübitak UME, (2012).
- [12] Ünlütürk A. , Turantaş F., *Gıda Mikrobiyolojisi.*, Ege Üniversitesi Yayınları 3. baskı, İzmir, 606, (2003).
- [13] Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği, Resmî Gazete, Sayı: 28157, (2011).
- [14] Lerda D., “Mycotoxins Factsheet” in *JRC Technical Notes*, 3rd edition, (2010)
- [15] Journal – Association of Official Analytical Chemists, Tunail, N., Funguslar ve Mikotoksinler. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı, 70 (2), 123 – 126, (2000).
- [16] Richard, J. L., “Some major mycotoxins and their mycotoxicoses” – An Overview. *International Journal of Food Microbiology*, 119 (3), 10, (2007).
- [17] Kuruoğlu E., Özçile N., Göçer S., The Determination of Ochratoxin A in Raisin and Fig By High Performance Liquid Chromatography Summary, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 56 (2), 55-59, (1996)
- [18] Süt ve Süt ürünlerinde Ochratoxinler, [online]. (04 Haziran 2012), <http://www.forumfood.net/showthread.php?p=9456>
- [19] Risk Assessment Studies, Ochratoxin A in Food. Centre for Food Safety, Food and Environmental Hygiene Department, The Government of the Hong Kong Special Administrative Region, Report No. 23, (2006).

- [20] Ringot, D., Chango, A., Schneider, Y.J., and Larondelle, Y., Toxicokinetics and Toxicodynamics of Ochratoxin A, an Update. *Chemico-Biological Interactions*, 159, 18–46, (2006).
- [21] Şeker M.E., “Türkiye’de bulunan bazı üzüm türlerinin çekirdeklerindeki E vitamini miktarının HPLC ile tayini”, Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi, Manisa, (2006).
- [22] Price W.D., Lovell R.A. and Mc Chesney D.G., Naturally occurring toxins in science in feedstuffs, 71 2556-2262, (1993).
- [23] Concon J.M., “Contaminants and additives food toxicology part-B”, Mavcel Dekkes, Inc. Newyork, p. 667–743, (1988).
- [24] Denizel T., “A field study of the mycoflora of the major pistachio-producing area of Turkey in relation to potential aflatoxin-producing organisms”, *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych*, 189, 47-53, (1977).
- [25] Pepeljnjak S. and Cvetnic Z., “The mycotoxicological chain and contamination of food by ochratoxin A in the nephropathic and non-nephropathic areas in Yugoslavia, *Mycopathologia*”, 90, 147-153, (1985).
- [26] Langseth W., Ellingsen Y., Nymoen U. and Okland E.M., “High performance liquid chromatographic determination zearalenone and ochratoxin A in cereals and feed”, *Journal of Chromatography*, 478, 269-274, (1989).
- [27] Kaya, S., Yavuz, H. ve Akar, F., “Bazı yağlı tohum küspelerinde mikotoksin kalıntıları”, *Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, Ankara Üniversitesi, 37 (1), 173-180, (1990).
- [28] Anonymous, “Ochratoxin A in cereals and flour, and carry over into retail processed foods”, UK Ministry of Agriculture Fisheries and

Food, FSIS (Food Surveillance Information Sheets), FSIS Number: 95, UK, (1996).

- [29] Gıdalarda Katkı, Kalıntı ve Bileşenlerin İzlenmesi, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Koordinatör kuruluş: Bursa Gıda Teknolojisi Araştırma Enstitüsü, Bursa, 107-130 s. (1996).
- [30] Anonymous, “Survey of aflatoxins and ochratoxin A in cereals and retail products”, UK Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, FSIS (Food Surveillance Information Sheets), (1997).
- [31] Ağaoğlu S., “Van İlinde Açıkta Satılan Kırmızı Pul Biberlerde Aflatoksin B₁ Varlığının Araştırılması”, *Van Tıp Dergisi*, Cilt: 6, Sayı: 4, (1999).
- [32] Karagözlü N., Karapınar M., “Bazı Tahıl ve Ürünlerinde Okratoksin-A ve Fungal Kontaminasyon”, *Journal of Biology*, TÜBİTAK, 24, 561–572 , (2000).
- [33] Demirel M., Yıldırım A., “Van Yöresinde Yetiştirici Şartlarında Depolanan Kaba Yemlerde Aflatoksin Oluşumunun Saptanması”, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.)*, 10(1), 77-83, (2000).
- [34] Puntaric D., Bosnir J., Smit Z., Skes I., Baklaic Z., “Ochratoxin A in Corn and Wheat: Geographical Association with Endemic Nephropathy”, *Public Health*, 42(2), 175-180, (2001).
- [35] A.B.F. Bittencourt , C.A.F. Oliveira , P. Dilkin , B. Correa, “Mycotoxin occurrence in corn meal and flour traded in Sao Paulo, Brazil”, *Food Control* 16,117–120, (2005).
- [36] B. Fazekas , A. Tar and M. Kovács, “Aflatoxin and ochratoxin A content of spices in Hungary”, *Food Additives and Contaminants*, 22(9), 856–863, (2005)

- [37] Yıkılmaz F., “Tekirdağ ilinde satışa sunulan kuru incirlerde aflatoksin varlığı”, Yüksek Lisans Tezi, *Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tekirdağ, (2007).
- [38] Özturan K., Ünsal C., Karakaya Y., Atasever M., Ceylan Z.G., Atasever M., Denirkaya A.K., “Erzurum’da Tüketime Sunulan Buğday Unlarının Toplam Aflatoksin, Aflatoksin.B1 ve Okratoksin A Yönünden İncelenmesi”, *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 2 (4) 172-176, (2007).
- [39] Moreno E.C., Garcia G.T., Ono M.A., Vizoni É, Kawamura O., Hirooka E.Y., Ono E.Y.S. , “Co-occurrence of mycotoxins in corn samples from the Northern region of Paraná State, Brazil”, *Food Chemistry*, 116, 220–226, (2009).
- [40] Karakaya Y., Atasever M., “Mısır Silajında Aflatoksin B1 Varlığının ve Süte Geçme Durumunun Araştırılması”, *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 16, 123-127, (2010).
- [41] Copetti M. V., Lamanaka B. T., Pereira J. L., Lemes D. P., Nakano F., Taniwaki M.H., “Co-occurrence of ochratoxin a and aflatoxins in chocolate marketed in Brazil”, *Food Control*, 26(1), 36-41, (2012).
- [42] L. Alborch, M.R. Bragulat, G. Castellá, M.L. Abarca*, F.J. Cabañes, “Mycobiota and mycotoxin contamination of maize flours and popcorn kernels for human consumption commercialized in Spain”, *Food Microbiology*, 32, 97-103, (2012).
- [43] Skrbic B., Zivancev J., Mladenovic N. Đ., Godula M., “Principal mycotoxins in wheat flour from the Serbian market: Levels and assessment of the exposure by wheat-based products”, *Food Control*, 25, 389 – 396, (2012).
- [44] Georgiadou M., Dimou A., Yanniotis S., Aflatoxin contamination in pistachio nuts: A farm to storage study, *Food Control*, Greece, 26(2), 580-586, (2012).

- [45] J. Z. Ukowska and M. Biziuk , “Methodological Evaluation of Method for Dietary Heavy Metal Intake”, *Journal Of Food Science*, 73 (2), R21-9. (2008).
- [46] Yalçın S.S. , Örün E., Kurşun, Civa, Kadmiyum: Çocuk Sağlığına Etkileri ve Temasın Belirlenmesinde Saç Örneklerinin Kullanımı Ankara Üniversitesi Çevre Bilimleri Dergisi, Cilt: 3, Sayı: 2, 73-81, (2011).
- [47] Bryan, G., “Heavy metal contamination in the sea in: R. Johnston” Mar. Poll. Academic Press mc., London, 185-302, (1976).
- [48] Public Health and Environment World Health Organization 20. Avenue Appia, CH-1211 Geneva-27, Switzerland, WHO, (2010).
- [49] Vural, H., “Ağır metal iyonlarının gıdalarda oluşturduğu kirlilikler”, Çevre Dergisi, 8, 3-8, (1993).
- [50] Amato Okuyan Z. ,Şahin Ü. , “Siyanür Liç Yöntemiyle Yapılan Altın Madenciliğinin İnsan ve Çevre Sağlığı Üzerindeki Etkileri ve Bergama-Ovacık Altın Madeninin Yaratacağı Risklerin Değerlendirilmesi”, Türk Tabipleri Birliği Bergama Raporu, (2001).
- [51] Civa, [online]. (27 Haziran 2012), <http://www.food-info.net/tr/metal/mercury.html>
- [52] Yağmur F. ve Hancı İ. H., Sürekli tıp eğitim dergisi, cilt 11, sayı 7, 250-251, (2002).
- [53] Çağlarırnak N. , Hepçimen A. Z. , “Ağır Metal Toprak Kirliliğinin Gıda Zinciri ve İnsan Sağlığına Etkisi”, Akademik Gıda 8 (2), 31-35, (2010).
- [54] Bakır minerali, [online]. (01 Haziran 2012), <http://www.dengeli.beslenme.net/>

- [55] Bakır, [online]. (01 Haziran 2012), <http://www.food-info.net/tr/min/copper.htm>
- [56] Şener Ş., “Çevre İçin Jeoloji; Ağır Metallerin Çevresel Etkileri”, SDÜ Jeoloji Mühendisliği Bölümü , Isparta, 1 (3), (2010).
- [57] Gümüş, M. N., “Kirmir çayı (Ankara)’nda yaşayan *Capoeta tinca* (Heckel, 1843) (in balığı)’nın biyo-ekolojik özellikleri”, Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, (1996).
- [58] Köse E., “Enne barajında yaşayan balıklarda ağır metal birikiminin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kütahya, (2007).
- [59] Plazma Kaynaklı Emisyon Spektroskopisi, [online]. (07 Temmuz 2012), <http://www.kimyaevi.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx>
- [60] http://www.bayar.edu.tr/besergil/eak_6_kalibrasyon.pdf, [online]. (10 Eylül 2012)
- [61] ICP-MS, [online]. (07 Temmuz 2012), <http://www.jal.itu.edu.tr/Icerik.aspx>
- [62] Roychowdhury T., Tokunaga H., Ando M., “Survey of arsenic and other heavy metals in food composites and drinking water and estimation of dietary intake by the villagers from an arsenic-affected area of West Bengal, India”, *The Science of the Total Environment*, 308, 15–35, (2003).
- [63] Alam M.G.M., Snow E.T., Tanaka A., “Arsenic and heavy metal contamination of vegetables grown in Samta village, Bangladesh”, *The Science of the Total Environment*, 308, 83–96, (2003).
- [64] Ataro A., McCrindle R.I., Botha B.M., McCrindle C.M.E., Ndibewu P.P., “Quantification of trace elements in raw cow’s milk by

- inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)", *Food Chemistry*, 111, 243–248, (2008).
- [65] Chudzinska M., Baralkiewicz D., "Application of ICP-MS method of determination of 15 elements in honey with chemometric approach for the verification of their authenticity", *Food and Chemical Toxicology*, 49, 2741–2749, (2011).
- [66] Herwig N., Stephan K., Panne U., Pritzkow W., Vogl J., "Multi-element screening in milk and feed by SF-ICP-MS", *Food Chemistry*, 124, 1223-1230, (2011).
- [67] Tormen L., Torres D.P., Dittert I.M., Araujo R.G.O., Frescura V. L.A., Curtius A.J., "Rapid assessment of metal contamination in commercial fruit juices by inductively coupled mass spectrometry after a simple dilution", *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 95–102, (2011).
- [68] Llorent-Martinez E.J., Ortega-Barrales P., Fernández-de Córdoba M.L., Dominguez-Vidal A., Ruiz-Medina A., "Investigation by ICP-MS of trace element levels in vegetable edible oils produced in Spain", *Food Chemistry*, 127, 1257–1262, (2011).
- [69] Bressy F.C., Brito G.B., Barbosa I.S., Teixeira L.S.G., Korn M.G.A., "Determination of trace element concentrations in tomato samples at different stages of maturation by ICP OES and ICP-MS following microwave-assisted digestion" , *Microchemical Journal*, Article in press, (2012).
- [70] Llorent-Martínez E.J., Fernández de Córdoba M.L., Ruiz-Medina A., Ortega-Barrales P., "Analysis of 20 trace and minor elements in soy and dairy yogurts by ICP-MS", *Microchemical Journal*, 102, 23–27, (2012)

- [71] Albayrak, A.S., Eroğlu, A., Kalaycı, Ő., SPSS Uygulamalı Çok DeđiŐkenli İstatistik Teknikleri, Asil Yayıncılık, 1.Baskı, Ankara, 115, (2005).
- [72] Bayram N, Sosyal Bilimlerde SPSS ile Veri Analizi, Ezgi Kitap Evi, Bursa, 131, (2004).