

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KURU ÜZÜMDE OKRATOKSİN A VE FUMONİSİN B₂ VARLIĞININ
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zeynep ASLANOĞLU

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Programı

Mayıs 2014

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KURU ÜZÜMDE OKRATOKSİN A VE FUMONİSİN B₂ VARLIĞININ
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Zeynep ASLANOĞLU
(506111525)**

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Z. Dilek HEPERKAN

Mayıs 2014

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506111525 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Zeynep ASLANOĞLU**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**KURU ÜZÜMDE OKRATOKSİN A VE FUMONİSİN B₂ VARLIĞININ İNCELENMESİ**” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Z. Dilek HEPERKAN**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Yrd.Doç.Dr. Funda KARBANCIOĞLU GÜLER**
İstanbul Teknik Üniversitesi

.....
Dr. İmge OKTAY BAŞEĞMEZ
TUBİTAK

Teslim Tarihi : **5 Mayıs 2014**
Savunma Tarihi: **30 Mayıs 2014**

Sevgili Aileme,

ÖNSÖZ

Lisansüstü eğitimim boyunca araştırmamın gerçekleştirilmesi, geliştirilmesi ve değerlendirilmesi konusunda desteklerini esirgemeyen değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Dilek HEPERKAN'a teşekkür ederim. Ar. Gör. Ceren DAŞKAYA DİKMEN'e tüm yardımları için teşekkürü bir borç bilirim.

Maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan çok sevgili annem ve babam Şükran-Zeki ASLANOĞLU, ablam Didem KILINÇARSLAN, başta olmak üzere tüm aileme, arkadaşlarım Mert Şaban ERGİN, Kim HITCHCOCK, Ufuk AYYILDIZ ve Sebahat ÖZAKÇA'ya, kuru üzüm tedariki konusunda yardımlarını esirgemeyen Gülsüm HARPUT, Zeynep CAN, Özlem-Turgay KIZIKLI ve Şükran BAŞAK'a teşekkür ederim.

Mayıs 2014

Zeynep Aslanoğlu
(Gıda Mühendisi)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR.....	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xvii
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ.....	1
2. KURU ÜZÜM.....	3
2.1 Kuru Üzüm Tanımı ve Tarihçesi.....	3
2.2 Kuru Üzüm Üretimi ve Ekonomik Veriler.....	4
2.3 Kuru Üzüm Üretim Basamakları.....	8
2.3.1. Kurutma öncesi muameleler.....	9
2.3.2. Çekirdeksiz kuru üzüm işleme.....	10
2.4.Kuru Üzümde Küf Mikroflorası.....	10
3. OKRATOKSİN A	14
3.1 Okratoksin A Üreticisi Küfler	16
3.2 Okratoksin A' nın Sağlık Üzerine Etkileri	20
3.3 Gıdalarda Okratoksin A Varlığı	23
3.4 Okratoksin A İle İlgili Yasal Düzenlemeler.....	28
3.5 Okratoksin A Analiz Yöntemleri	29
4. FUMONİSİN	32
4.1 Fumoinlerin Sağlık Üzerine Etkileri.....	34
4.2 Fumonisin Üreticisi Küfler.....	35
4.3 Gıdalarda Fumonisin Varlığı.....	36
4.4 Fumonisinler İlgili Yasal Düzenlemeler	42
4.5 Fumonisin Analiz Yöntemleri.....	43
5. MATERYAL VE METOT	46
5.1 Kuru Üzüm Örnekleri.....	46
5.2 Kuru Üzüm Örneklerinde Mikotoksin Tayini	48
5.2.1 Okratoksin A tayini	48
5.2.1.1 OTA standartlarının hazırlanması.....	48
5.2.1.2 Geri kazanım değerinin belirlenmesi.....	48
5.2.1.3 İmmunoaffinite kolonla saflaştırma ile OTA ekstraksiyonu.....	49
5.2.1.4 OTA analizi için HPLC koşulları.....	49
5.2.2 Fumonisin tayini	50
5.2.2.1 Fumonisin B ₁ ve B ₂ standartlarının hazırlanması	50
5.2.2.2 Geri kazanım değerinin belirlenmesi	50
5.2.2.3 İmmunoaffinite kolonla saflaştırma ile fumonisin ekstraksiyonu.....	50
5.2.2.4 Fumonisin B ₁ ve B ₂ analizi için HPLC koşulları	51
6. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	52

6.1 Kuru Üzüm Örneklerinde Okratoksin A ve Fumonisin B ₂ Varlığı	53
7. SONUÇLAR	63
KAYNAKLAR.....	64
EKLER.....	83
ÖZGEÇMİŞ	86

KISALTMALAR

a_w	: Su aktivitesi
BEN	: Balkan Endemik Nefropatisi
EC	: Avrupa Birliği Komisyonu
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenlięi Ajansı
ELISA	: Enzim bağlı immün assay
FB₁₋₆	: Fumonisin B ₁₋₆
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
FT/NIR	: Fourier Dönüşümlü Yakın İnfrared Spektroskopisi
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HPLC/FLD	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi-fluoresans dedektör
IA	: Immunoaffinite
IAK	: Immunoaffinite kolonu
IARC	: Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı
LC	: Sıvı kromatografisi
LC/FLD	: Sıvı kromatografisi-floresans dedektör
LC/MS	: Sıvı kromatografisi-Kütle spektrometrisi
LC/ESI-MS	: Sıvı kromatografisi-Elektrosprey iyonizasyon-Kütle spektrometrisi
MEA	: Malt extract agar
TDI	: Günlük Tolere Edilebilir Limit
TLC	: İnce tabaka kromatografisi
OPA	: Ortofital aldehit
OTA	: Okratoksin A
PBS	: Phosphate buffer saline

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Türkiyedeki üzüm ekim alanı ve kullanımı (DİE,2013).....	5
Çizelge 2.2 : Dünyada çekirdeksiz kuru üzüm miktarları (Anon., 2013).....	6
Çizelge 2.3 : Dünya çekirdeksiz kuru üzüm ihracatı (Anon., 2012).....	6
Çizelge 2.4 : Türkiye Çekirdeksiz Kuru Üzüm İhracatı(Anon.,2012).....	7
Çizelge 3.1: Üzüm ve üzüm ürünlerinde OTA varlığı.....	26
Çizelge 3.2 : Gıdalarda bulunmasına izin verilen Okratoksin A limitleri.....	28
Çizelge 4.1 : Gıdalarda fumonisin varlığı.....	39
Çizelge 4.2 : Fumonisin düzeyleri ile ilgili yasal düzenlenmeler.....	42
Çizelge 5.1: Kuru üzüm örnekleri.....	46
Çizelge 5.2 : Okratoksin A kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması.....	48
Çizelge 5.2 : Fumonisin B ₂ kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması.....	50
Çizelge 6.1 : OTA ve FB ₂ için validasyon değerleri.....	52
Çizelge 6.2 : Kuru üzüm örneklerinde OTA ve FB ₂ varlığı	53
Çizelge 6.3 : Kuru üzüm örneklerinde mikotoksin oranlarının bölgelere göre dağılımı	59

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Dünya yaş üzüm üretimi (FAOSTAT,2012).....	8
Şekil 3.1 : Okratoksin A kimyasal yapısı (Ringot ve diğ., 2006).....	15
Şekil 3.2 : Okratoksin A biyosentezi (Ringot ve diğ.,2006.....	16
Şekil 3.3 : Okratoksin A biyotransformasyonu (Han ve diğ.,2013).....	23
Şekil 4.1 : Fumonisinin kimyasal yapısı (Waskiewicz ve diğ., 2012).....	33

KURU ÜZÜMDE OKRATOKSİN A VE FUMONİSİN B₂ VARLIĞININ İNCELENMESİ

ÖZET

Üzüm (*Vitis vinifera*), iklim ve toprak istekleri yönünden çok seçici olmayışı, çoğalma yöntemlerinin kolay oluşu ve çok çeşitli şekillerde tüketilebilmesi gibi sebeplerden dolayı dünyadaki en yaygın kültür bitkilerinden birisidir. Yüksek besinsel değeri ve yüksek mikro besin içeriği sayesinde milattan önce 1490'dan beri sevilen bir gıda maddesi olmuştur. Kuru üzüm, yüksek şeker içeriğinden dolayı, kalori değeri yüksek bir besin maddesidir. Ayrıca mineral maddelerden kalsiyum, potasyum, sodyum ve demir yönünden zengin olduğu gibi bazı vitaminler (A, B1, B2, Niasin ve C vitaminleri) yönünden de önemli bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Dünyada üretilen üzümlerin her yıl yaklaşık 700-1,200 bin ton arasındaki bir miktarı kurutularak değerlendirilmektedir.

Türkiye, ABD, Şili, İran, Güney Afrika Cumhuriyeti ve Yunanistan dünyanın en önemli çekirdeksiz kuru üzüm üreticisi ülkelerdir. Türkiye Çin, İtalya, Amerika, İspanya, Fransa'dan sonra altıncı yaş üzüm üreticisi ülke olmasının yanı sıra net üzüm ihracatçısıdır. Türkiye kuru üzüm ihracatı yönünden dünyada ilk sıralarda yer almaktadır. Türkiye açısından önemli bir ihraç ürünü olan kuru üzüm, 1996-1997 yılı ürünlerinde İngiltere'de yapılan analizlerde ortaya çıkan OTA varlığından dolayı önemli bir problemle karşı karşıya kalmış ve 1997 yılında ihraç edilen çekirdeksiz kuru üzümlerde büyük bir OTA krizi yaşanmıştır.

Üzüm fungal gelişime hassas olan meyvelerden biridir ve bu zamana kadar yapılan çalışmalar üzüm ve üzüm ürünlerinde en sık rastlanan mikotoksinin OTA olduğunu ortaya koymuştur. OTA *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin belli suşları tarafından üretilen ve çeşitli gıda matrislerinde tespit edilen düşük ağırlıklı bir mikotoksindir. OTA pişirme, kavurma, fermentasyon gibi gıda proseslerine karşı dayanıklıdır. Yani hububat, kavurulmuş kahve, şarap, bira ve hayvan yemi gibi işlenmiş ürünler kontamine olabilmektedir. Yakın zamana kadar sadece mısır, buğday, arpa, çavdar, yulaf, pirinç gibi tahıl ürünlerinde bulunduğu bilinmekteyken günümüzde kuru meyve, yer fıstığı, kahve, kakao, baharatta, şarap, bira ve bazı hayvansal ürünlerde de OTA'ya rastlanmaktadır. Tarımsal ürünlerde OTA oluşumu uygun koşullar bulunduğu takdirde hasattan tüketime kadar hemen her aşamada meydana gelebilmektedir. OTA immünotoksik, teratojenik, nefrotoksik, nörotoksik ve kanserojenik etkilerinden dolayı önemli halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır.

Fumonisinler birçok *Fusarium* türü tarafından üretilen bir mikotoksin olmakla birlikte genel olarak *Fusarium verticillioides* ve *F. proliferatum* tarafından üretilen ve dünya çapında sıklıkla mısır ve mısır ürünlerini kontamine eden mikotoksinlerdir. Yapılan çalışmalarda *Aspergillus niger*' in fumonisin B₂ (FB₂) ve B₄ (FB₄) üretme kapasitesinde olduğu bildirilmiştir. Hububat ve hububat kaynaklı gıda ürünleri için

fumonisin limiti belirlenmiş olmasına rağmen, kuru üzüm için bu limit henüz belirlenmemiştir. Deney hayvanları üzerinde yapılan araştırmalar ve epidemiyolojik çalışma sonuçları incelendiğinde OTA ve FB₂, Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı (IARC) tarafından potansiyel kanserojen (2B) olarak değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada, Anadolu'nun çeşitli bölgelerinden İzmir, Gaziantep, Besni, Kahramanmaraş, Konya, Bingöl illerinden 60 adet 7 farklı türde; Sultana (çekirdeksiz üzüm), Besni (kırmızı çekirdekli iri), Antep (çekirdekli siyah iri), Maraş (çekirdekli siyah küçük), Karaman (çekirdekli iri siyah), Urumu (çekirdekli sarı), Dımışkı (çekirdekli siyah iri) kuru üzüm temin edilmiştir. Üzümlerde OTA ve FB₂ varlığı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar AB ülkelerinde ve Türk Gıda Kodeksi'nde kabul edilen maksimum limitlere göre değerlendirilmiştir.

Kuru üzüm örneklerinde OTA ve FB₂ varlığı yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile araştırılmıştır. OTA ve FB₂ analizi, hazırlanan örneklerin ekstraksiyonu sonrasında immunoaffinite (IA) kolonla saflaştırılan ekstraktların HPLC yöntemi ile analiziyle gerçekleştirilmiştir. Ters faz kolonda OTA ve FB₂ ayrımı sonrasında floresans dedektörle tespit ve tayin gerçekleştirilmiştir.

Kuru üzüm örneklerinin %18,3'ünde 0,22 -5,2639 µg/kg arasında değişen düzeylerde OTA belirlenmiştir. Toplanan 16 adet Besni üzümünden 5 (%31,3) tanesinde sırayla 1.09-1.43-2.67-1.75-0.39 µg/kg, 17 adet Antep üzümünden 5 (%29,4) tanesinde sırasıyla 0.34-0.26-2.63-0.22-1.65 µg/kg, 19 adet Sultana çekirdeksiz üzümünden 1 (%5,3) tanesinde 5.26 µg/kg OTA tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra farklı bölgelerden alınan kuru üzümünden Antep üzümünün 1 tanesinde (%5.8) yani toplam üzümünün %1,6'sında 8.8 µg/kg FB₂ kontaminasyonu tespit edilmiştir.

Kuru üzümde OTA ve FB₂ oluşumunun önlenmesi amacıyla, bağ alanlarında, hasat sırasında ve sonrasında İyi Tarım Uygulamaları (GAP), İyi Üretim Uygulamaları (GMP) ve İyi Hijyen Uygulamaları (GHP) oldukça önemlidir. Üretim esnasında her bir basamağın titizlikle kontrol edilmesi, son ürünün depolama koşullarının uygun olması, mikotoksin analizlerini düzenli olarak uygun yöntemlerle yapılması kontaminasyonların önlenmesinde etkilidir. Kuru üzümde OTA ve FB₂ oluşumunun önüne geçilmesiyle hem halk sağlığı korunur hem de ekonomik kayıplar önlenmiş olur.

DETERMINATION OF OCHRATOXIN A AND FUMONISIN B₂ IN DRIED VINE FRUITS

SUMMARY

Grape (*Vitis vinifera*) consist in the world's most widely cultivated plants because the lack of very selective in terms of climate and soil, the proliferation of methods is easy to create and can be consumed in a variety of ways. Since ancient times, raisins have been valued as a form of preserving grapes so they would last through the winter months and could be more easily stored and transported. Grapes were considered to be a nutritious and healthful food and raisins a good source of energy because of their high sugar content. Thanks to it has got nutritional value and high micro-nutrient content, it has been a nourishment which has liked since 1940 BCE. Grape is a high calorific value nutrient due to high sugar content. Also it has lots of mineral such as calcium, potassium, sodium and iron rich as well as some vitamins such as A, B₁, B₂, niacin and vitamin C. Grapes produced in the world each year in an amount of about 700 to 1.200 tons are evaluated by dried. Sun drying was seen as a natural way to produce raisins that not only gave them a particular intense flavor, but also maintained the delicate balance of nutrients of the original fruit. Some saw this age-old process as an extension of the natural ripening cycle of the grape. Indeed, it is almost certain that raisins and grapes occurred naturally before men intended to cultivate them.

Mycotoxins are toxic secondary metabolites produced by many phytopathogenic and food spoilage fungi, which can cause a variety of adverse effects in humans, from allergic responses to cancer and death. They are low molecular weight secondary metabolites that have adverse effects on humans, animals, and crops that result in illnesses and economic losses, commonly found in various plant and animal origin foods. Distribution of mycotoxin producer fungi quantities in the final product varies depending on climatic factors and food processing conditions. General interest in mycotoxins rose in 1960 when a feed-related mycotoxicosis called turkey X disease, which was later proved to be caused by aflatoxins, appeared in farm animals in England. After this importance of mycotoxins increased all over the world. Turkey, USA, Chile, Iran, South Africa and Greece are the most important countries, producing seedless raisins. Turkey is the sixth grape producers after China, Italy, USA, Spain, France as well as net exporters of grapes. Turkey is world leader for raisin. In 1996-1997 the raisins from Turkey to Britain had been analyzed and the analysing had uncovered OTA in raisins so that led to OTA crisis in raisins occurred which was exported in 1997.

Grape is one of the most perishable fruits for fungal growing. Studies that has been done up to this time presents the mycotoxin is seen in grape is OTA. OTA was originally described as a metabolite of *Aspergillus ochraceus* but, currently, several fungal species belonging to the genera *Aspergillus* and *Penicillium* are known to biosynthesize it. With regard to the first genus, the ochratoxigenic species are included in the *Circumdati* and *Nigri* sections such as *A. ochraceus*, *Aspergillus*

melleus, *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus niger aggregate*. OTA has been reported to be produced by *A. ochraceus*, *A. carbonarius* and *A. niger* as the main producers commonly found in warm climates such as southern Europe and by *Penicillium verrucosum* and *Penicillium nordicum* in more temperate climates. OTA is a mycotoxin mainly low is detected in various food matrices. This toxin is colorless, blue fluorescent crystalline compound and has acidic character; acting as a weak organic acid, and relatively stable to baking, roasting and fermentation, as well as in food products. In dark phase the production is higher than under the light. OTA is resistant to food processes such as baking, roasting and processed products like cereals, roasted coffee, wine, beer and animal feed can be contaminated. Until recently it was known that OTA had only present in corn, wheat, barley, rye, oats, rice, cereal products but now it is known OTA is being also in dried fruit, peanuts, coffee, cocoa, spices, the wine, beer and animal products. In the case that suitable conditions OTA can occur in agricultural products in each step from harvesting to the consumption. OTA constitutes a major public health problem due to immunotoxic, teratogenic, nephrotoxic, neurotoxic and carcinogenic effects.

Ochratoxin A has been shown to be mutagenic, to cause cancer and kidney damage in a number of animal species. Teratogenic, immunotoxic and hepatotoxic effects of ochratoxin A have been determined. Ochratoxin A has been associated with Balkan Endemic Nephropathy. Balkan Endemic Nephropathy is a chronic progressive kidney disease, predominantly affect women, which may lead to death. OchratoxinA has been also linked with the development of urothelial cancer in some human populations. With regard to the animal studies and epidemiological studies on humans, Ochratoxin A has been classified as possible human carcinogen (Group IIB) by International Agency for Research on Cancer (IARC).

Fumonisin are carcinogenic mycotoxins that were originally identified in *Fusarium verticillioides*. *Fusarium proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. oxysporum* and *F. globosum* were found to be able to produce these toxins. A putative gene cluster for fumonisin biosynthesis in the phylogenetically very distantly related fungus *Aspergillus niger*, and fumonisin production has also been proved for several *A. niger* isolates that came from culture collections, coffee beans and grapes. Fumonisin can be divided into structurally distinct groups, four of which have been designated A, B, C and P fumonisins. These fumonisin groups differ in structure by differences in the nitrogen function and by the length of the carbon backbone. In fumonisins A, B and P analogues (FAs, FBs and FPs) the backbone is 20 carbon atoms long, whereas in C type fumonisins (FCs) it is 19 carbon atoms long. 100 different isomers and stereoisomers of fumonisins have been identified. These fumonisins contaminate maize and maize products in the worldwide. Fumonisin B₁ is the most commonly found, in corn (maize) and corn-based foods, beer, milk, rice, sorghum, triticale, cowpea seeds, garlic (powder), garlic bulbs, onion powder, black radish, figs, black tea, beans, soybeans and asparagus. Some industrially important strains of *Aspergillus niger* were reported to produce, in addition to ochratoxin A, the mycotoxin fumonisin B₂. It has also been shown that strains of *A. niger* from coffee beans and raisins produced both fumonisin B₂ and fumonisin B₄. *A. niger* is produced fumonisin B₂ from grape. *A. niger* strains isolated from raisins are capable of producing both fumonisin B₂ and fumonisin B₄ when cultured on either grapes or raisins. Although the fumonisin limit is determined for cereals and cereal products, this limit has not been established for the raisins. When studies on experimental animals and epidemiological study results have been analyzed, International Agency for Research on Cancer evaluated that OTA and FB₂ are potential carcinogen (2B).

Fumonisin may be involved in esophageal cancer in South Africa, and have been shown to be involved in leukoencephalomalacia in horses, pulmonary edema in pigs, and cancer and neural tube defects in experimental rodents.

In this study, 60 samples in five different types of dried vine fruits, Antep, Sultana, Besni, Maraş, Karaman, Urumu, Dımışkı were supplied from the regions of Anatolia such as İzmir, Gaziantep, Besni, Kahramanmaraş, Konya, Bingöl. The presence of OTA in grapes and FB₂ were examined. The results obtained in the EU and the Turkish Food Codex had been evaluated according to the accepted maximum limit.

An analytical method based on immunoaffinity column clean-up and high performance liquid-chromatography with fluorimetric detection was used to determine the occurrence of OTA and FB₂ in dried vine fruits and sultanas. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) for OTA were 0,2 µg/kg, 0,26 µg/kg respectively and the recovery value was %86,3. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) for FB₂ were 8 µg/kg, 8,63 µg/kg respectively and the recovery value was %75,5. In order to minimize public health risk, the European Commission and Turkish Food Codex established a maximum level of 10 µg/kg for OTA in dried vine fruits.

The presence of OTA and FB₂ in the samples was explored by high performance liquid chromatography method. Following extraction of the samples prepared immunoaffinity (IA) of the extract purified by column, The analysis of OTA and FB₂ was performed by HPLC method. After the separation of OTA and FB₂ are detected by reversed phase column assays were performed by detectors. OTA was determined at levels from 0.22-5.2639 0.22 µg/kg in 18,3% of the samples. OTA was detected in 5 (31.3%) of gathered 1 Besni, 1.09-1.43-2.67-1.75-0.39 µg/kg, in 5(29.4%) of 17 Antep, 0.34-0.26-2.63-0.22-1.65 µg/kg, in 1(5,3%) of 19 Sultana, 5.26 µg/kg. In addition, FB₂ was found in 1 sample (1,6%) sample in Antep raisin (5.5%) in the content of 8.8 µg/kg.

The percentage of contamination in the sample from Southeastern Anatolia Region was remarkably high when comparing to the other regions such as Aegean, Central Anatolia and The Mediterranean. Taking precautions in Southeastern Anatolia region is very significant for public health.

In order to prevent the formation of OTA and FB₂ in raisins, during and after harvest of Good Agricultural Practices (GAP), Good Manufacturing Practices (GMP) and Good Hygiene Practices (GHP) are very important. Preventing OTA and FB₂ formation in dried vine fruits, both public health is protected and economic losses can be avoided. Raw material control, good agricultural practices (GAP), good manufacturing practices (GMP), good hygiene practices (GHP) are necessary in vineyards, during harvesting and post harvesting phases, in order to prevent OTA and fumonisin B₂. While producing raisins, it is vitally important to prevent contamination in raw material to prevent OTA and fumonisin B₂. Contamination being detected indicates that good agricultural practices haven't been used or contaminated grapes have been used. Good agricultural practices contain setting up vineyards, pruning, soil cultivation, watering, applying hormones, plant protection and harvesting process. Each of these stages should be controlled carefully. In vineyards, during harvesting and post harvesting, occurrence of OTA and fumonisin B₂ can be prevented using good manufacturing practices. During production, every step should be controlled meticulously and storage conditions should be proper to regular micotoxine analysis work in order to prevent contamination. Preventing OTA and fumonisin B₂ is necessary in terms of protecting health and preventing economic losses.

1. GİRİŞ

Mikotoksinler küfler tarafından doğal olarak üretilen ikincil metabolitlerdir, gıdalardaki haliyle insanları yemlerdeki haliyle hayvanları etkiler. Hasat sırasında veya depolama sırasında oluşur; fındık, mısır, pirinç ve diğer çeşitli hububatlarda bulunmaktadır. Gıda maddelerinde hasat öncesi, hasat sonrası veya proses sırasında, depolama sırasında bulaşarak gıdanın kalitesini olumsuz etkiler. Gıda ve yemlerdeki mikotoksin kontamasyonu ciddi sağlık problemlerine neden olmakla birlikte Afrika , Asya ve Latin Amerika gibi ticaret dengesini ihracat ürünleriyle sağlayan ülkelerde ciddi ekonomik sorunlar oluşturmaktadır (Rocha ve diğ. 2014). Mikotoksin ile kontamine olmuş yemlerin hayvanlar tarafından tüketilmesi ile hayvan gelişimi üzerine yan etkisi olmakta ayrıca yeniden imalat gerektirdiği için çiftçiler üzerinde milyar dolar kayıplara sebep olmaktadır. Sağlık ve veteriner maliyetleri artar, ölümler meydana gelir hayvansal üretim azalır. Kontamine ürünleri imha etme ve mikotoksin probleminin şiddetini çözmek için yapılacak yatırımlar mikotoksinlerin ekonomik etkileri arasındadır (Chassy, 2010).

Üzüm tarihteki en eski çapa ürünlerdendir. Kökeni milattan önce 6000 yıllarında , Karadeniz ile Hazar Denizi arasındaki Anadolu bölgesine dayanmaktadır. Bu bölge *Vitis vinifera*'nın evidir, üzüm burada hakim olan ticari bir üründür. Üzüm buradan Avrupa'ya, İspanyol gezginler tarafından ise Amerika'ya yayılmıştır. Üzümler taze tüketim için yetiştirilir, kuru üzüm olarak kurutulup tüketilir, şarap ve meyve suyu yapımı için ezilir. Dünya çapında tahmini olarak 19,000,000 dönüm alana ekilidir (Bentley ve diğ., 2007). Üzüm fungal gelişmeye hassas olan meyvelerden biridir ve bu zamana kadar yapılan çalışmalar üzüm ve üzüm ürünlerinde en sık rastlanan mikotoksinin OTA olduğunu ortaya koymuştur. Kurutulmuş üzüm çeşitleri sağlıklı gıdalar olarak bilinmekte ve aynı zamanda müsli, bisküvi, kek ve diğer gıda

maddelerinde bileşen olarak yer almaktadırlar (Şen ve Nas, 2010). Ülkemizde, 1200'ün üzerinde üzüm çeşidinin varlığı saptanmıştır. Üretilen üzümün, yılları itibariyle değişmekle beraber, ortalama % 5-10'unun kurutulduğu tahmin edilmektedir. Türkiye'nin dünya ticaretine konu olan ve ihracatta en fazla öneme sahip kuru üzümleri, çekirdeksiz ve özellikle "Sultani" tip kuru üzümlerdir. Nefaset yönüyle sultanlara layık görüldüğünden sultan sofralarını süslemesi nedeniyle sultaniye adını almıştır. Ülkemizde çekirdeksiz kuru üzüm üretimi, Ege bölgesinde özellikle Manisa, Turgutlu, Salihli, Akhisar, Menemen, Kemalpaşa, Çal ve Çivril'de yoğunlaşmıştır (Anon, 2012).

OTA *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri tarafından üretilen çeşitli gıdaları etkileyen ikincil toksik bir metabolittir. Çoğu hayvan türünü ve insanları etkileyen potansiyel nefrotoksin, kanserojen ve teratojen kabul edilmektedir (Perşi ve diğ., 2014). Mısır, buğday, pirinç, yulaf ve arpa gibi temel hububatlarda, kuru meyveler, bira, şarap, bebek ürünleri ve çeşitli tarım ürünlerinde bulunmaktadır; insan kanı, idrar, ve anne sütü gibi biyolojik örneklerde de tespit edilmiştir (Nguyen ve Ryu, 2013). Pişirme, kavurma, fermentasyon gibi gıda proseslerine karşı dayanıklıdır. Hububat, kavrulmuş kahve, şarap, bira ve hayvan yemi gibi işlenmiş ürünlerde hala varlığını devam ettirmektedir (Novo ve diğ.,2013). Fumonisinler genel olarak *Fusarium verticillioides* ve *F. proliferatum* tarafından üretilen ve sıklıkla mısır ve mısır ürünlerini kontamine eden mikotoksinlerdir (Perrone ve diğ., 2013). Fumonisinlerin atlarda kontamine olmuş yem tüketimine bağlı olarak beyin hücrelerinde ölüm ve lezyonlara yol açtığı, domuzlarda akciğer ödemlerine, farelerde karaciğer kanserini tetikleyici etki gösterdiği belirlenmiştir. (Scott,2012). ABD'de 1989 ve 1990 yıllarında buğday ile beslenen at ve domuzlarda görülen salgınlar, tüm dünyada buğdayda fumonisinin ölçülebilir konsantrasyonlarda bulunması ve *Fusarium spp.*'den kaynaklanan bu fungal toksinin yemek borusu kanseri ile ilintili olduğunun bulunması, fumonisin ve *Fusarium* çalışmalarında büyük patlamaya neden olmuştur (Köseoğlu,2008). Ayrıca çeşitli hayvan türleri üzerine karsinojenik, hepatoksik, nefrotoksik ve embriyotoksik etkileri saptanmıştır (Scott, 2012). Okratoksin A ve fumonisinler Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından 2B sınıfı kanserojen olarak değerlendirilmektedir (IARC, 1993). Bu çalışmada, Türkiye'nin farklı bölgelerinde üretilmiş farklı türden kuru üzüm örneklerinde okratoksin A ve fumonisin B₂ varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. KURU ÜZÜM

2.1 Kuru Üzüm Tanımı ve Tarihçesi

Antik zamanlardan beri, kuru üzüm, üzümü koruma formu olarak değerlendirilmiş, kış ayları boyunca muhafaza edilip, kolayca depolanıp, taşınabilmiştir (Fouskaki ve diğ., 2003). Üzüm asmagiller (*Vitaceae*) familyasının *Vitis* cinsinde yer alan asma bitkilerinin (özellikle de *Vitis vinifera*'nın) salkım halindeki tatlı ve sulu meyvesidir (Miran ve diğ., 2013). Kuru üzüm, yüksek şeker içeriğinden dolayı, kalori değeri yüksek bir besin maddesidir. Ayrıca mineral maddelerden kalsiyum, potasyum, sodyum ve demir yönünden zengin olduğu gibi bazı vitaminler (A, B1, B2, Niasin ve C vitaminleri) yönünden de önemli bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Bazı karaciğer hastalıkları ve kansızlığın tedavisinde etkili olan üzüm, hipertansiyonu da kontrol altında tutmaktadır. Ayrıca içerdiği meyve asitleri ve lifli yapısı ile mideye zarar vermeden böbrek ve bağırsak sisteminin çalışmasını düzenler, kanın temizlenmesine yardımcı olur. Diğer yandan, yüksek kalori içeriğine karşın, çok düşük miktarlarda yağ ve protein içerdiğinden ideal bir diyet besinidir (Ünal,2009).

İlk olarak Fenikeliler ve Mısırlılar, kolay depolama ve taşıma ile üretimi yaygınlaştırmış böylece kuru üzüm batı dünyasına doğru yayılmıştır. Üretimin Akdenizden Avrupa doğrultusunda geçişi bu alanlarda çok miktarda bağ bulunmasına ilişkilidir (Williamson ve diğ., 2010). Üzüm tarımı ise ilk olarak Ermenistan, İran ve Fenike'nin de içinde bulunduğu Akdeniz'in doğu kesimlerinde başlamıştır. Üzüm Anadolu için de önemlidir ; Hititler düzenli olarak tanrılarına üzüm sunmuşlardır. Yakın Doğu'da (Hindistan ve Akdeniz arasındaki güneybatı Asya ülkeleri) ise kuru üzüm, yaş üzümünün çöl kumuna gömülmesiyle elde edilmektedir. Bağcılık neredeyse Kuzey Afrika'daki Fırat-Dicle bölgesine kadar ulaşmıştır. Üzüm, Uzak Doğu, Fas ve Tunus gibi Kuzey Afrika'nın diğer kısmına da yayılmıştır. Antik Roma'da kuru üzüm toplumun her tabakası tarafından çok fazla tüketilmiş, yemeklerin büyük bir kısmını oluşturmuştur, zeytin ve ekmeğin yanında tüketilmiştir. Romalılar en tatlı ve en iri taneleri kurutmak için seçip içki törenlerinde

menünün ana parçası olarak sunmuşlardır. Romalı doktorlar kuru üzümün tıbbi özelliklerini geliştirmiş, çeşitli hastalıkların iyileştirilmesinde kür olarak kullanmışlardır. Kuru üzüm ayrıca başarılı atletlere ödül olarak sunulmuştur. Roma lejyonierlerin yardımıyla, asma ve asma ürünleri imparatorluğa kadar ulaşmış elzem bir gıdadır. 200 yıl süren Haçlı Seferleri süresince, Avrupa ve Doğu arasındaki ticaret gelişmiş , böylece kuru üzümün popülaritesi artmıştır, seyahat eden askerler tarafından değerlendirilmiştir. Keşif çağına gelindiğinde bu ürün çok önemli olmaya başlamıştır. Bilhassa İspanya 13. yy sonlarına doğru kuru üzüm ihracatına başlamıştır. Kısa bir süre sonra, 14. yy İngiltere’inde popüler lüks bir gıda haline gelmiştir. Kraliçe I. Elizabeth döneminde, Frenk üzümü para olarak kullanılmıştır. 1700’lü yıllarda Avrupa, Afrika, Amerika üç ülke ticaretinde bütünleştirici rol oynamıştır. Modern Avrupalılar kuru üzümü enerji kaynağı yüksek olan bir besin olarak değerlendirmiş. İkinci dünya savaşı sırasında askerler için ideal bir gıda maddesi olduğu görülüp, yumurta ve şeker miktarının az olduğu ekmeklere ilave edilerek tüketilmiştir (Carughi, 2008).

2.2 Kuru Üzüm Ekonomik Veriler

Devlet İstatistik Kurumu verilerine göre Türkiye’de üzüm ekim alanı ve kullanımı Çizelge 2.1’de gösterilmiştir (DİE, 2013). Ülkemiz dünyada en büyük çekirdeksiz kuru üzüm üreticisi ve ihracatçısı konumundadır. Dünyadaki çekirdeksiz kuru üzüm ihracatının % 35-50’ini gerçekleştiren ülkemiz, dünya çekirdeksiz kuru üzüm fiyatlarının oluşmasında önemli etkiye sahiptir. 2011/2012 sezonu verilerine göre, dünya üretiminin %24,8’ini Türkiye gerçekleştirmektedir, ABD, İran Hindistan ve Çin üretimdeki payları sırasıyla, %24,89, %12,45, %12,45, %11,06’dır. Dünya çekirdeksiz kuru üzüm rekoltesi 650-1085 bin ton civarında gerçekleşmektedir. Son beş yıl ortalamasına göre dünya çekirdeksiz kuru üzüm üretimi yaklaşık 725 bin tondur (Çin ve Hindistan hariç). Çekirdeksiz kuru üzüm üretiminde iklim koşullarına bağlı olarak zaman zaman büyük azalmalar veya artışlar da yaşanabilmektedir. Son iki yılda Çin, Hindistan ve Özbekistan verileri de eklendiğinde bin tonun üzerine çıkmıştır (Anon. 2013). Çizelge2.2’de Dünyada çekirdeksiz kuru üzüm miktarları gösterilmiştir.

Çizelge 2.1: Türkiye’de üzüm ekim alanı ve kullanımı (DİE, 2013).

Yıl	ToplamAlan (Dekar)	Üretim (Ton)	Sofralık	Kurutmalık	Şaraplık
1988	5 900 000	3 350 000	-	-	-
1989	5 970 000	3 430 000	-	-	-
1990	5 800 000	3 500 000	-	-	-
1991	5 860 000	3 600 000	-	-	-
1992	5 760 000	3 450 000	-	-	-
1993	5 670 000	3 700 000	-	-	-
1994	5 670 000	3 450 000	-	-	-
1995	5 650 000	3 550 000	-	-	-
1996	5 600 000	3 700 000	-	-	-
1997	5 450 000	3 700 000	-	-	-
1998	5 410 000	3 600 000	-	-	-
1999	5 350 000	3 400 000	-	-	-
2000	5 350 000	3 600 000	-	-	-
2001	5 250 000	3 250 000	-	-	-
2002	5 300 000	3 500 000	-	-	-
2003	5 300 000	3 600 000	-	-	-
2004	5 200 000	3 500 000	1 900 000	1 230 000	370 000
2005	5 160 000	3 850 000	2 000 000	1 400 000	450 000
2006	5 138 351	4 000 063	2 060 167	1 495 697	444 199
2007	4 846 097	3 612 781	1 912 539	1 217 950	482 292
2008	4 827 887	3 918 442	1 970 686	1 477 471	470 285
2009	4 790 239	4 264 720	2 256 845	1 531 987	475 888
2010	4 777 856	4 255 000	2 249 530	1 543 962	461 508
2011	4 725 454	4 296 351	2 268 967	1 562 064	465 320
2012	4 622 959	4 185 126	2 170 634	1 613 833	400 659

Çizelge 2.2: Dünyada çekirdeksiz kuru üzüm miktarları BinTon (Anon. 2013).

Ülkeler	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13
Türkiye	225	310.0	270.0	249.0	269.0	286,57
A.B.D	241	255.0	243.0	259,0	270,0	248,27
İran	70	50.0	100.0	135,0	135,0	135,00
Şili	25	50.0	64.0	60,0	62,0	83,00
Arjantin	27	26.0	28.0	30,0	40,0	26,00
G.Afrika	29	28.0	17.0	29,0	19,0	19,20
Avustralya	15	9.0	14.0	12,0	5,0	10,60
Yunanistan	5	-	5.0	5,0	5,0	5,00
Çin	*-	*-	*-	130,0	120,0	150,00
Hindistan	*-	*-	*-	120,0	135,0	125,00
Özbekistan	*-	*-	*-	25,0	25,0	25,00
TOPLAM	637	728.0	741.0	1.053.0	1.085.0	1.113,64

*: Çin,Hindistan ve Özbekistan'dan veriler alınmamıştır.

Ülkemizde üretilen üzümün yaklaşık 2/3'ü çekirdekli 1/3'ü ise çekirdeksiz üzümden oluşmaktadır. Bölgelerimize göre üretim incelendiğinde ise Ege Bölgesinde çekirdeksiz kuru üzüm, Marmara Bölgesinde sofralık ve şaraplık, Akdeniz Bölgesinde ilk turfanda, Orta Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde şaraplık, şıralık, sofralık, çekirdekli kurutmalık üzüm yetiştiriciliğinin gelişme gösterdiği görülmektedir. Ülkemizde üretilen üzümlerin yaklaşık %30'u sofralık, %35'si kurutmalık % 30'u pekmez, pestil, sucuk, şıra ve %5'de şaraplık olarak değerlendirilmektedir. Bugün Türkiye' de ihracata yönelik sofralık üzüm üretimi bakımından ilk sırayı çekirdeksiz üzüm almaktadır. Türkiye'de üzüm ihracatının %95'ini sultani çekirdeksiz üzüm oluşturmaktadır (Anon, 2013).

Dünya Çekirdeksiz Kuru Üzüm ihracatına ilişkin veriler incelendiğinde ülkemizin %25'lik pay ile birinci sırada yer aldığı, ülkemizi sırasıyla A.B.D (%20), İran (%19) ve Şili'nin (%8) takip ettiği görülmektedir (Çizelge 2.3). Sektörde başta Almanya ve Hollanda olmak üzere bazı ülkelerin re-export uygulamalarına yaygın olarak rastlanmaktadır (Anon, 2012).

Çizelge 2.3: Dünya Çekirdeksiz Kuru Üzüm İhracatı (Bin\$) (Anon, 2012).

Ülkeler	2009	2010	Pay(%)	Değişim(%)
Türkiye	407.512	417.598	24,6	2,5
A.B.D	290.698	331.814	19,6	14,1
İran	-	318.879	18,8	-
Şili	118.568	141.392	8,3	19,2
Güney Amerika	47.757	79.902	4,7	74,6

Çizelge 2.3: Dünya Çekirdeksiz Kuru Üzüm İhracatı(Bin\$) (Anon,2012) devamı.

ÇinHalk Cumhuriyeti	65.311	69.960	4,1	7,1
Yunanistan	56,302	55,623	3,3	-1,2
Afganistan	53.359	52.527	3,1	-1,6
Arjantin	32.382	46.962	2,8	45,0
Özbekistan	26.079	26.629	1,6	2,1
Genel Toplam	1.318.407	1.695.681	100,0	28,6

Türkiye'nin kuru üzüm ihracatının hemen hemen tamamını çekirdeksiz kuru üzümler oluşturmaktadır. Türkiye'nin 2010 yılı kuru üzüm ihracatı 417 milyon dolar olarak gerçekleşmiş olup, 2011 yılında ise bir önceki yıla oranla %21'lik artış ile bu rakam 506 milyon dolara yükselmiştir (Anon, 2012).

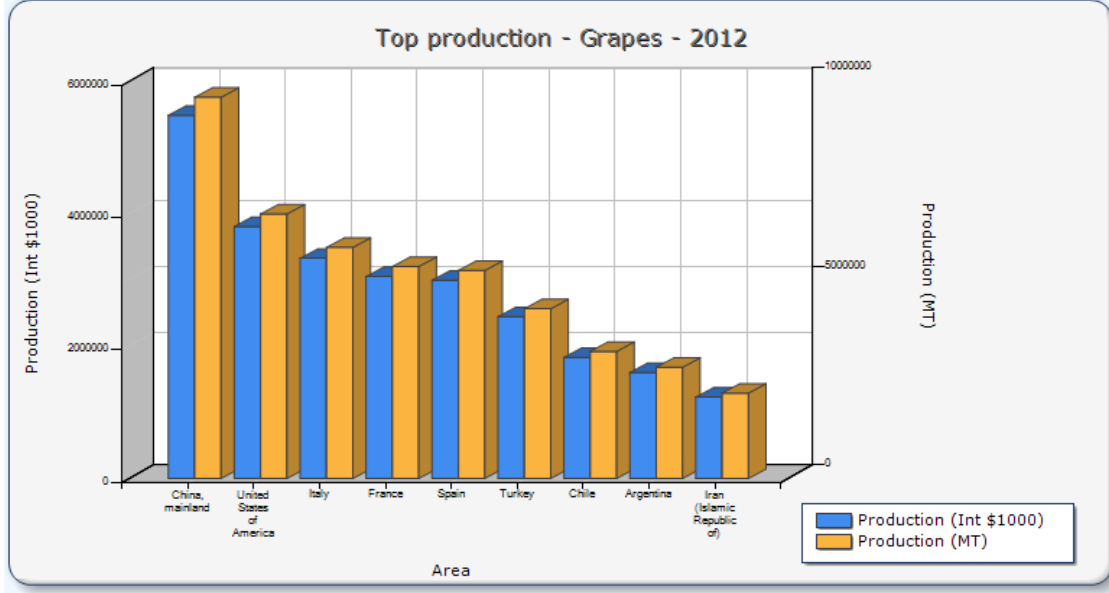
Ülkemizde üretilen çekirdeksiz kuru üzümün yaklaşık % 90'i ihraç edilmektedir. Ülkemizdeki ihracatın büyük bir bölümü AB ülkelerine yapılmaktadır. Çekirdeksiz kuru üzüm yıllık 400-500 milyon Dolar döviz geliri ile tarımsal ürünler bazında ilk üç sıra içerisinde yer alan önemli ihraç ürünlerindendir (Anon, 2013).

Ülkeler itibariyle Türkiye'nin çekirdeksiz kuru üzüm ihracatına bakıldığında, en önemli ihraç pazarlarımızın, başta İngiltere, Almanya, Hollanda ve İtalya olmak üzere AB ülkeleri olduğu görülmektedir. Bu ülkeler, Türkiye'den ithal ettikleri kuru üzümlerin bir kısmını yeniden ihraç ederek değerlendirme yoluna gitmektedirler. (Anon,2012). Çizelge 2.4'te Türkiye'nin çekirdeksiz kuru üzüm ihracatı gösterilmiştir.

Çizelge 2.4: Türkiye'nin çekirdeksiz kuru üzüm ihracatı (Anon, 2012).

Ülkeler	2010		2011		%Değişim	%Pay
	Miktar(Ton)	Değer(Bin\$)	Miktar(Ton)	Değer(Bin\$)		
İngiltere	57.968	113.001	59.550	141.398	25,1	27,9
Almanya	36.381	72.677	38.827	92.344	27,1	18,2
Hollanda	27.898	54.868	24.442	57.568	4,9	11,4
İtalya	16.944	33.866	16.701	39.105	15,5	7,7
Fransa	15.119	29.911	14.251	33.963	13,5	6,7
Avustralya	8.733	17.079	13.233	30.404	78,0	6,0
Belçika	10.361	19.978	10.404	24.386	22,1	4,8
Kanada	4.954	9.205	5.982	13.764	49,5	2,7
İspanya	3.398	6.320	3.941	9.405	48,8	1,9
İrlanda	4.620	8.668	4.122	9.146	5,5	1,8
GenelToplam	212,628	417.546	214.108	506.493	21,3	100,0

FAOSTAT 2012 verilerine göre dünyada üzüm üretiminde lider ülke Çin olmakla birlikte ikinci sırada ABD bulunmaktadır, Türkiye ise dünyada yaş üzüm üretiminde altıncı sırada yer almaktadır. (Şekil 2.1)



Şekil 2.1: Dünya yaş üzüm üretimi (FAOSTAT, 2012).

2.3 Kuru Üzüm Üretim Basamakları

Türk çekirdeksiz kuru üzüm standardına göre T.S. 3411, çekirdeksiz kuru üzüm çeşitleri; güneşte kurutulmuş, ağartılmış veya ağartılmamış kuru üzümlerdir. Kuru üzümler yaş üzümlerin kuru üzüm üretimteknğine uygun olarak güneşte kurutulmuş, ağartılmış veya ağartılmamış seklidir. Natürel çekirdeksiz kuru üzüm ya hiçbir işlem görmeden ya da tabii renk ve yapısını korumak ve çabuk kurumasını sağlamak için, bandırma çözeltisine bandırılıp tekniğine uygun olarak güneşte kurutulmuş üzümdür. Ağartılmış çekirdeksiz kuru üzüm ise kurutulma öncesi veya sonrası kimyasal yollarla ağartılan kuru üzümdür (Çelik, 2008). Ağartılmamış çekirdeksiz kuru üzümler genellikle ön işlem uygulamadan veya bandırma çözeltisi kullanılmadan üretilir böylece kendi renk ve yapısını korur. Kuru üzümler için en önemli kalite kriterleri renk, boyut ve temizliktir. Bu kalite kriterleri hasat olgunluğu, bandırma çözeltisi, bandırma prosesi, kurutma alanı, kurutma sırasında yağış alma gibi çeşitli faktörler tarafından etkilenmektedir. Kurutmalık üzümlerdeki olgunluk miktarının verimlilik ve kuru üzüm kalitesine doğrudan etkisi vardır. Kuru üzüm kalitesi ve

verimliliği yaş üzümde suda çözünebilen mevcut katı maddelerin miktarının artmasıyla artmaktadır. Çekirdeksiz üzümlerde suda çözünebilen katı madde miktarı %22-23'e ulaştığı zaman hasat başlatılır. Üzüm toplama için geleneksel üzüm sepetleri kullanılır. Hasarlı ve çürümüş taneler ayıklanıp atıldıktan sonra kalan üzümler konteynırlar içinde kurutma bölgelerine taşınır (Türkben, Çetin, 2008). Ege Bölgesinde üretilen çekirdeksiz üzümün neredeyse tamamı ya doğal olarak yere serilerek kurutulur ya da potasyum tuzuna (K_2CO_3) ardından zeytinyağına batırılıp çelik teller üzerinde kurutulurken Doğu Anadolu tarafında (genellikle çekirdekli) üzümler direkt örtü üzerinde veya yerde kurutulmaktadır. Ek olarak açık sarı kuru üzümlerde ise kükürt dioksit (SO_2) ile yapılan fumigasyon işlemi sonucu karakteristik altın renk oluşur. Türk üreticiler güneşte kurutulmuş üzümleri daldırma çözeltisine batırmadan üretmeye başlamışlardır (Çalışır ve Akman, 2007)

2.3.1 Kurutma öncesi muameleler

Hasat edilen üzümler daha hızlı kurutma sağlamak ve sarı rengi oluşturmak için potasyum solüsyonuna (100 litre su, 5-8 kg K_2CO_3 , %2-4 oranında asitlendirilmiş 0.6-0.9 kg zeytinyağı) batırılır. Bandırılmış üzümler süzülüp kurutma bölgesine taşınır (Türkben ve Çetin, 2008). Meyveler üzerindeki ince yapılı mum birikimi, çıplak göze toz kaplanmış hissi veren küçük kristaller meyve pusu olarak adlandırılır ve genelde meyveye donuk bir görüntü verir. Mum kristallerinin şekli ve mumun kimyasal bileşimi meyvenin görünüşünü belirlemede önemli rol oynar. Bitkisel mumlar, normal sıcaklıkta katı haldedirler ve bir değerli alifatik, nadir olarak aromatik alkollerin yağ asitleri ile vermiş oldukları esterlerdir. Doğal mumlar, az miktarda serbest yağ asitlerini de içerirler. Mum tabakası, bitkiden transpirasyonla su kaybını azaltır, fitopatojenlerin girişini engeller, bitki dokularını fiziksel aşınmadan korur, yağışların yüzeyden süzülmesini sağlar (Türkben, 2007). Gerek çekirdekli ve gerekse çekirdeksiz üzüm çeşitlerinin kurutulmasında kullanılan bandırma yönteminde amaç üzüm tanesi üzerindeki mumsu pus tabakasının uzaklaştırılıp bir miktar çatlama sağlayarak tanenin su kaybını hızlandırmak suretiyle kurumanın çabuklaştırılması ve iyi bir renk elde edilmesidir. Bandırma sıvısı olarak potasa denilen potasyum karbonat ile buna zeytinyağı ilave edilmiş şekli, bazen de küllü su-zeytinyağı karışımı kullanılmaktadır. Bandırma işlemine tabi tutulan üzümler toprak, kağıt, beton veya tel sergi yerlerinde kurutulmaktadır (Ünal, 2009). Ülkemizde

üzümler genellikle beton döşeme zemin ya da toprak üzerine serilen kağıt ya da propilen brandalara yayılarak doğal olarak kurutulur. Yerde kurutmaya ek olarak tel çitler üzerinde de kurutma yapılabilir. Bu kurutma işlemi yerde kurutma işlemine göre 3-5 gün daha uzun sürse de daha temiz olmaktadır. Bu sistemin başka bir avantajı ise yağmurlu günlerde çitlerin üzeri plastik çadırlar ile kaplanıp yağmurdan gelecek zarar minimuma indirilmektedir. Temizlik ve renk kuru üzüm kalitesini belirleyen en önemli iki kriterdir. Bu kriterlere ulaşmak için üzümler yapay nem tutucular ile kurutulabilmektedir (Türkben ve Çetin, 2008).

2.3.2 Çekirdeksiz kuru üzüm işleme

Kurutulmuş üzümler ya sabahın erken saatlerinde ya da gece geç saatlerde toplanır. Mekanik üfleyiciler ile temizlenir. Temizlenen üzümler 50'şer kiloluk çuval veya propilen çantalara yerleştirilir. Üzümler ihraç edilecek ülkelerin isteklerine göre proses edilir. Toz, toprak ve üzüm sapları basınçlı sular ile yıkanıp üzümler tekrar kurutulur. Temizlenmiş kuru üzümler hem ağartılması hemde küflerin inhibe edilmesi amacıyla fumigasyon işlemi uygulanır ve yağlanır, ithalatçı ülkelerin tercihleri doğrultusunda sınıflandırılıp paketlenir. Bazı ithalatçı firmalar kaliteyi devam ettirmek için genellikle vakum paketli olan polietilen astarlı karton kutular ve kıvrımlı karton kutular tercih ederler. Ülkemizde çekirdeksiz kuru üzümler ya toptan ya da 2 kg'lık paketler halinde ihraç edilir (Türkben ve Çetin, 2008). Kaliteli çekirdeksiz kuru üzüm elde edilmesinde; üzümlerin hasadı, kurutulması ve temizlenmesi önem kazanmaktadır. Ayrıca üzümlerin olgunluk durumları içerdikleri şeker miktarının da bir ölçüsü olup kuru üzüm randımanını belirlemede etkili olmaktadır. Üzümlerin yeterince olgunlaşmadan hasat edilmeleri durumunda tanede yeteri kadar şeker birikmesi gerçekleşmeyeceğinden kuru üzüm randımanı düşük olabilmektedir. Temizleme işlemi ile kalitesiz üzüm tanelerinin yığından ayrılması ile ürün kalitesi iyileştirilmektedir (Çelik, 2008).

2.4 Üzümde Küf Mikroflorası

Meyveler yüksek miktarda şeker ve besin maddeleri içermekte olup, mikrobiyal gelişim için ideal su aktivitesi a_w ve düşük pH'a sahip oldukları için fungal bozulmalara karşı da hassas durumdadırlar. Meyvelerdeki düşük pH bakteriyel türlerin rekabetini sınırlandırdığı için, meyvelerde küf kontaminasyonu ve çoğalması daha yoğun olmaktadır. Bazı patojen funguslar meyveyi çürütme işlemine tarladan

başlamakta bazıları ise tarlada meyveye bulaşıp hasat sonrası çoğalıp çürüme meydana getirmektedir. Meyvelerdeki fungal çürümeler; ekim, hasat, taşıma, ulaşım ve hasat sonrası depolama ve pazarlama koşullarına bağlıdır. Hasat sonrası mikrobiyal bozulmalar, dikkatli ayıklama, düşük sıcaklıkta depolama veya kontrollü atmosferde depolama ile engellenebilmektedir (Tournas ve Katsoudas, 2005).

Üzümlerden izole edilen mikroorganizmaları tanımlamak ve küflerin karakterizasyonu amacıyla makroskobik ve mikroskobik gözlemler kullanılmaktadır (Rousseaux ve diğ., 2014). Yapılan bir çalışmada Güney Fransa'daki üzümlerden otuz tür izole edilip tanımlanmıştır. Genel olarak dominant türlerin *Alternaria*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* ve *Rhizopus* olduğu görülmüştür (Sage ve diğ., 2002). Fungal istila üzümün olgunluğu ve çevresel şartlara bağlıdır. Sıcak iklimlerde olgunlaşmanın ilk basamağında *Botrytis* ve *Rhizopus* miktarı çoktur, *Aspergillus* ve *Penicillium* miktarları ise hasat zamanı ve güneşte kurutma sırasında daha yüksektir (Covarelli ve diğ., 2012). Güney İspanyadan toplanan üzümlerin olgunlaşma ve güneşte kurutma sırasındaki mikroflora gelişimini gösteren bir çalışmada. Haziran ayında en yoğun olarak *Alternaria* görülmüştür (üzümlerin %80'inde), *Aspergillus* üzümlerin %8'inde görülürken, *Aspergillus* section *Nigri* ise toplam *Aspergilli*'nin %25'ini oluşturmuştur. Temmuz-Ağustos periyodu içinde, *Aspergillus* (%100 siyah aspergilli) üzümlerin %68'inde görülmüştür, *Alternaria* miktarı %10 a düşmüş, *Epicoccum* ise üzümlerin %30'unda görülmüştür (Valero ve diğ., 2005).

Belli ve diğ. (2004), üzümlerden elde edilen izolatlarda *Aspergillus* section *Nigri* gelişimini 10-37°C ve 0,90-0,995 *a_w* aralığında incelemişlerdir. Mikrobiyal gelişme koloni çapları ölçülerek belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, mikrobiyal gelişme için en uygun sıcaklığın 30-37°C ve su aktivitesinin de 0.98 olduğu saptanmıştır.

Cladosporium spp. üzümlerde *Cladosporium* çürümesine neden olur sağlam üzüm tanesinin yüzeyinde gelişir (Briceño ve Latorre, 2008). Çevresel faktörler *Cladosporium* spp. gelişimini etkilemektedir. Düşük bağıl nem içermesinden ve yaz yağmurlarının olmamasından dolayı Akdeniz İklimi *Cladosporium* spp. gelişimi için uygundur (Latorre ve diğ., 2011).

Alternaria meyve ve sebzelerde en fazla bulunan hasat sonrası görülen bir patojendir. Patojenezi sırasında insan ve hayvanlara olumsuz etkileri olan çeşitli mikotoksinleri üretme kabiliyetine sahiptir. Bu mikotoksinleri; tenuazonik asit, alternariol, alternariol metil eter, altenuen ve altertoksin oluşturur. *Alternaria alternata* üzümde

hasat sonrası görülen önemli bir patojendir. Şaraplık üzümlerde yaygın olarak bulunur (Barkai Golan, 2008).

Üzümde siyah çürümeye neden olan *Botrytis cinerea*, dünyanın çoğu bölgesinde dominant bir patojendir. İsrail’de yapılan bir çalışmada şarap üretiminin yapıldığı ılıman bölgelerde *Aspergillus niger* ve *Rhizopus stolonifer*’in çürümeye neden olduğu ayrıca *B. cinerea* ile eşit ekonomik öneme sahip olduğu görülmüştür. Sağlam üzümlerin yüzeyinde her aşamada bulunmasına rağmen *A.niger* ancak çok yüksek şeker (%15) içeren ortamlarda çürümeye neden olur. (Zahavi ve diğ., 2000). Bağlarda küflerin gelişimi sonucu üzümde çürüme meydana gelmektedir. Üzüm çürümesine neden olan esas küf *Botrytis cinerea* olmakla birlikte, hem taneyi zedeler hem de organoleptik özellikler üzerinde olumsuz etkileri bulunur. Diğer çürükçül küfler ise üzümde çürümenin yanı sıra aynı zamanda mikotoksin üretmektedirler. Üzümde mikotoksin üretimi yapan iki ana cins *Aspergillus* ve *Penicillium*’dur. Mikotoksin üretimi bu türler için karakteristik olup türlerin tanımlanması mikotoksin problemlerini tahmin etmede yardımcı olmaktadır. Üzümün ait olduğu yer fungal popülasyonu önemli ölçüde etkilemektedir. *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin her ikisi de üzümde bozulmaya neden olan önemli küflerdir. *Aspergillus* ve *Penicillium* çürükçül mikrobiyotanın önemli kısmını oluşturur. Siyah aspergillus diye adlandırılan *A. carbonarius* sıcak ve kuru iklimlerde çok bulunur ve OTA üretir. Siyah aspergilli Akdeniz iklimine kolay adapte olan bir türdür (Rousseaux ve diğ., 2014). Sağlam üzümün her aşamasında bulunup hasat sonrası çürümeden sorumlu esas türdür. Oluşturduğu siyah sporlardan dolayı yoğun güneş ışığına , sıcak ve kuru iklimlere karşı direnç göstermektedir, bu şekilde güneş ışını ve UV ışıktan kendini koruması ılıman bölgelerde diğer türlerle rekabet gücünü artırmaktadır (Romero ve diğ., 2005). Daha nemli iklimlerde ise *Botrytis* üzümde ana patojen olarak bulunur aynı zamanda çürükçül ajandır. Bulunduğu yerlerde siyah *Aspergillus* miktarı minimal düzeydedir. Mikotoksin kontaminasyonu riskinin olduğu alanlar mikrofloraya bağımlı olarak değişmektedir (Serra ve diğ., 2005). *Aspergillus sp.* ve *Penicillium sp.* üzümlerde mikotoksin oluşumu ve tat kaybına neden olmaktadır. Üzümler üzerindeki küf mikroflorası üzüm çeşitine göre değişim gösterse bile çevresel faktörler de mikroflora oluşumunu etkilemektedir. *Penicillium* Kuzey Avrupa gibi soğuk ve ılıman iklimlerde daha sık görülmektedir, *Aspergillus* ise daha sıcak ve yağışlı bölgelerde daha sık görülür. Toplam mikroflora popülasyonu büyüme sezonu ile değişiklik göstermektedir.

Meyve bağlama dönemlerinde her üzüm çeşidi için fungal populasyon çok yüksek olmaktadır fakat hakim olan türler değişmektedir. Meyve bağlama döneminde *Alternaria* ve *Aspergillus* hakim iken *Cladosporium* ve *Penicillium* daha az bulunmaktadır. Olgunlaşma sırasında *Aspergillus spp* miktarı artmakta *Alternaria spp.* ve *Cladosporium spp.* miktarları ise azalmaktadır. Meyvedeki asit miktarının düşmesi, şeker miktarının artması, meyve epiderminin incilmesi doğrultusunda tanenin zedelenmesi sıcak ve nemli bölgelere adapte olabilen mikotoksin üreticisi küflerinin sayılarının artmasına ve yüksek miktarda mikotoksin üretmelerine olanak sağlamaktadır (Rousseaux ve diğ., 2014).

Portekizde şaraplık üzümün meyve basamağında çeşitli *Penicillia* suşlarına rastlanmış hatta bunların hasata doğru miktarının arttığı görülmüştür. Bunlar *P. aurantiogriseum*, *P. brevicompactum*, *P. citrinum*, *P. crustosum*, *P. expansum*, *P. funiculosum*, *P. glabrum*, *P. griseofulvum*, *P. purpurogenum*, *P. thomii*, ve diğerleridir (Serra ve diğ., 2005). Fransız bağlarındaki farklı iklimsel bölgelerden toplanan üzümlerde yapılan izolasyonda ise *P. brevicompactum*, *P. expansum*, *P. spinulosum*, *P. glabrum*, *P. crustosum*, *P. citrinum*, ve diğerleri görülmüştür (Bejaoui ve diğ., 2006).

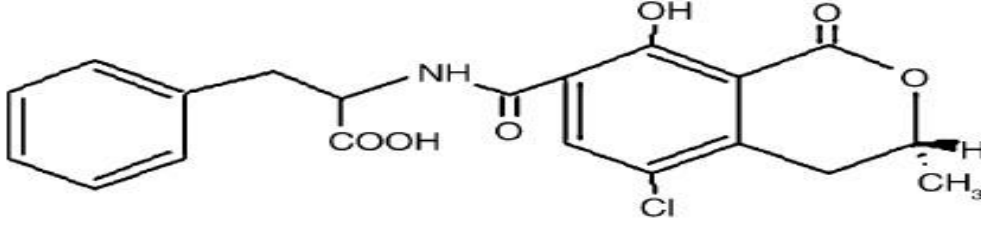
Üzümde trikotesen üretici iki tür tanımlanmıştır bunlar *Fusarium* ve *Trichothecium*'dur. *Fusarium* türleri *Trichothecium* türlerinden daha az miktardadır. *Fusarium* türleri üzümlerin erken olgunlaşma basamağında görülürken *T. roseum* ise hasat zamanında görülür. Hasat öncesi üzümlerde OTA ve trikotesen üretimi ise sırayla *A. carbonarius* ve *T. roseum* tarafından olmaktadır. *A. carbonarius* Akdeniz ikliminin hakim olduğu üzüm bağlarında görülürken *T. roseum* ise daha ılıman iklimlerde görülmektedir (Serra ve diğ., 2005).

3. OKRATOKSİN A

OTA *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin belli suşları tarafından üretilen ve çeşitli gıda matrislerinde tespit edilen bir mikotoksindir.(Hayat,2012) Özellikle tropikal iklimlerde *Aspergillus ochraceus* tarafından, ılıman bölgelerde *Penicillium verrucosum* tarafından üretilir (Prelle ve diğ., 2014). OTA üreten funguslar içinde en çok görülenler; *Aspergillus* türüne ait olan: *Circumdati* (*Aspergillus ochraceus* olarak ta adlandırılır) , Nigri türüne ait olanlar *Aspergillus* ve *Aspergillus niger*'dir (Hayat, 2012).

Gıda maddelerinde bulunan mikotoksinler insan ve hayvan sağlığına olan olumsuz etkilerinden dolayı büyük önem taşımaktadır. OTA gıda ve içecek ürünlerinde bulunan en tehlikeli mikotoksinlerden biridir (Rhouati ve diğ., 2013). Bilinen 300 mikotoksin arasında, gıda ve yem ürünlerinde en fazla bulunan mikotoksinlerdendir. Mısır, buğday, pirinç, yulaf ve arpa gibi temel hububatlarda, kuru meyveler, bira, şarap, bebek ürünleri çeşitli tarım ürünlerinde bulunmaktadır. Ayrıca insan kanı, idrar, ve anne sütü gibi biyolojik örneklerde de tespit edilmiştir. OTA immünotoksik, teratojenik, nefrotoksik, nörotoksik ve kanserojenik etkilerinden dolayı önemli halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır (Nguyen ve Ryu, 2013)

OTA , β – fenilalanine bağlı dihidroksikümarin ailesinden oluşmuş bir pentaketittir (Brera ve diğ., 2013). Moleküler formülü 1965 yılında Van der Merwe ve arkadaşları tarafından 7-karboksi-5-kloro-8-hidroksi 3,4-dihidro-3-metil izokümarin olarak açıklanmıştır. OTA izokümarin yerine konan bir fenilalanin türevidir [(R)-N-[5-chloro-3,4-dihydro-8hydroxy-3-methyl-1-oxo-1H-2-benzopyran-7-y1)-carbonyl]-L-phenylalanine. Okratoksin α OTA'nın hidroliz sonucu fenilalaninin molekülünün ayrılmasıyla oluşur. İsmi ilk defa izole edildiği *Aspergillus ochraceus*'tan almaktadır. (Marin ve diğ., 2013). OTA yapısı Şekil 3.1'de gösterilmiştir (Ringot ve diğ., 2006).



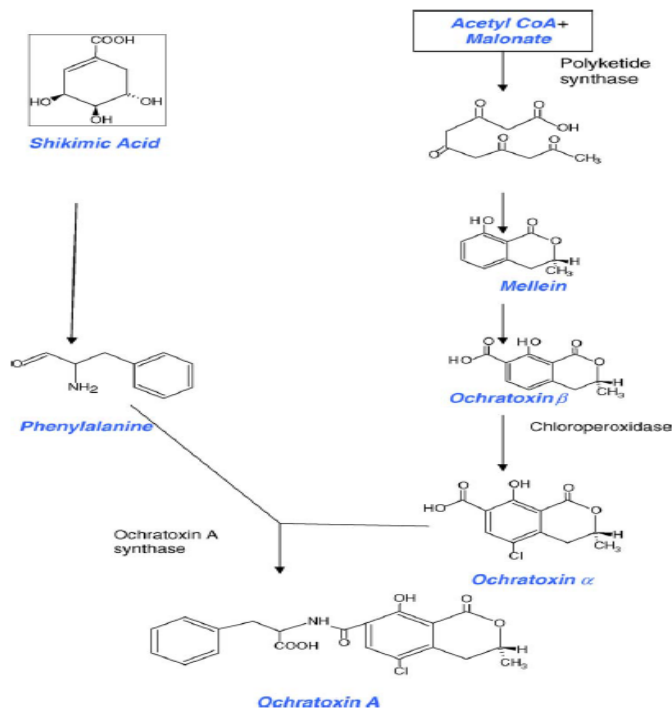
Şekil 3.1: OTA kimyasal yapısı (Ringot ve diğ., 2006).

OTA deneysel formülü $C_{20}H_{18}O_6NCl$ olup moleküler ağırlığı 403.82'dir (Ringot ve diğ., 2006). Beyaz, kristal bir tozdur. Ksilen ile tekrar kristalize edilebilir. Kristal formda, ultraviyole altında, asit solüsyonda yeşil ve alkalın solüsyonda mavi floresans verir, bu kristallerin erime noktası $169^{\circ}C$ 'dir. OTA, ışık altında ve havada stabil değildir. Işığa ve özellikle nemli koşullara maruz kaldığı zaman bozulabilir ve etkisini kaybedebilir. Etanol solüsyonunda, karanlık ve soğukta muhafaza edildiği zaman, bir yıldan fazla stabil kalabilir. OTA, yüksek ısıya karşı oldukça stabildir; hububat ürünlerinin otoklavda ($121^{\circ}C$, 1 Atm) 3 saat kalması durumunda da toksinin %35 i etkinliğini sürdürür (Soyöz ve diğ.,2002). $250^{\circ}C$ altında bir kaç dakika bu toksinin miktarını azaltmaktadır (Marin ve diğ., 2013). Polar çözücülerde yüksek oranda çözünür, suda çok az miktarda ve sodyum hidrojen karbonat içinde normal miktarda çözünmektedir. OTA zayıf asit yapısındadır. Fenilalanin kısmının karboksil grubu ve izokümarinin fenolik hidroksil grubu ayrı ayrı pKa değeri 4.2-4.4 ve 7.0-7.3 arasındadır (Ringot ve diğ., 2006).

OTA, okratoksinlerin en toksik üyesidir. Bu mikotoksin yapısal olarak bir amino asit olan fenilalanine benzemektedir. Bu yüzden, fenilalanini substrat olarak kullanan enzimler üzerinde inhibitör etkisi vardır, özellikle, protein sentezini inhibe eden Phe-tRNA sentetaz üzerine inhibitör etkisi vardır. Bu ise mitokondrial hasara, oksidatif patlamaya, lipid peroksidasyona sebep olan mitokondrial bir zehirlenmedir ve oksidatif fosforilasyonu engellemektedir. Ek olarak OTA çeşitli hücrelerdeki apoptosisi yani hücre ölümünü artırır. Alışlagelmiş gıda üretim prosesleriyle yıkıma uğramayan stabil bir yapıdadır (Marin ve diğ., 2013).

OTA'nın biyosentezi birçok basamaktan oluşmakla beraber, enerji ve Mg^{++} bileşiğine sentez sırasında ihtiyaç duyulmaktadır (Ünal, 2009). OTA'nın biyosentetik yolu tam anlamıyla yayımlanmamıştır. 14 karbon ve 13 karbon işaretlemeleri sonucu; fenilalanin kısmının şikimat yolu sonucu oluştuğu ve dihidroizokümarin kısmının ise pentaketide yolundan oluştuğu görülmüştür. İzokümarin poliketidin ilk

basamağı bir asetat ünitesinin dört melonat ünitesine dönüşmesiyle oluşur. Datalar bu basamak için poliketid sentaz aktivitesinin gerektiğini göstermiştir. Poliketid sentezini kodlayan gen *Penicillium* ve *Aspergillus* için çok farklıdır. *A. ochraceus*'a ait poliketid sentezi geni sadece OTA'nın olduğu mikotoksin sentezinin ilk basamağında express edilir. *Penicillium* için böyle bir data mevcut değildir. *Penicillium* türlerinde *P. nordicum* ve *P. verrucosum* OTA sentezi için iki farklı poliketid sentaz kullanır. Farklılığın *P. verrucosum*' un OTA dışında ayrıca poliketid bazlı mikotoksin olan sitrinin üretme özelliği ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. OTA biyosentezi Şekil 2.3'te gösterilmiştir (Ringot ve diğ., 2006).



Şekil 3.2: OTA biyosentezi (Ringot ve diğ.,2006).

3.1 Ochratoxin A Üreticisi Küfler

OTA, ilk olarak Güney Afrika'da *Aspergillus ochraceus* suşu tarafından üretilmiştir. (Van der Merve ve diğ., 1965). OTA mahsüle direkt fungal saldırıyla ya da yemlerden hayvansal ürünlere indirekt olarak bulaşır (Brera, 2013). Genel olarak *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius*'u da içeren *Aspergillus* section *Nigri* türleri tarafından üretilen en yaygın mikotoksindir (Nguyen ve diğ.,2013). *Penicillium* cinsine ait *Penicillium verrucosum* and *Penicillium nordicum* OTA üreten küflerdendir (Heperkan ve diğ, 2009; Coverelli, 2012).

Penicillium verrucosum ve *P. nordicum* yanı sıra okratoksinler başlıca *Circumdati*, *Nigri* ve *Flavi* seksiyonlarını içeren *Aspergillus* türleri tarafından da üretilmektedir. Bunlardan *Circumdati* ye ait 10 farklı tür yüksek miktarda okratoksin A üretmektedir; *A. cretensis*, *Neopetromyces muricatus*, *A. pseudoelegans*, *A. roseoglobulosus*, *A. westerdijkiae*, *A. flocculosus*, *A. sulphureus*, *A. steynii*, *A. ochraceus* ve *A. sclerotiorum*. Okratoksin A üreten *Flavi* türleri ise *A. alliaceus* ve *A. albertensis*. *Nigri* türlerinden OTA üretenler *A. carbonarius*, *A. niger*, *A. lacticoffeatus* ve *A. sclerotioniger* dir (Kocsube ve diğ., 2013). Son zamanlarda, *Circumdati*'ye ait *Aspergillus westerdijkiae* ve *Aspergillus steynii* adında iki tür *A.ochraceus*'den ayrılmıştır ve *A. ochraceus* den daha güçlü OTA üreticisi olduğu görülmüştür (Heperkan ve diğ., 2009).

Üzümlerde mikrofloranın ve *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin okratoksin üretiminin incelendiği bir çalışmada Arjantin üzümünden izole edilen *Aspergillus* section *Nigri* üyesi 63 türün okratoksin A üretimleri incelenmiş, İzolatların %41,3'ünün kültür ortamında 2-24,5 ng/mL oranında OTA üreticisi olduğu belirlenmiştir (Magnoli ve diğ., 2003). İspanya üzüm bağlarından alınan örneklerde yapılan diğer bir çalışmada *A. niger* agg.'nin %2-7, *A. carbonarius*'un da % 78–100 oranında okratoksijenik olduğu belirlenmiştir (Belli ve diğ., 2006).

A.niger var *niger*, *A. niger* var *awamori* ve *A.* hem siyah hem de beyaz kuru üzüm örneklerinden elde edilen hakim bir türlerdir. Ve bu üç tür siyah kuru üzümde beyaz üzüme oranla daha fazla bulunmaktadır. *A. carbonarius* okratoksijenik suşlar arasında en yüksek orana sahiptir, *A. niger* ise ikinci sırada bulunmaktadır. Siyah kuru üzümde OTA akümülayonu beyaz üzüme oranla daha kolay olmaktadır. Kırmızı üzümdeki bazı komponentlerin fungal gelişimi ve OTA üretimini tetiklediği düşünülmektedir, kırmızı üzümdeki bazı komponentler fungi gelişimini baskımlarken toksini artıran ikincil metabolitlerin oluşumunu sağlamaktadır (Zhang ve diğ., 2013). *Aspergillus carbonarius* şaraplık üzümleri kontamine eden başlıca OTA üretici funguslardandır. Şıra ve şarapta OTA varlığı üzümlerin hasat öncesi ve sonrası *Aspergillus carbonarius* gelişmesinden veya şarap yapımından önceki işlemlerden kaynaklanır. *A. carbonarius* ayrıca ılıman olan Akdeniz bölgesi, kahve ve kakaoda OTA birikiminden sorumludur (Hayat, 2012). *Aspergillus* türleri özellikle *Aspergillus carbonarius* üzüm ve şaraptaki OTA kontaminasyonundan sorumlu ana funguslardır. Sıcaklık, havalandırma, nem, enfeksiyon periyodu, farklı fungi türleri

arasındaki etkileşimler mikotoksin gelişimini etkilemektedir. *A. ochraceu*'a ait tüm izolatlar OTA üretemezler (Rocha ve diğ., 2014)

Penicillium verrucosum hububat ürünlerini kontamine ederken *P. nordicum* genellikle et ve süt ürünlerinde bulunur. *Aspergillus ochraceus* fındık, yer fıstığı, fasulye, baharat, yeşil kahve çekirdeği ve kurutulmuş meyvelerde yüksek miktarda bulunur. Ayrıca işlenmiş et ürünü ve tütsülenmiş tuzlanmış balıklarda da bulunur. Ilıman bölgelerde hububat, yağlı tohum, karıştırılmış yemlerde *A.niger var niger* ve *A. ochraceus* tarafından OTA oluşturulur. *A. carbonarius* ise daha çok üzümde, kuru üzümde ve kahvede görülür. *Petromyces alliaceus* olarak da adlandırılan soğandan izole edilen *A. alliaceus*'un laboratuvar şartlarında OTA ürettiği görülmüştür (Ringot ve diğ., 2006). Avrupa'dan izole edilen *A. carbonarius* ve *A. niger* için optimum küf gelişme ve OTA üretme sıcaklıkları sırasıyla 35-37°C ve 15-25°C'dir (Heperkan ve diğ., 2012). OTA gelişimi *A. carbonarius* için 15-20°C'de, *A. niger* için 20-25°C'de en yüksek miktara ulaşır. Ayrıca , toksin üreten fungi gelişimi üzümlerin su aktivitesi tarafından etkilenir, optimum değer 0.93 ile 0.987 arasındadır (Covarelli ve diğ., 2012).

Tunus üzümlerinden izole edilen okratoksijenik *Aspergillus carbonarius*'un gelişme ve OTA üretiminin incelendiği bir çalışma sentetik üzüm besiyerinde (SNM) gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon süresince koloni çapı ölçülmüştür. İzolatların OTA üretme özellikleri ise 5. ve 10. günde incelenmiştir. Çalışmada gelişme ve OTA üretimi için en uygun su aktivitesi değerinin 0,99 olduğu bulunurken, sıcaklık derecesinin değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Gelişme için optimum sıcaklığın 30°C olduğu, en yüksek toksin üretiminin ise 15-25°C aralığında gerçekleştiği bildirilmiştir ayrıca önemli miktarda toksinin ilk 5 günlük inkübasyon süresi sonunda üretildiği saptanmıştır (Lasram ve diğ., 2010).

A. carbonarius'un gelişmesi su aktivitesine bağlı olarak da değişim göstermektedir. Küf gelişmesi 25 ve 30°C'de, 0,96-0,98 aw aralığında su aktivitesi artışına bağlı olarak artmaktadır. 0,83 ve 0,87 aw'de ise gelişmenin önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (Mitchell ve diğ., 2004; Belli ve diğ., 2007; Kapetanakou ve diğ., 2009; Spadora ve diğ., 2010).

Yapılan bir çalışmada sentetik üzüm besiyerinde *Aspergillus carbonarius*'un OTA üretimine çevresel faktörlerin etkisi 15-37°C aralığında 5 farklı sıcaklıkta incelenmiş. Maksimum OTA üretiminin 20°C'de olduğunu belirtilmiş. Benzer olarak gerçekleştirilen çalışmada *A. carbonarius* 21-04D1 ve 46D2 izolatları da maksimum

OTA üretimini 20°C'de gerçekleştirmiştir. En düşük düzeyde OTA'nın ise 30, 35 ve 37°C'de üretildiği ve istatistiksel olarak bu üç sıcaklık arasında önemli bir farklılık olmadığını ifade edilmiştir (Belli ve diğ. ,2005).

Astoreca ve diğ. (2010), ışınlama uygulaması yaptıkları kurutulmuş üzümelerde *A. carbonarius* gelişmesini ve OTA üretimini incelemişlerdir. Optimum gelişme sıcaklığı su aktivitesine bağlı olarak 25- 30°C'de gözlenirken, istatistiksel olarak 25-30°C arasında önemli bir farklılık olmadığını belirtmişlerdir.

Kapetanakou ve diğ. (2009), tarafından yapılan çalışmada *Aspergillus ochraceus* ve *Aspergillus carbonarius*'un MEA agar üzerinde farklı pH (3.9, 5.1, 5.9, 6.8), su aktivitesi (aw) (0.87, 0.93, 0.99) ve sıcaklıklarda (10, 15, 20, 25, 30,40°C) OTA üretme miktarları incelemişlerdir. OTA üretim miktarlarının farklı sıcaklık ve su aktivitesinde önemli miktarda değişiklik gösterdiği görülmüştür, su aktivitesi ve pH etkileşimi ile OTA miktarları değişse de, pH'ın tek başına etkisi olmadığı görülmüştür. En yüksek miktarda OTA üretimi 0.99 su aktivitesinde görülürken (her üründe 25 µg/kg dan fazla) , pH ve su aktivitesine bağlı en yüksek OTA üretimi *A. ochraceus* ve *A. carbonarius* için ayrı ayrı 20 ve 25°C sıcaklıklarında olmuştur.

A. carbonarius içinen düşük 0.87 a_w su aktivitesinde hiçbir sıcaklık değerinde OTA görülmediği için su aktivitesinin bu tür için iyi bir hurdle etkisi yaptığı anlaşılmaktadır. Her iki tür için de 10 ve 40°C'lerde fungal gelişim ve OTA üretimi görülmemiştir.

Spadaro ve diğ. (2010a), 3 adet *A. carbonarius* izolatının gelişmesine ve OTA oluşturmaya, sıcaklık, su aktivitesi ve pH'nın etkisinin inceledikleri çalışmada optimum gelişme sıcaklığını 30°C olarak saptamıştır. Patharajan ve diğ. (2011), üzümlerden elde ettikleri *A. carbonarius* izolatlarının gelişme özelliklerini 15, 25, 30 ve 35°C olmak üzere 4 farklı sıcaklık, su aktivitesi ve pH değerinde incelemiş ve optimum gelişmenin 30°C'de olduğunu saptamışlardır.

Şimdiye kadar *A. carbonarius*'un OTA üretimine daha sık rastlandığı belirtilmesine rağmen Iamanaka ve diğ. (2006) farklı sonuçlar rapor etmiş yaptıkları çalışmada Türkiye, İspanya, Meksika, Tunus, Amerika ve Şili'den toplanan kuru meyve örneklerinden izole edilen okratoksijenik suşların %2,44'ünün *A. carbonarius* ve %97,6'sının da *A. niger* olduğunu belirtmişlerdir

Leong ve diğ. (2006a), sentetik üzüm suyu besiyerinde (SGM), *A. carbonarius* için en yüksek OTA üretimini 15°C'de 21 µg/g düzeyinde gözlemişlerdir, en düşük

seviyede OTA üretimi ise 30°C’de görülmüştür. *A. niger* için ise en yüksek OTA üretimini 15°C’de 15 µg/g olarak belirtilmiştir.

Selouane ve diğ., 2009 ait çalışmada altı adet *A. tubingensis* ve iki adet *A. niger* olmak üzere toplam sekiz *Aspergillus niger* aggregate suşu ayrıca Moroco üzümlerinden izole ettikleri dört *A. carbonarius* üzerine yaptıkları çalışmada sıcaklık, su aktivitesi(a_w), inkübasyon zamanı ve bu parametrelerin suşlar üzerine kombine etkisi incelenmiş. Optimum gelişim 25°C ve 0.95 a_w su aktivitesinde olduğu görülmüştür. Suşların hepsi için için 10 C’de hiçbir su aktivitesi değerinde herhangi bir gelişim görülmemiştir. OTA üretimi için optimum sıcaklık *A. carbonarius* için 25-30°C, *A. niger* aggregate için ise 30-37°C olduğu tespit edilmiştir. *A. carbonarius* için optimum su aktivitesinin 0.95-0.99 , *A. niger* aggregate için ise 0.9-0.95 arasında olduğu tespit edilmiştir. *A. niger* aggregate’e ait maksimum OTA üretimi 37°C’de ve 0.99 su aktivitesinde olduğu tespit edilirken, *A. carbonarius*’a ait maksimum OTA üretimin 25°C’de ve 0.99 su aktivitesinde olduğu tespit edilmiştir.

Ilıman bölgelerde gelişen *Aspergilli*’ye zıt olarak *Penicillia* düşük sıcaklıkta optimum büyüme sıcaklığı gerektirir. *Penicillium nordicum* ve *Penicillium verrucosum* gibi iki *Penicillium* türünün de OTA ürettiği bilinmektedir, ve hububat ürünleri, et ürünleri ve peynirlerden sıklıkla izole edilmektedir (Hayat, 2012).

3.2 Okratoksin A’ nın Sağlık Üzerine Etkileri

OTA Uluslararası Kanseri Ajansı (IARC) tarafından olası insan kanserojenleri arasında sınıflandırılmıştır (kategori 2B). Hayvanlarla şimdiye kadar yapılan bütün çalışmalarda OTA’nın böbrek hastalığı ile ilişkili olduğu görülmüştür. İnsanlarda genel olarak serum içinde bulunup kan hücreleri ve diğer hayvan dokularında ve sütte insan sütü de dahil bulunmaktadır. OTA domuz nefropatisinden sorumludur. Bu hastalık Danimarka’daki domuzlarda endemiktir ayrıca kuş ölümlerine de sebep olmaktadır (Bezerra da Rocha ve diğ.,2014). OTA insanlarda Balkanlarda tipik olarak görülen Baklan Endemik Nefropatisi adı verilen (BEN) böbrek hastalığıyla ilişkilidir, Hırvatistan, Bosna Hersek, Sırbistan, Romanya ve Bulgaristan gibi kırsal alanlarda görülür (Marin ve diğ.,2013)

Dünya Sağlık Örgütü ve Gıda Tarım Örgütü’nün Birleşik Gıda Katkıları Uzmanlar Komitesine göre , toplam okratoksin alımında insan okratoksinlerinin ana kaynağını

,%58, %21, %7, %5, ve %3 oranlarla sırasıyla hububat, şarap, üzüm suyu, kahve ve domuz eti oluşturmaktadır (JEFCA, 2001).

OTA damar içinde, karaciğer dokusunda , yağ ve kas dokularındada birikir hayvanlardan gıda zincirine geçtiği için hayvan yeminde ve hayvan dokusunda bulunması insanlara bulaşmasına neden olmaktadır (Persi ve diğ., 2014). OTA hayvanlarda fare ve sıçanlarda böbrek tümörü üretimi ile kanserojen olarak kendini gösterir , insanda idrar yolu tümörleriyle ilişkilidir (Brera ve diğ.,2013). Hastalık tübülointerstisyel nefrit ile karakterize olmuş olup böbrek, pelvis, üreter ve mesane tümörleri için bu organlarda yüksek miktarda bulunmasıyla ilişkilidir (Persi ve diğ., 2014). Böbrek OTA'nın hedef organıdır, potansiyel nefrotoksin olarak kabul edilir. İnsanlarda , nefropatide tetikleyici olarak tanımlanmıştır, üst idrar yolundaki ürotelial kanserlerle ilgilidir. Hayvanlarda, testis kanserinin OTA alımıyla ilişkili olduğu ve alımı arttıkça kanserinde arttığı görülmüştür. OTA ayrıca teratojenik, genotoksik, kanserojenik ve immünotoksik olarak kabul edilmektedir, fakat nörotoksik etkisi hala teyit edilememiştir. OTA'nın kronik etkileri daha yaygındır (Marin ve diğ., 2014).

Hayvanlarda sürekli OTA alımının böbreklerde bulunan kıvrımlı tübüllerin dejenere olmasıyla ortaya çıkan böbrek hastalığı ile sonuçlanmaktadır. böbrek içi fibrözler oluşur,bazal membran kalınlığında azalma olup, glomerüler hiyalinizasyon oluşmaktadır (Marin ve diğ.,2014).

Böbrek semptomlarının yanı sıra OTA diğer vücut sistemlerini de etkilemektedir. Plesentaya geçip sıçan ve farelerde embriyotoksik etki yapar. OTA, immünotoksiktir, hayvanlarda bağışıklık sistemi baskılayıcı aktivitesi timüs , dalak ve lenf düğümlerinin boyutunun küçülmesiyle karakterize olmuştur, antikor cevabı baskılanması, bağışıklık hücrelerinin sayısını ve fonksiyonunu değiştirir, sitokin üretim modülasyonunu değiştirir. OTA'nın diğer nörolojik etkinin yanı sıra serebral, hipokampal etkilerle de ilişkili olduğu görülmüştür. OTA'nın anne sütünde görülmesi, bebeklerin OTA'ya maruz kalmasına neden olmaktadır (Hope ve Hope, 2012).

OTA'nın immünosüpresif, hepatonefrotoksik, teratojenik, apoptoz indükleyicisi, genotoksik ve lipid peroksidasyonu (LPO) artırıcısı olduğu gösterilmiştir. OTA, DNA kırılmaları, protein sentezi inhibisyonu ve glikoneogenez, mitokondride oksidatif fosforilasyonun bozulması ve kanın pıhtılaşmasının engellenmesine neden olmasıyla insan sağlığı için büyük önem taşımaktadır. Fatal doz maruziyeti ile renal tübül

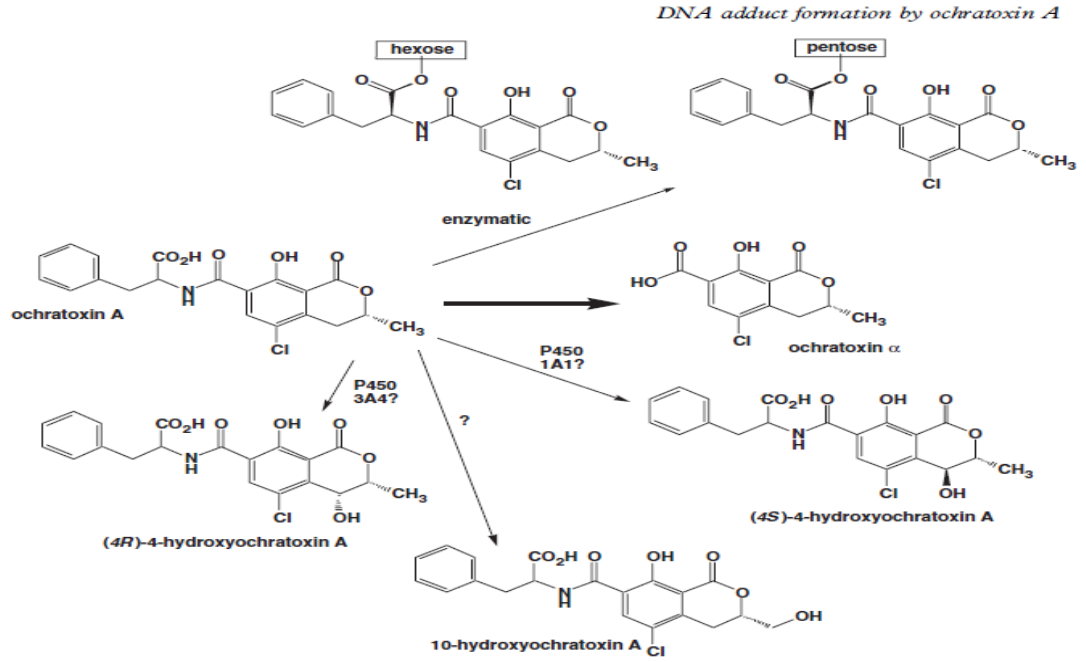
nekrozu ve periportal karaciğer hücrelerinde pek çok patolojik değişiklik gözlenmiştir (Sabuncuoğlu ve diğ., 2008).

OTA'nın oksidatif stresi indüklemektedir. Reaktif oksijen bileşiklerinin (ROB) oluşumu Fe^{+3} -OTA kompleksi aracılığıyla olmaktadır. OTA, LPO ve aynı zamanda hücrel hasar göstergesi olan malondialdehit (MDA) artışına neden olmaktadır. Serbest radikal düzeyleri, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimler aracılığıyla kontrol edilmektedir. Antioksidan savunma azaldığında veya ROB düzeyi arttığında oksidatif stres gelişir. Protein sentezinin inhibisyonu ve oksidatif yollar aracılığıyla serbest radikallerin oluşumunun OTA'nın toksik etkisinde anahtar rolü olduğu gösterilmiştir (Sabuncuoğlu ve diğ., 2008).

Toksinin bir bölümünün eliminasyona uğradığı ilk organ karaciğerdir, daha sonra safraya buradan sistemik kan dolaşımına girer. Eliminasyonun diğer önemli bir organı böbrektir. OTA, bütün nefron segmentlerinden geri emilir, bu süreç toksinin böbrek dokusunda birikmesine ve toksizitesinin artmasına neden olur (Soyöz ve Özçelik, 2002).

OTA'nın devretme/geçiş etkisi ile süt, karaciğer, böbrekte de varlığı tespit edilmiştir (Li ve diğ., 2013). OTA'lı yemlerle beslenen domuz, kümes hayvanları ve diğer türlerde OTA varlığının gözlenmesi bu özelliği kanıtlanmıştır (Duarte ve diğ., 2012). Domuzların ve kümes hayvanlarının yenilebilir kısımlarında özellikle böbrekler ve karaciğerlerinde, OTA birikimi olasılığı yüksektir. Birikim, kaslar ve yağ dokularında daha azdır (Radulovic ve diğ., 2013).

OTA dolaylı karsinojen mekanizması aracılığıyla epigenetik karsinojen olarak da adlandırılmaktadır. Ancak aynı zamanda DNA'ya doğrudan bağlanabilmesi nedeniyle doğrudan karsinojen olarak kabul edilmektedir (Sabuncuoğlu ve diğ., 2008). OTA'nın kandan uzaklaşma hızı dokulara göre daha yavaştır. Kanda yüksek miktarda OTA'nın doku içinde dağılımı böbrek>karaciğer>kas>yağ şeklindedir, et ürünlerindeki OTA varlığının ana kaynağı tüketilecek hayvanın kanındaki, böbreğindeki, karaciğerindeki bulaşmayla değil baharatın kontamine olmasıyla da olabilmektedir (Persi ve diğ., 2014). OTA hayvanlarda hidroliz, hidroksilasyon, oksidasyon ve konjugasyon reaksiyonları sonucu biyotransformasyona uğrar Şekil 3.3'te OTA biyotransformasyon gösterilmiştir (Han ve diğ., 2013).



Şekil.3.3: OTA biyotransformasyonu (Han ve diğ.,2013).

3.3 Gıdalarda Okratoksin A Varlığı

Gıdalarda OTA kontaminasyonu ilk kez 1969 yılında mısırdaki görülmüştür (Shotwell ve diğ., 1969). OTA mısır, buğday, pirinç, yulaf ve arpa gibi temel hububatlar, kuru meyveler, bira, şarap, bebek ürünleri çeşitli tarım ürünlerinde de bulunmaktadır. Ayrıca OTA insan kanı, idrar, ve anne sütü gibi biyolojik örneklerde de tespit edilmiştir (Nguyen ve diğ., 2013).

Farklı türler, hindistan cevizi, biber, kişniş ve biber tozu yüksek derecede ve sıklıkla kontamine durumdadır. Şaraplardan, kırmızı ve tatlı şaraplar en fazla kontamine olanlardır. Kuru meyvelerde, özellikle kuru üzümde yapılan ürünlerde, OTA miktarının yüksek olması kurutma prosesiyle ilişkilidir (Marin ve diğ.,2014). Çizelge 3.1’de OTA varlığının belirlendiği gıdalar gösterilmiştir. OTA oluşumuna neden olan küf türü bölgeye ve ürüne göre değişkenlik göstermektedir. OTA varlığına hayvansal ürünlerde de rastlanması, yemlerdeki OTA kontaminasyonundan kaynaklanmaktadır (EFSA,2006).

Nem, sıcaklık, substrat yapısı gibi faktörler OTA üreten suşların gelişmesinde ve toksijenitelerinde önemli rol oynar. Bu faktörlerden biri olan pH, hasat sonrası proseste (geleneksel veya ekolojik ıslak metot ve kuru metot) *A. ochraceus* gelişiminde veya OTA üretiminde etkin bir rol oynamaz. Ancak su aktivitesinin (aw)

etkisi önemlidir; gelişim ve toksin oluşturma için optimum değer 0,95'tir. 0,80 altındaki aw'lerde küf gelişimi gerçekleşemez. Kahve gibi düşük aw'ye sahip gıdalar küf gelişimi açısından güvenli gıda maddeleridir. Su aktivitesinin gelişim için uygun olduğu koşullarda ise sıcaklık toksin miktarını etkilemektedir. Toksin oluşumu, 10 °C ile optimum sıcaklık olan 35 °C arasında gerçekleşebilmektedir. Proses basamaklarında ise, kurutma kritik bir aşamadır; çünkü *A. ochraceus* için elverişli koşullar (0,99-0,80 aw) iki ya da daha fazla gün boyunca sağlanmış olabilir. Depolama esnasında ise küf gelişimini etkileyen faktörler su aktivitesi ve sıcaklıktır (Suarez-Quiroz ve diğ, 2004).

Makun ve diğ. (2013), Nijerya'da yaptıkları bir çalışmada mısır, millet, Guine mısırı, acha, susam, cassava incelemiştir. Millet, acha, susam, cassava örneklerinin %100'ünde OTA tespit edilirken, mısır ve Guine mısır örneklerinin herbirinin %94.1'inde OTA tespit edilmiştir. Tespit edilen OTA miktarı ise mısır, millet, Guine mısırı, acha, susam, cassava örnekleri için sırayla 0-139.2, 10.20-46.57, 0-29.50, 1.38-23.90, 1.90-15.66, 3.28-22.73 µg/kg aralığındadır. Nijerya'da yapılan başka bir çalışmada pirinç, mısır, darı millet, yer fıstığı incelenmiş pirinç ve yer fıstığında sırasıyla %4.5 ve %85.7 oranında OTA tespit edilirken mısır, darı, millette OTA tespit edilmemiştir. Tespit edilen ortalama OTA miktarları ise pirinç için 0.1 µg/kg , yer fıstığı için 3.7 µg/kg'dır (Toffa ve diğ., 2013).

Türkiye'de yapılan bir çalışmada kahvaltılık gevrek, tahıl bazlı gıdalar, tarhana incelenmiş sırasıyla % 21.62 , %19.05 ve % 55.95 oranlarında OTA tespit edilmiştir , ortalama OTA miktarının ise sırayla 0.32, 0.14,0.41 µg/kg olduğu görülmüştür (Özden ve diğ., 2012). Ibáñez-Vea ve diğ. (2012), İspanya'da yaptıkları bir çalışmada mısır, buğday, pirinç, arpa örnekleri incelenmiş sırayla %4.7, %64.2, %87.5, %57.7 oranında OTA tespit etmiştir , ortalama OTA miktarı ise sırayla 0.1, 0.43, 0.16, 0.1 µg/kg'dır. İspanyada yapılan başka bir çalışmada buğday ve yulaf örnekleri incelenmiş sırasıyla %29.72 ve %20 oranında OTA tespit edilmiştir, ortalama OTA mikarı ise sırayla 1.1 ve 0.3 µg/kg'dır (Vidal ve diğ., 2013). Arjantin'de yapılan bir çalışmada yeşil kahve, kavrulmuş kahve, çözülebilir kahve örnekleri incelenmiş sırasıyla %100, %54.1, %77.27 oranında OTA tespit edilmiştir. Ortalama OTA miktarları sırasıyla 5.77, 1.0, 1.99 µg/kg'dır (Vanesa ve Ana, 2013). Vecchio ve diğ. (2012), ait çalışmada kahve ve kahve ürünleri incelenmiş örneklerin %96'sında 0.32-6.49 µg/kg aralığında OTA tespit edilmiştir.

Türkiye’de yapılan bir çalışmada pul biber, kırmızı biber, karabiber, kimyon, tarçın örnekleri incelenmiş sırasıyla %75, %54.5, %17.4, %5.3 oranında OTA tespit edilmiştir. Ortalama OTA miktarı ise sırayla 16.44, 24.65, 1.82, 0.63 µg/kg’dır. Tarçında OTA tespit edilmemiştir (Özbey ve Kabak, 2012). Türkiye’de yapılan başka bir çalışmada 69 adet bira örneği incelenmiş örneklerin hepsinde 0.008-0.488 µg/kg aralığında OTA tespit edilmiştir (Anlı ve Alkış, 2010).

Pattano ve diğ. (2013), İtalya’da yaptıkları çalışmada 32 adet peynir ve peynir içi incelenmiş herbiri için örneklerin %18.75’inde OTA tespit edilmiştir. OTA miktarı ise peynir ve peynir içi için sırayla 1-262, 18.4-146 µg/kg aralığındadır. Pakistan’da yapılan bir çalışmada çili sosu, öğütülmüş çili, çili tozu örnekleri incelenmiş örneklerin %34, %59.6, %57.1’inde (Iqbal ve diğ., 2013). Türkiye’de yapılan bir çalışmada bebek mamaları incelenmiş 62 örneğin %19.35’inde 0.017-0.184 µg/kg aralığında OTA tespit edilmiştir (Kabak,2012). Dall’Asta ve diğ. (2010), yaptıkları çalışmada 110 adet jambon örneği incelenmiş jambon iç yüzeylerinin %29.1’inde ortalama olarak 0.24 µg/kg , dış yüzeylerinin %76.4’ünde 0.98 µg/kg OTA tespit edilmiştir.Karbancıoğlu-Güler ve Heperkan (2008), Türkiye’de yaptıkları çalışmada 115 adet kuru incir örneği incelenmiş örneklerin %47.8’inde 0,12-15,31 µg/kg aralığında OTA tespit edilmiştir.

Üzüm ve şarapta OTA ilk olarak 1995 yılında Zimmerly ve Dick tarafından tespit edilmiştir (Zimmerly ve Dick, 1995). Sonrasında OTA üzüm suyu, kuru üzüm, şarap sirkesi gibi üzümünden elde edilen diğer ürünlerde de görülmüştür (Covarelli ve diğ., 2012). Kuru üzümdeki OTA kontaminasyonu şarap veya üzüm suyundan daha yüksektir (Zhang ve diğ ,2013). Farklı iklim koşulları OTA üreten mikroorganizmaların dağılımını ve OTA miktarını etkilediğinden , şarabın kökeni son OTA miktarı için belirleyicidir. OTA miktarı ile İtalya, Yunanistan gibi Akdeniz ülkeleri gibi üretim yerleri arasında ilişki vardır. Güney Avrupa’da yetişen üzümlerin fungus gelişimine eğilimli olduklarını ve daha büyük miktarlarda toksin ürettikleri görülmüştür (Covarelli ve diğ., 2012). İzmir’de yapılan bir çalışmada 1999 ve 2003 yılları arasında toplanan 5 yıllık kuru üzüm mahsülünden 1885 örnek analiz edilmiş örneklerin %9.3’ünde OTA görülmezken, %0.6’sında 10 µg/kg’ın üzerinde OTA görülmüştür, kalan %90.3’ünde ise 0.3-10 µg/kg arası OTA görülmüştür (Aksoy ve diğ., 2007). Üzüm ve üzüm ürünlerinde tespit edilen OTA miktarları Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1: Üzüm ve üzüm ürünlerinde OTA varlığı.

Gıda Örneği	Ülke	Yöntem	Pozitif Örnek Sayısı/ Örnek Sayısı	Aralık (µg/kg)	Referans
Sultana	Türkiye	HPLC	26/40	0,38-20,90	Çelik,2008
Sultana	Türkiye	HPLC	1713/1885	0,2-10	Aksoy ve diğ., 2007
Sultana	Türkiye	HPLC	179/264	0,026-35	Meyvacı ve diğ., 2005
Kuru üzüm	Yunanistan	HPLC	30/41	0,1-98,2	Perrone ve diğ. ,2013
Yaş üzüm Kuru üzüm	Türkiye	HPLC	21/22 22/22	0,2-0,7 5,1-18,2	Var ve Kabak, 2008
Yaş üzüm	Türkiye	HPLC	15/52	0,24-1,5	Var ve Kabak, 2006
Üzüm püresi Şarap posası	İspanya	HPLC	86/100 88/100	34,2-456,8 48,3-602,5	Solfrizzo ve diğ.,2008
Üzüm şırası	İtalya	HPLC	1/15	2,5	Anfossi ve diğ.,2012
Kırmızı şarap	İspanya	HPLC	51/51	0,00049-0,142	Remiro ve diğ. 2012
Kırmızı şarap	İspanya	HPLC	26/30	0,026/0,144	Quintela ve diğ., 2012

Çizelge 3.1: Üzüm ve üzüm ürünlerinde OTA varlığı devamı.

Gıda Örneği	Ülke	Yöntem	Pozitif Örnek Sayısı/ Örnek Sayısı	Aralık (µg/kg)	Referans
Üzüm Şırası					
Kırmızı	Türkiye	HPLC	28/28	0,27	Anlı ve diğ., 2011
Beyaz			18/18	0,13	
Şarap	Çek Cumhuriyeti	UPLC	5/26	0,0012-0,0712	Mikulikova ve diğ., 2012
Kırmızı şarap	İtalya	HPLC	4/22	0,0018-0,0046	Anfossi ve diğ., 2012
Beyaz Şarap			3/9	0,0016-0,0028	
Kırmızı şarap	Şili	HPLC	30/867	0,35	Vega ve diğ., 2012
Beyaz şarap			5/321	0,14	
Pembe şarap			1/3	0,007	
Kırmızı şarap	İtalya	HPLC	54/94	0,022-0,048	Quintela ve diğ., 2011
Beyaz şarap			2/3	0,014	
Beyaz şarap			125/204	0,086	Spadaro ve diğ., 2010b
Kırmızı şarap	İtalya	HPLC	695/1002	0,121	
Kırmızı şarap	Çin	HPLC	28/28	0,0028-0,0437	Mao ve diğ., 2013
Kırmızı şarap	İspanya	HPLC	95/96	<LOD-0,455	Remiro ve diğ., 2012

3.4 Okratoksin A İle İlgili Yasal Düzenlemeler

1960’larda aflatoksinin keşfedilmesiyle, tüketicileri gıdaları kontamine edebilecek mikotoksinlerin zararlı etkilerinden korumak için çoğu ülkede gıda ticaretinde adil olacak düzenlemeler yapılmaya başlamıştır. 1974’ten bu yana , çeşitli ülkeler gıdalardaki mikotoksin oranları için maksimum limitleri belirlemiştir (Cheli ve diğ., 2013). Avrupa Birliği Direktiflerinde şarap, üzüm sırası ve üzüm için izin verilen maksimum OTA değeri 2 µg/kg ‘dır. Kuru üzüm için ise OTA’nın maksimum değeri 10 µg/kg ‘dır. İnsanların gıdalarla aldıkları OTA miktarları üzerine yapılan çalışmada bulaşma oranlarının; tahıl ve tahıl ürünlerinden % 50, şaraptan %13, kahveden %10, baharattan %8, biradan %5, kakaodan %4, kuru meyveden %3 ve kümes hayvanlarının etinden %1 olduğunu yayımlamıştır (EC, 2002). Çizelge 3.2’de Avrupa Birliği ve Türkiye’de okratoksin A ile ilgili yasal düzenlemeler gösterilmiştir (EC, 2006; EC, 2010; TGK, 2011).

Çizelge 3.2: Gıdalarda bulunmasına izin verilen OTA limitleri.

Gıda Maddesi	Maksimum limit (µg/kg)	
	(TÜRKİYE) ¹	(AVRUPA BİRLİĞİ) ²
İşlenmemiş tahıllar	5,0	5,0
Tahıldan elde edilen tüm ürünler (doğrudan tüketime sunulan tahıllar ve işlenmiş tahıl ürünleri dahil)	3,0	3,0
Kurutulmuş asma meyveleri (kuşüzümü, kuru üzüm ve çekirdeksiz üzüm dahil)	10,0	10,0
Kavrulmuş kahve çekirdeği ve öğütülmüş kahve	5,0	5,0
Kahve ekstraktı, çözünebilir kahve ve ekstraktı	10,0	10,0
Şarap (köpüklü şarap/şampanya dahil, likör şarapları ve hacmen alkol miktarı en az % 15 olan şaraplar hariç) ve meyve şarapları	2,0	2,0
Aromatize şarap, aromatize şarap bazlı içki ve aromatize şarap kokteyli	2,0	-
Üzüm suyu, üzüm suyu konsantresi, üzüm nektarı ile doğrudan tüketime sunulan üzüm sırası ve konsantresi	2,0	2,0

Çizelge 3.2: Gıdalarda bulunmasına izin verilen OTA limitleri devamı.

Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0,5	0,5
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0,5	0,5
Diğer gıda maddeleri (bulunması muhtemel riskli gıdalar)	10,0	-
Baharatın aşağıdaki türleri için;		
— Kırmızıbiber (<i>Capsicum spp.</i>)		30,0*
(bunların kurutulmuş meyveleri, tüm ve öğütülmüş halleri dahil)	30,0	(30.06.2012 tarihine kadar)
— Karabiber (<i>Piper spp.</i>)	(30.06.2012 tarihine kadar)	15,0*
(bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil)	15,0	(1.07.2012 tarihinden sonra)
— Hintceviz/Muskat (<i>Myristica fragrans</i>)	(1.07.2012 tarihinden sonra)	
— Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>)		
— Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i>)		
Bunların bir veya birkaçını içeren karışım baharat		
Meyan kökü (<i>Glycyrrhiza glabra</i> , <i>G. inflata</i> ve diğer türler)	20,0	20,0*
Meyan kökü	80,0	80,0*
(bitkisel infüzyon bileşeni olarak kullanılanlar)		
Meyan kökü ekstraktı		
(özellikle alkolsüz içecek ve şekerleme üretiminde kullanılan)		

¹ : Türk Gıda Kodeksi, 2011

² : European Commission, 2006

* : European Commission, 2010

3.5 Okratoksin A Analiz Yöntemleri

Gıda maddelerinde OTA belirlemek için seçici analitik metotlar kullanılıp direkt olarak yapılabilir. OTA L-fenilalanine bağlı izokümarinik asitin türevidir. Bu yüzden bu toksinin optik aktivitesi vardır ve floresans özellikleri bulunmaktadır. Bu yüzden kromatografik teknikler doğruluğu ve tekrarlanabilirlikleri olduğu için referans metotlar olarak ele alınmaktadır. Pahalı olması uzun zaman sürmesi ve uzman personel gerektirmesinden dolayı rutin analizlerde çok kullanılmamaktadır. Buna alternatif olarak, biyokimyasal metotlar ve özellikle ümino-bazlı metotlar kullanılır (Hayat ve diğ., 2012). OTA analizi için en sık kullanılan teknik LC/FLD floresans

dedektörlü sıvı kromatografisidir. Fotodiyot dizisi veya kütle spektrometresi gibi alternatif dedektörler de ayrıca kullanılmaktadır. Diğer analiz metotları ise; ince tabaka kromatografisi (TLC), gaz kromatografisi (GC-MS), lazer indüklemeli floresans ile kombine kapiler elektroferez ve (EIA) enzim immunoassay'dir (Medina ve diğ., 2006).

Floresans dedektörlü sıvı kromatografisine dayalı, immünoafinite kolon cleanup veya katı faz ekstraksiyon cleanup ile birleştirilmiş birkaç metot doğrulanıp hububat, kahve, şarap ve bira gibi çeşitli gıdalarda OTA belirlemede resmi metot olarak kabul edilmiştir. ELISA kitleri genellikle gıdalarda OTA taraması için kullanılmaktadır. Anti-OTA antikollarının kullanıldığı yeni gıda teknolojileri (elektrokimyasal immünosensörler, floresans polarizasyonlar, membrandan enzim bazlı akışlar, yüzey plazma rezonans biyosensörler) gıda maddelerinde ve içeceklerde OTA'nın hızlı bir şekilde analizi için önerilmektedir. LC/MS çoklu mikotoksin analizleri üzerinde sıvı LC/FLD dedektör için yeterli bir alternatiftir, (Visconti ve diğ.,2008) fakat LC / FLD daha düşük deteksiyon limitlerine (LOD) sahip olmakla birlikte daha kolay, maliyeti daha düşük ve daha hassastır (Frenette ve diğ., 2008).

OTA analizlerinin ana basamakları; örnek alma, gıda matrisinden ekstraksiyon, ekstraktın saflaştırılması (cleanup), yoğunlaştırma, ayırma, tespit , miktar belirleme ve pozitif örneklerin doğrulanması şeklindedir. Cleanup ve konsantrasyon işlemi genellikle düşük limitler mevcut olduğu zaman uygulanır (Fabiani ve diğ., 2010). Mikotoksinler gıdalarda heterojen dağıldığı için örnek alma işlemi mikotoksin analizleri için çok önemli bir nokta olmaktadır. OTA ekstraksiyonları ise kuru üzümde OTA geri dönüşümünü geliştirmek adına metanollü fosforik asit veya sodyum bikarbonat ile yapılmaktadır. Yüksek geri dönüşüm ise metanol ve sodyumbikarbonat çözeltisi kullanımıyla olur (Galvis-Sanchez ve diğ., 2008). Genel olarak, gıda örnekleri hazırlık aşaması olmadan analiz edilemezler, çünkü kontaminantlar çok seyreltik matris ise çok komplekstir. Ekstraksiyon ve cleanup aşamaları analitik prosedürlerin kritik noktalarıdır, çünkü analitik prosedürün uzunluğu, doğruluğu, geri dönüşümü ve ulaşılabilecek limit değeri bu aşamaya bağlıdır. OTA analizleri için kullanılan sıvı-sıvı ekstraksiyonların, katı-sıvı ekstraksiyonların kullanıldığı çoğu metot basitliği ve solvent ihtiyacı azlığı bakımından ekonomik olduğu için alternatif metotlar olarak geliştirilmiştir. Cleanup aşaması yeterli olmasa da. Son birkaç yıl içinde clean-up prosedürü için yeni teknikler geliştirilmiştir (Hayat ve diğ., 2012).

OTA belirlemede kullanılan lazer indüklemeli floresans kapiler elektroferez yönteminin hassaslığı LC/MS, LC/FLD gibi sıvı kromatografisi yöntemlerine yakındır (Galvis-Sanchez ve diğ., 2008).

TLC yöntemi değerlendirilecek olursa; gıda ve yem taramalarında kesinlik ve doğruluk açısından yeterli değildir. Biyosensör yöntemi ise hızlı bir tarama sağlar ancak ekipmanlar yeni ve pahalıdır, yaygın olarak kullanılmamaktadır. Immünokromatografi testi ise hızlıdır fakat yalnızca nitel analizlerde kullanılabilir (Zhang ve diğ., 2011).

Son yıllarda yeni teknolojiler hızlı immünokimyasal yöntemlerle birleştirilmiş olsa da, Bunlar ; biyosensör dizisi, floresans polarizasyon immunoassay, ekran yazıcıli elektrot immünoassay, yüzey plazmon rezonans ve kuvars kristal mikroterazi gibi yanal akım araçlarını gerektirmektedir. Biyoluminesan analizleri çok hızlı olsa da geridönüşümü düşüktür ve pH ve sıcaklık gibi ortam şartlarından çok çabuk etkilenmektedir (Galvis-Sanchez ve diğ., 2008).

Biyosensör, floresanslı immunoassay ve ELISA yöntemleri kolay olmasına rağmen bazı durumlarda miktarı yüksek ölçmekte veya yanlış negatif pozitif sonuçlar verebilmektedir, ve bunların büyük ölçekte analizi yüksek maliyet gerektirmektedir (Galvis-Sanchez ve diğ., 2008).

Son yıllarda hububat ürünlerinde mikotoksin tespiti için FTIR kullanıldığı görülmüştür. Kompleks matrislerde içerik tanımlamak için IR titreşim spektroskopisi kullanımı zor bir iştir. Spektrumdaki bir fonksiyonel grup ile ilişkili bölgedeki çoklu pikler için , hangi piklerin bir spesifik moleküle ait olduğunu belirlemek mümkün değildir (Galvis-Sanchez ve diğ., 2008).

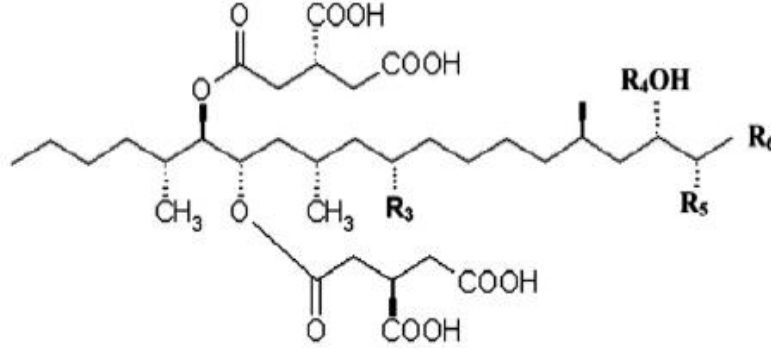
4.FUMONİSİN

Fumonsinler özellikle *Fusarium verticilloides* ve *Fusarium proliferatum* gibi çeşitli fusarium türleri tarafından üretilir , bütün dünyada mısır ve mısır bazlı ürünlerde doğal kontaminant olarak bulunur. Fumonisinler 1988’de Güney Afrika’nın Transkei bölgesinde sık tüketilen mısırdan izole *F. verticilloides* (önceki adı *F. moniliforme* Sheldon MRC 826) izole edilmiştir. Fumonisin türevleri arasında, FB₁ en yaygın olanıdır (Karbancıoğlu Güler ve Heperkan, 2009). Son yıllarda siyah aspergilliye ait *Aspergillus niger*’in önemli bir fumonisin üreticisi olduğu görülmüştür (Logrieco ve diğ., 2011)

Fumonisinler yapısal olarak farklı gruplara ayrılabilir, bunlardan dört tanesi A,B,C ve P fumonisinleri olarak belirlenmiştir. Bu farklılık fumonisin gruplarının yapılarında bulunan nitrojenlerin fonksiyonel özelliğine ve karbon diziliminin uzunluğuna bağlıdır (Varga ve diğ., 2010). Beyaz higroskopik toz halinde bulunur, suda, asetonitril-su veya metanol’de çözünebilir asetonitril-su (1:1) içinde stabil halde kalabilen, metanole dayanıksız olan bir maddedir. Fumonisinlerin A serisi tane mısırdan izole *F. verticillioides* kültüründen izole edilmiştir, B serisinden farklı olarak C-2 pozisyonunda amin grubu yerine N asetil amid grubu içerir. Fumonisinlerin C serisi, küflü mısırdan izole edilmiş olup kimyasal olarak B serisine benzemektedir sadece C serisinde C-1 terminal metil grubu bulunmamaktadır. P serisi mısırdan gelişen *F. proliferatum*’den izole edilmiştir B serisindeki aminin aksine C-2 kısmında 3- hidroksipiridinyum içerir. Fumonisin B₁ fumonisinler arasında en sık bulunan toksindir. Fumonisin B₁ deneysel formülü C₃₄H₅₉NO₁₅, propan-1,2,3-trikarboksilik asit ve 2-amino-12,16-dimetil-3,5,10,14,15-pentahidroksieikozan’ın diesteridir molekül ağırlığı 721 g/mol’dür.

Fumonisin B₂, fumonisin B₁’in C-10deoksi türevidir (propan-1,2,3-trikarboksilikasit-2S-amino-12S,16Rdimetil3S,5R,10R,14S,15R-pentahidroksieikozan diesteri) , C-14 ve C-15 hidroksil grupları terminal karboksi grubu olan propan-1,2,3-trikarboksilik asit tarafından esterleşmiştir. Eikozan diziliminde serojenik merkezin yerini tutan konfigürasyona sahiptir. Fumonisinlerin suda , metanol ve asetonitrilin sulu

çözümlerinde çözünebilir polar yapısı vardır, fakat non-polar solventlerde çözünmezler (Waskiewicz ve diğ., 2012). Fumonisinlerin kimyasal yapısı Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Bileşenler	Deneyisel formül	Molekül ağırlığı	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
Fumonisin A ₁	C ₃₆ H ₆₁ NO ₁₆	763	OH	OH	NHCOCH ₃	CH ₃
Fumonisin A ₂	C ₃₆ H ₆₁ NO ₁₅	747	H	OH	NHCOCH ₃	CH ₃
Fumonisin A ₃	C ₃₆ H ₆₁ NO ₁₅	747	OH	H	NHCOCH ₃	CH ₃
Fumonisin B ₁	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₅	721	OH	OH	NH ₂	CH ₃
Fumonisin B ₂	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	705	H	OH	NH ₂	CH ₃
Fumonisin B ₃	C ₃₄ H ₅₉ NO ₁₄	705	OH	H	NH ₂	CH ₃
Fumonisin C ₁	C ₃₃ H ₅₇ NO ₁₅	707	OH	OH	NH ₂	H
Fumonisin P ₁	C ₃₉ H ₆₂ NO ₁₆	800	OH	OH	3HP	CH ₃
Fumonisin P ₂	C ₃₉ H ₆₂ NO ₁₅	784	H	OH	3HP	CH ₃
Fumonisin P ₃	C ₃₉ H ₆₂ NO ₁₅	784	OH	H	3HP	CH ₃

Şekil 4.1 : Fumonisinin kimyasal yapısı (Waskiewicz ve diğ., 2012).

F. verticilloides için 17 gen kümesi belirlenmiştir bunlar FUM1–FUM3 ve FUM6–FUM21 tanımlanmış, karakterize edilmiş ve klonlanmıştır. FUM2 ve FUM3’ün FUM9 ve FUM12 ayrı ayrı özdeş olduğu görülmüştür. Bu kümeler fumonisin biyosentezini katalize eden dokuz enzimi kodlamaktadır (Myung ve diğ., 2009). Fumonisin biyosentetik yolu doğrusal iki metil gruplu poliketit ve poliketit sentaza bağlı karbonil grubunun sentezlenmesiyle başlar (FUM1 tarafından kodlanır).

FUM21, en son tanımlanmış gendir, FUM1 poliketit sentaz geninin bitişiğinde bulunur ve transkripsiyon prosesinde yer alır. Bu aşamadan sonra karbonil grubu bir hidroksil grubuna indirgenir (FUM13), iki karbon atomu dört karbon atomuna hidroksile olur (FUM2 (eski FUM12) ve FUM6 FUM3) ve altı atomlu propantrikarboksilik asitin esterleşmesi (FUM9) görülür (Bryla ve diğ., 2013).

A. niger fumonisin gen kümesi, *Fusarium* FUM kümesinden daha farklıdır. *A. niger* gen kümesinde *Fusarium* FUM kümesinde olan 7 gen bulunmamaktadır. *A. niger* kümesinde eksik olan bu FUM2 geni, fumonisin molekülünün iskeletinde onuncu karbon atomunun hidroksilasyonundan sorumludur (Susca ve diğ., 2010).

4.1 Fumoisinlerin Sağlık Üzerine Etkileri

Fumonisinlerin vücuttaki sfingolipid biyosentezinde ara madde olarak üretilen sfingosin yapısına benzerliğinden dolayı bu toksinin sfingolipid mekanizmasını inhibe ederek hücrede bir takım istenmeyen ciddi problemler meydana getirdiği düşünülmektedir. Karaciğer ve böbreklerde sphingolipid metabolizmasının FB₁ tarafından engellenmesi direk doku hasarına neden olmaktadır (Rocha ve diğ., 2011). Fumonisinler ayrıca seramit sentezini inhibe eder böylece sfingolipid metabolizmasına ait sfingozin ve diğer sfingoid bazlı ürünler olan biyoaktif ara ürünlerin birikmesine ve kompleks sfingolipidlerin azalmasına neden olur. Ayrıca membran proteinlerinin fonksiyonlarını engellerler (Waskiewicz ve diğ., 2012).

Fumonisinlerin bilinen toksizitesi ve karsinogenisitesine ek olarak, bu toksinlerin teratojenik olduğu görülmüştür, nöral tüp dejenerasyonunu azaltan folik asitin yararlılığını azalttığı düşünülmektedir. Bu ise fumonisinlerin tüketiminin insanlarda sinir yolu hasarı (nöral tüp hasarı) ve bunlarla alakalı olan kraniofasiyal anomaliler için risk faktörü oluşturmaktadır. Folat metabolizmasına engelleyerek nöral tüp defektlerini artırır (Waskiewicz ve diğ., 2012).

Transkei – Güney Afrika and Linkian-Çin bölgelerinde görülen özofagus kanser oranı ve *F. verticilloides*, fumonisin miktarı arasında pozitif bir korelasyon olduğu görülmüştür. Bu da FB₁'in nefrotoksik, hepatoksik olduğunu ve çeşitli hayvanlar üzerinde immunosupressif etkisi olduğunu göstermektedir. Fumonisinlerin atlarda leukoencephalomalacia (beyin iltihabı) hastalığına, farelerde ise akciğer ödemi ve karaciğer kanserine neden olduğu görülmüştür (Karbancıoğlu ve Heperkan, 2009). IARC tarafından deney hayvanları üzerine yapılan çalışmalar sonucu insan

karsinojenleri olarak sınıflandırılmıştır. Tolere edilebilir günlük alım miktarları (TDI) Avrupa Birliği-Gıda Bilimsel Komitesi tarafından fumonisin B₁, B₂ ve B₃ için 2µg/kg olarak belirlenmiştir (SCF, 2003). Gıda bilimsel komitesi Fisher fareleri üzerine yapılan çalışmalar sonucunda fumonisinlerin (B₁, B₂, B₃) hayvan hepatositleri ile sitotoksik ilişkisi olduğu ve hepatosit nodüllerini indüklemeye potansiyeline sahip olup ve bunları artırdığı görülmüştür. Fumonisine maruz kalmış karaciğer incelendiğinde karaciğerdeki lipid peroksidasyonunun arttığı görülmüştür. Buda oksidatif zararın belirtilerinden olup toksisite ve karsinogenesisite oluşturmaktadır. Fumonisin B₁ ile muamele; hepatoksisite ve apoptoza neden olup hücre çoğalması üzerine inhibitör etkisi bulunmaktadır, prosesle ilgili normal gelişimi engeller sonra normal olan karaciğer homeostasisin bozulması ile hepatosellüler kanser (HCC) gibi kanser riskleri artar. HCC dünyada beşinci yaygın kanser türüdür. Çin; Haimen (Jiangsu) ve Penlai'de (Shandong Eyaleti) yapılan karaciğer kanseri taramalarında Haimen'deki ölüm oranının Penlai'dekine kıyasla dört kat fazla olduğu görülmüştür. Buralarda 240 mısır üzerinde yapılan 3 yıllık çalışmanın sonuçları incelendiğinde ise fumonisin B miktarının Haimende 10-50 kat fazla olduğu görülmüştür (Waskiewicz ve diğ., 2012).

4.2 Fumonisin Üreticisi Küfler

Fumonisinler ilk olarak *Fusarium verticillioides* tarafından üretildiği tespit edilen karsinogenik mikotoksinlerdir. Sonraki yıllarda *Fusarium proliferatum*, *F. subglutinans*, *F. oxysporum* ve *F. globosum* gibi *Fusarium*'a ait diğer türlerin de bu toksini üretebildiği görülmüştür (Varga ve diğ., 2010). *F. verticillioides* ve fumonisinler bütün mısır üretim alanlarında bulunur *Fusarium spp.* genel olarak sıcak ve kuru bölgelerde baskındır. Mısır ve mısır ürünlerine ek olarak, fumonisinler buğday ve arpa, pirinç, sorgum, kuşkonmaz, siyah çay, tıbbi otlarda bulunur (Karbancıoğlu ve Heperkan, 2009). Fumonisinlerin A serisi tane mısırdan izole *F. verticillioides* kültüründen izole edilmiştir. P serisi mısırdaki bulunan *F. proliferatum*'den izole edilmiştir (Waskiewicz ve diğ., 2012).

F. napiforme, *F. oxysporum*, *F. dlamini*, *F. nygamai* sıklıkla mısır ve mısır ürünlerinde fumonisin kontaminasyonuna neden olmaktadır (Waskiewicz ve diğ., 2012). *F. ramigenum*'un kuru ve yaş incirde kontaminasyona neden olduğu tespit edilmiştir. (Moretti ve diğ., 2009).

Fusarium verticillioides katı besiyerlerinde fumonisin B₁, B₂, B₃ üretirken, *A.niger* ise yüksek karbonhidrat veya NaCl içeren katı besiyerlerinde sadece fumonisin B₂ üretmektedir (Noonim ve diğ., 2010). *A. niger* bazı suşları hem okratoksin A hem de fumonisinleri üretmektedir, böylece bazı gıda ve yemler bu iki toksini birlikte içerebilmektedir (Frisvad ve diğ., 2007).

Kuru üzüm, hurma ve incir gibi düşük su aktivitesine sahip ürünlerde *Aspergillus niger* izolatları yüksek miktarda fumonisin üretme potansiyeline sahiptir (Varga ve diğ., 2010). 2007 yılında yapılan bir çalışmada ilk kez *A. niger* tarafından FB₂ üretilbildiği açıklanmış, aynı çalışmada farklı bileşime sahip besiyerlerinin etkisi de incelenmiş ve sakkaroz, NaCl veya gliserol içeren ortamların *A. niger*'in fumonisin üretimini destekleyici etkisi olduğu görülmüştür (Frisvad ve diğ., 2007). *Aspergillus niger* ile evrimsel olarak ilişkili fumonisin biyosentezini yapan bir gen kümesi bulunmuş, kahve çekirdeği ve üzümde elde edilen *A. niger* izolatlarının fumonisin ürettikleri kanıtlanmıştır (Waskiewicz ve diğ., 2012).

Yapılan bir çalışmada 180 adet *Aspergillus niger* izolatının %8'inin fumonisin, %17'sinin OTA, %10'unun ise her iki mikotoksini de ürettiği saptanmıştır (Frisvad ve diğ., 2011b). *Aspergillus section Nigri* üyelerinin fumonisin üretimleri ile ilgili yapılan bir çalışmada Tayland'da yetiştirilen kahve çekirdeklerinden elde edilen izolatlar kullanılmıştır. Fumonisin B₂ üreticisi 2 küfün aynı zaman da okratoksin A ürettiği de bulunmuştur (Noonim ve diğ., 2009). Chiotta ve diğ. (2011), sadece *A. niger*'in OTA ve fumonisini birlikte üretebileceğinden bahsetmiştir. Bu kapsamda yaptıkları çalışmada Arjantin üzümünden izole edilen *A. niger*'in fumonisin üretme sıklığının (%35) OTA üretme sıklığına (%14) göre daha az olduğunu belirtmişlerdir.

Varga ve diğ. (2010) yaptığı çalışmada *A. niger*'in sadece fumonisin B₂ ve B₄ ürettiği görülürken *F. verticillioides* arpa, yulaf, pirinç, patates, ve havuçtan elde edilen katı besiyerlerinde fumonisinlerin hepsini üretebildiği görülmüştür. Ayrıca *Aspergillus* izolatlarının *Fusaria* ile kıyas edildiğinde daha az miktarda fumonisin üretmelerine rağmen, kurutma prosesi kuru üzümde bu toksinin birikmesine neden olduğu görülmüştür.

4.3 Gıdalarda Fumonisin Varlığı

Fumonisinler mısır ve mısır bazlı ürünlerde çok sık bulunmaktadır. FB₁ sadece mısır ve mısır bazlı ürünlerde değil, bira, pirinç, tritikale, börülce tohumu, fasulye, soya ve

kuşkonmazda da görülmüştür (Scott, 2012). Ekmeklik buğdaylar ve durum buğdaylarında fumonisin taraması ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Arjantin'in ana buğday üretim alanından toplanan 135 ekmeklik 40 durum buğdayı üzerine yapılan çalışmada; ekmeklik buğdaylarda 0.16- 680.44 µg/kg arasında, durum buğdayında ise 0.15- 1304.39 µg/kg arasında fumonisin varlığı tespit edilmiştir (Cendoya ve diğ., 2014). Arjantinde 2007-2008 iki farklı hasat zamanında toplanan 55 durum buğdayı üzerinde yapılan çalışmada, 2007 yılındaki 30 örnekten 29'unun (%97) 10.5 -1245.7 µg/kg arasında FB₁ ve FB₂, 2008 yılında ise 25 örnekten 6'sında fumonisin görülmüştür (Palacios ve diğ. , 2011). İran'da yapılan bir çalışmada ise; farklı marketlerden toplanan 82 buğday örneği üzerinde FB₁, FB₂ ve FB₃ ayrı ayrı %68.2, % 42.6, ve % 31.7 oranlarında ve 15-155 µg/kg, 12-86 µg/kg ve 13-64 µg/kg miktarlarında görülmüştür (Khosrow ve diğ.,2010). 2010-2011 yılları arasında 7 farklı Avrupa ülkesinden toplanan 33 bira örneği analiz edilmiş 33 örneğin 32'sinde FB₁görülmürken (%97), 19'unda FB₂ görülmüştür (%57.6). Diğer ülke biralarıyla karşılaştırıldığında en yüksek miktarda fumonisin İtalyan biralarında görülmüştür (30.3 µg/L FB₁ ve 3.9 µg/L FB₂) (Bertuzzi ve diğ., 2011).

Malavi'nin Lilongwe ve Dowa Bölgeleri'ndeki chewa kabileleri ve ticari köy biracılarından rastgele toplam 9 adet geleneksel bira örneği analiz edilmiş. Bütün bira örneklerinde fumonisin tespit edilmiştir. FB₁ ve FB₂ toplamı 1745-1294 µg/kg miktarları arasında, FB₁,FB₁ ve FB₃ toplamı 1898-1405 µg/kg miktarları arasında görülmüştür (Matumba ve diğ., 2013).

Ege Bölgesi'nde 7 farklı yerden 2003-2004 yıllarında kurutma dönemlerinde toplanan 115 incir numunesi üzerinde FB₁ analizi yapılmış. 115 kuru incir örneğinin 86'sında (%74.4) 0.046–3.649 µg/g aralığında FB₁ görülmüştür, bunların ise %9.6'sındaki FB₁ düzeyinin 1 µg g⁻¹'dan fazla olduğu belirtilmiştir (Karbancıoğlu Güler ve Heperkan, 2009).

İtalya' da yapılan bir araştırmada ise Apulia bölgesinden toplanan incirlerin *F. ramigenum*, *F. solani* ve *F. proliferatum* ile kontamine olduğu. *F. ramigenum* suşlarının kültür ortamında 1.575 mg/kg düzeyinde FB₁ ve FB₂ meydana getirdiği saptanmış böylece *F. ramigenum*' un kuru ve yaş incirlerde fumonisin oluşturabildiği belirlenmiştir (Moretti ve diğ., 2009).

Ege Bölgesi'nde 2011 yılında dünya kuru incir üretiminin %60'ını karşılayan Büyük ve Küçük Menderes Havzalarında yetiştirilen Sarılop incirleri üzerinde yapılan bir diğer çalışmada kuru incir örnekleri incelenmiş. 2004 ve 2005 yıllarında

hasat edilen bu numunelerle yapılan çalışmalarda FB₁ ve FB₂ varlığı tespit edilmiştir. 2004 yılında hasat edilen 125 örneğin 64'ünde (%52), ortalama 0.052 µg kg⁻¹ FB₁ ve 12'inde ise ortalama 0.043 µg kg⁻¹ FB₂ bildirilmiştir. 2005 yılında hasat edilen 137 örneğin 111'inde ortalama 0.075 µg kg⁻¹ FB₁ ve 44'ünde ortalama 0.042 µg kg⁻¹ FB₂ kontaminasyonu bildirilmiştir (Köseoğlu, 2008).

Lizbon ve Portekiz marketlerinden toplanan 18 farklı tip siyah çay ve 4 farklı tıbbi bitkisinden oluşan 69 adet örnek üzerinde FB₁ ve FB₂ analizi yapılmış. Siyah çayların % 88'inde 80 ve 280 µg/kg, portakal ağacı yapraklarında 350–700 µg/kg, ıhlamur yapraklarında ise 20–200 µg/kg miktarları arasında FB₁ görülmüştür (Martins ve diğ., 2001).

Kahve çekirdeklerinde fumonisin kontaminasyonu üzerine yapılan bir çalışmada, 12 kahve çekirdeğinin 7 tanesinde 1- 9.7 µg/kg FB₂ bulunmuştur. 2 tanesinde FB₂ ile FB₄'ün beraber bulunduğu bildirilmiştir (Noonim ve diğ., 2009).

Üzümlerde FB₂ kontaminasyonu ilk kez İtalya'da depolanan üzüm örneklerinde tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada üzümden izole edilen sekiz tane *A. niger* izolatından dört tanesinin 29-293 µg/g miktarları arasında FB₂ ürettiği bildirilmiştir (Logrieco ve diğ., 2009). Üzümlle ilgili yapılan bir diğer çalışmada, izole edilen *A. niger* suşlarının %77'sinin besiyerinde FB₂ ürettiği bildirilmiştir. Fumonisin üretme kapasitesine sahip 10 adet *A. niger* suşunun üzüme inokülasyonları sonucu üzümde, 171-7841 µg/kg FB₂ ve 14-1157 µg/kg FB₄ oluşumu gözlemlenmiştir. Fumonisin üreticisi 4 suş, kuru üzümde de 5-6476 µg/kg FB₂ ve 12-672 µg/kg FB₄ üretmiştir (Mogensen ve diğ., 2010).

Macaristan' da kuru üzümlerle ilgili yapılan bir diğer çalışmada 30 adet *A. niger/A. awamori* suşlarının 20 tanesinin fumonisin olduğu belirlenmiştir. Kontaminasyon miktarı 0.017–19.6 mg/kg arasında değişmektedir. 7 kuru üzüm örneğinde Siyah aspergilli tarafından 4.55-35.49 mg kg⁻¹ konsantrasyonunda fumonisin kontaminasyonu meydana gelmiştir (Varga ve diğ., 2010).

Batı Yunanistan Bölgesi'nde bulunan Zante Adası ve Peloponez bölgelerinden 2011 yılının Eylül ayında alınan toplam 41 adet kuru üzüm örneği üzerinde yapılan incelemede örneklerin 12'sinde (%29,2) 7.1 µg/kg ve 25.5 µg/kg aralığında FB₂ tespit edilmiştir (Perrone ve diğ., 2013).

Çizelge 4.1'de fumonisin tespit edilen gıdalar gösterilmiştir.

Çizelge4.1: Gıdalarda fumonisin varlığı.

Gıda Örneği	Pozitif Örnek Sayısı/ Örnek Sayısı		Aralık Değer (µg/kg)		Yöntem	Ülke	Referans
Kuru incir	FB ₁ 86/115		FB ₁ 46-3649		HPLC	Türkiye	Karbancıoğlu ve Heperkan, 2009
Kahve çekirdeği	FB ₂ 7/12		FB ₂ 1-9,7		LC-MS/MS	İtalya	Noonim ve diğ., 2009
Üzüm	FB ₂ 2/12		FB ₂ 10-400		LC-MS/MS	İtalya	Logrieco ve diğ., 2009
Kuru Üzüm	FB ₂ 12/21		FB ₂ 7,1-25,5		HPLC	Yunanistan	Perrone ve diğ., 2013
Kuru Üzüm	FB ₂ 7/13		FB ₂ 4,55-35,49		HPLC	Macaristan	Varga ve diğ., 2010
Şarap	FB ₂ 18/77		FB ₂ 1-25		LC-MS/MS	İtalya	Mogensen ve diğ., 2013
Şarap	FB ₂ 9/45	FB ₄ -	FB ₂ 0,4-2,4	FB ₄ -	LC-MS/MS	İtalya	Logrieco ve diğ., 2010

Çizelge4.1: Gıdalarda fumonisin varlığı devamı.

Gıda Örneği	Pozitif Örnek Sayısı/ Örnek Sayısı				Aralık Değer (µg/kg)				Yöntem	Ülke	Referans
	FB ₁	FB ₂	FB ₃	FB ₆	FB ₁	FB ₂	FB ₃	FB ₆			
Darı	35	36	35	10/37	508	149	41	2263			
Yer fıstığı	18	12	15/35	-	5	2	3	-			
Soya fasulyesi	10	10	10/10	-	49	11	7,5	-	LC-ESI-MS/MS	Kamerun	Abia ve diğ., 2013
Mısır birası	14	14	14	1/14	334	55	43	76,13			
Yer fıstığı çorbası	11	5	1	2/15	4	3	1,88	201			
Kuru kuru	6	-	2/6	-	3,2	-	3,8	-			
Dagwa	8	8	7/8	-	90	23	7	-			
Yulaf bazlı tahıl	FB ₁ +FB ₂				FB ₁ +FB ₂						
Arpa bazlı tahıl	-				-						
Soya formülü	-				-				HPLC	Nijerya	Somorin ve diğ., 2012
Kremalı mısır	-				-						
Soya bazlı tahıl	18/24				44						
Pirinç bazlı tahıl	1/25				10						
Çok tahıllı gevrek	22/69				43				HPLC-OPA	Kanada	Lombaert ve diğ., 2010
Diş bisküvisi	1/2				20						

Çizelge4.1: Gıdalarda fumonisin varlığı devamı.

Gıda Örneği	Pozitif Örnek Sayısı/ Örnek Sayısı		Aralık Değer (µg/kg)		Yöntem	Ülke	Referans
	FB ₁	FB ₂	FB ₁	FB ₂			
Mısır unu	28/29	19/29	494	158			
Mısır irmiği	19/28	8/28	414	171	HPLC-OPA	Brezilya	Martins ve diğ., 2012
Patlamış mısır	15/17	10/17	338	108			
Mısır nişastası	11/15	8/15	254	86			
Mısır gevreği	9/11	6/11	398	87			
Buğday	FB ₁ 92/103		FB ₁ 919-2079		ELISA	Sırbistan	Stankovic ve diğ., 2012
Yer elması unu (Yam Flour)	FB ₁ 32/100	FB ₂ 5/100	FB ₁ <0.5-9	FB ₂ <LOD 2	HPLC	Nijerya	Somarin ve diğ., 2012
Darı	FUM 57/63		FUM 1756				
Buğday	20/51		66		ELISA	Hırvatistan	Pleadin ve diğ., 2013
Arpa	5/34		44				
Yulaf	2/33		28				
Bira	FB ₁ 25/29	FB ₂ 12/29	FB ₁ 0,3-12,7	FB ₂ -	HPLC-OPA	Amerika	Hlywka ve Bullerman, 2010

4.4 Fumonisinler İlgili Yasal Düzenlemeler

Meyvelerde FB₁ için henüz bir yasal düzenleme mevcut değildir. Avrupa Birliği işlenmemiş mısır ve mısır ununda maksimum limiti 2µg/g, mısır irmiği ve mısır yemi için maksimum limit ise 1µg/g olarak belirlenmiştir (EC 2006). FDA tarafından fumonisinler için kabul edilen maksimum miktarlar iyi tarım uygulamaları ve iyi üretim uygulamaları doğrultusunda tabloda gösterilmiştir (FDA,2001). Ülkemizde de gıdalarda bulunan maksimum fumonisin düzeyleri 2008 yılında belirlenmiştir (TGK, 2008). Çizelge 4.2 ' de fumonisin ile ilgili yapılan yasal düzenlemeler verilmiştir.

Çizelge 4.2 : Fumonisin düzeyleri ile ilgili gıdalardaki yasal düzenlemeler.

Ülke	Ürün	Maksimum düzey (µg/g)	
	Kuru öğütme ile edilmiş mısır ürünleri (Yağ içeriği kuru bazda <%2.25 olan mısır unu vb.	FB ₁ +FB ₂ +FB ₃	2
ABD ¹	Bütün veya kısmen kuru öğütlemeyle elde edilmiş mısır ürünleri	FB ₁ +FB ₂ +FB ₃	4
	Kuru öğütlemeyle elde edilmiş mısır kepeği	FB ₁ +FB ₂ +FB ₃	4
	Mısır tortilla üretiminde kullanılacak temizlenmiş mısır	FB ₁ +FB ₂ +FB ₃	4
	Patlamış mısır üretiminde kullanılacak temizlenmiş mısır	FB ₁ +FB ₂ +FB ₃	3
Avrupa Birliği ²	İşlenmemiş mısır	FB ₁ +FB ₂	2
	Mısır unu, öğütülmüş mısır, yağı alınmış öğütülmüş mısır, rafine mısır irmiği	FB ₁ +FB ₂	1
	Doğrudan tüketilen mısır bazlı ürünler (Mısır unu, öğütülmüş mısır, yağı alınmış öğütülmüş mısır, işlenmiş bebek ve çocuk gıdaları hariç)	FB ₁ +FB ₂	0.4
	İşlenmiş mısır bazlı bebek ve çocuk gıdaları	FB ₁ +FB ₂	2
	İşlenmemiş mısır (ıslak öğütülecekler hariç)	FB ₁ +FB ₂	4
Türkiye ³	Doğrudan insan tüketimine sunulan mısır ve mısır bazlı ürünler	FB ₁ +FB ₂	1
	Mısır bazlı kahvaltılık tahıllar ve mısır bazlı çerez	FB ₁ +FB ₂	0.8
	Bebek ve çocuk ek gıdaları (işlenmiş mısır bazlı olanlar)	FB ₁ +FB ₂	0.2

Çizelge 4.2 : Fumonisin düzeyleri ile ilgili gıdalardaki yasal düzenlemeler devamı.

500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısırın kabaca öğütülmesinden elde edilen küçük parçalar ve mısır ilmiği (GTIP 1103 13) veya mısırdan elde edilen pelleter (GTIP 1103 20 40) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri (GTIP 1904 10 10)	FB ₁ +FB ₂	1.4
500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır unu (GTIP 1102 20) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri (GTIP 1904 10 10)	FB ₁ +FB ₂	2

¹ : FDA, 2001

² : EC, 2006

³ : TGK, 2008

4.5 Fumonisin Analiz Yöntemleri

Fumonisin belirlenmesinde; ince tabaka kromatografisi (TLC), GC/MS, kütle spektrometrelili kapiler elektroforez (CE/MS) ve LC/FLD gibi analitik teknikler kullanılmaktadır. Son yıllarda yüksek hassasiyetinden dolayı LC/MS kullanılmaya başlamıştır. Fumonisinler elektrosprey iyonizasyon (ESI) ile de belirlenebilmektedir. Çok fazla sayıdaki örneğin fumonisin miktarını kolay bir şekilde belirlemek için ELISA gibi antikorlara dayanan metotlar da kullanılmaktadır(Waskiewicz ve diğ., 2012). Son yıllarda fumonisin analizlerinde FT-NIR spektroskopisi kullanılmaya başlamıştır. Bu tekniğin avantajı hızlı ve kolay kullanılır olmasıdır(Gaspardo ve diğ., 2012).

HPLC/FLD gıda ve yemlerde fumonisin analizi için kullanılmaktadır. Dünya genelinde mısır ve mısır bazlı ürünlerin HPLC/FLD analizi öncesi türevlendirme yapılmaktadır. Fumonisinler molekül yapılarında kromofor bulundurmadiğı için fumonisin molekülleri UV ışınlarını absorbe edemezler ve de herhangi bir floresans özellik göstermezler. Bu yüzden HPLC/FLD ile analizlerde, fumonisinlerin floresans özellik gösteren bileşiklere türevlendirilmesi gerekmektedir (Bryla ve diğ., 2013). Türevlendirmenin dezavantajı ise reaktif madde ile türevlendirilmiş ürünün stabilitesini belli bir zaman içinde kaybetmesidir. Bu sorun reaktif eklendikten

sonra 2 dakika içinde HPLC'ye enjekte edilmesi ile çözülmektedir. Türevlendirme için nafteleno-2,3-dikarboksilik aldehit (NDA), cyanobenz [f] izoindol (CBI), ophtaldialdehyde (OPA) ve 7.floro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole (NBD-F) gibi farklı reaktifler kullanılmaktadır (Bryla ve diğ., 2013). Fakat hepsinde de aynı dezavantaj söz konusudur. Fumonisin analizi için geliştirilen TLC metotları normal faz (silika) ve ters faz (C18) kromatografi içerirler. Bir veya iki boyutlu TLC yüksek miktarda fumonisin içeren gıda ve fungal kültürlerde fumonisin analizi için kullanılmaktadır. Yem gibi kompleks matrislerde ara ürünler uzaklaştırılamadığı için tek boyutlu TLC kullanımı yeterli olmamaktadır (Krska ve diğ., 2007).

GC metotları fumonisin hidrolizi içerir, 1,2,3-propane tricarboxylic acid esterifikasyonu veya aminopoliol kısmının açılması ile devam eder. GC-MS (Gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi) fumonisin analizlerinde sınırlı bir şekilde kullanılmaktadır, genellikle fumonisinlerin hidrolizatlarında bulunan TCA (trikarbalk asit) kısmını tanımlamak için kullanılır (Krska ve diğ., 2007). (GC/MS) yöntemi oldukça hassas ve seçici olmasına rağmen pahalı ekipman içerdiği için cazip değildir (Arranz ve diğ., 2010).

LC-MS metotları HPLC'den daha hassastır fakat genellikle metabolik çalışmalar için kullanılmaktadır. Kemirgen yemlerinde LC/ESI-MS baz alınarak bir metot geliştirilmiş ve düşük miktarları belirlemede kullanılmıştır (LOD=1.1 µg/kg) (Krska ve diğ., 2007).

ELISA, uygulanması kolay ve pahalı ekipman gerektirmeyen bir yöntemdir. Bu yöntem ile FB₁ sadece nicelik olarak belirlenebilir (Arranz ve diğ., 2010), fakat LC metotlarına kıyasla hassasiyetleri düşüktür. Bu metot ayrıca hidrolize fumonisin miktarını belirlemek için de kullanılmaktadır. ELISA yönteminde çoğu zaman fumonisin miktarı normalden fazla bulunmaktadır. Bu fazlalığın mevcut antikorların fumonisin olmayıp yapısal olarak fumonisine benzeyen maddelere de çapraz bir şekilde bağlanması ile ilgili olduğu düşünülmektedir (Krska ve diğ., 2007).

İmmünoensör ve kapiler zon elektroforezi gibi diğer metotlar da gıda maddelerinde fumonisin tayini için geliştirilmiş fakat bunlarla ilgili geniş bir uygulama yapılmamıştır (Krska ve diğ., 2007).

Sonuç olarak, gıda maddelerinde fumonisin analizi için en fazla kullanılan analitik metodun LC-FLD olduğu görülmektedir. Gıda analizleri için, OPA türevlendirmesi sonra uygulanan LC metodu FB₁, FB₂, FB₃ analizi için AOAC tarafından standart teknik olarak kabul edilmiştir. LC/FLD ayrıca yemlerde fumonisin belirleme için de

kullanılmaktadır (Krska ve diğ., 2007). LS/MS son zamanlarda sıkça kullanılmaya başlamıştır. FD ile kıyasla MS dedektörünün asıl avantajı herhangi bir türevlendirme gerektirmemesidir böylece analiz daha kolay hale gelmektedir (Bryla ve diğ., 2013).

5.MATERYAL VE METOT

5.1 Kuru Üzüm Örnekleri

Çalışmada İzmir, Bingöl, Kahramanmaraş, Konya, Gaziantep ve İstanbul illerinden temin edilen 5 çeşit kuru üzüm; 19 adet Sultana(çekirdeksiz), 15 adet Besni (kırmızı iri çekirdekli), 17 Antep (iri çekirdekli siyah), 4 Maraş (siyah çekirdekli), 2 Karaman (çekirdekli siyah),1 Adet Urumu(çekirdekli sarı küçük) 1 adet Dımışkı (kırmızı iri çekirdekli) olmak üzere toplam 60 adet kuru üzüm temin edilmiştir. Kuru üzüm örnekleri analize alınincaya kadar +4°C’de saklanmıştır. Elde edilen sonuçlar AB ülkelerinde ve Türk Gıda Kodeksi (TGK)’nde kabul edilen maksimum limitlere göre değerlendirilmiştir.Kuru üzüm örnekleri Çizelge 5.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 5.1: Kuru Üzüm Örnekleri.

Örnek No	Çeşit	Şehir	Ortalama en (cm)	Ortalama boy (cm)	Çekirdek	Renk
1	Sultana	Manisa	1,046	1,46	Yok	Kahverengi
2	Sultana	Manisa	1,022	1,34	Yok	Sarı
3	Sultana	Manisa	1,064	1,36	Yok	Sarı
4	Sultana	İzmir	1,14	1,24	Yok	Sarı
5	Sultana	İzmir	0,944	1,56	Yok	Sarı
6	Besni	Besni	1,38	2,44	Var	Kırmızı
7	Besni	Besni	1,452	2,69	Var	Kırmızı
8	Maraş	Kahramanmaraş	1	1,43	Var	Siyah
9	Antep	Bingöl	1,16	2,14	Var	Siyah
10	Sultana	Manisa	0,922	1,34	Yok	Sarı
11	Antep	Bingöl	1,168	2,21	Var	Siyah
12	Antep	Bingöl	1,43	2,36	Var	Siyah
13	Antep	Bingöl	1,40	2,22	Var	Siyah
14	Besni	Bingöl	1,27	1,82	Var	Kırmızı
15	Besni	Bingöl	1,45	2,24	Var	Kırmızı
16	Besni	Bingöl	1,56	2,72	Var	Kırmızı
17	Besni	Bingöl	1,27	1,82	Var	Kırmızı
18	Antep	Bingöl	1,31	2,16	Var	Siyah
19	Sultana	Manisa	1,14	1,24	Yok	Sarı
20	Sultana	İzmir	1,02	1,36	Yok	Kahverengi
21	Sultana	Alaşehir	0,93	1,29	Yok	Sarı

Çizelge 5.1 : Kuru üzüm örnekleri devamı.

22	Sultana	Sultana	0,92	1,36	Yok	Sarı
23	Sultana	Sultana	1,11	1,16	Yok	Sarı
24	Sultana	Sultana	1,01	1,46	Yok	Kahverengi
25	Sultana	Sultana	0,97	1,52	Yok	Sarı
26	Sultana	Sultana	0,9	1,51	Yok	Sarı
27	Antep	Antep	1,36	2,28	Var	Siyah
28	Sultana	Sultana	1,02	1,36	Yok	Sarı
29	Besni	Besni	1,44	2,46	Var	Kırmızı
30	Besni	Besni	1,44	2,40	Var	Kırmızı
31	Antep	Antep	1,39	2,30	Var	Siyah
32	Karaman	Konya	1,23	1,57	Var	Siyah
33	Antep	Antep	1,33	2,28	Var	Siyah
34	Besni	Antep	1,38	2,32	Var	Kırmızı
35	Antep	Bingöl	1,31	2,17	Var	Siyah
36	Antep	Antep	1,32	2,39	Var	Siyah
37	Antep	Antep	1,44	2,29	Var	Siyah
38	Antep	Kilis	1,40	2,22	Var	Siyah
39	Besni	Antep	1,27	1,81	Var	Kırmızı
40	Besni	Antep	1,50	2,54	Var	Kırmızı
41	Besni	Kahramanmaraş	1,27	1,82	Var	Kırmızı
42	Sultana	İzmir	0,97	1,52	Var	Sarı
43	Sultana	Manisa	1,13	1,56	Var	Sarı
44	Antep	Antep	1,33	2,34	Var	Siyah
45	Maraş	Bertiz	1,15	1,42	Var	Siyah
46	Besni	Besni	1,30	1,81	Var	Kırmızı
47	Dıdımkı	Besni	1,26	2,33	Var	Kırmızı
48	Antep	Antep	1,33	2,28	Var	Siyah
49	Antep	Kilis	1,39	1,58	Var	Siyah
50	Sultana	Sultana	0,97	1,52	Yok	Sarı
51	Antep	Antep	1,31	2,16	Var	Siyah
52	Maraş	Bingöl	1,12	1,48	Var	Siyah
53	Besni	Antep	1,27	1,82	Var	Kırmızı
54	Antep	Antep	1,43	2,28	Var	Siyah
55	Besni	Antep	1,27	1,82	Var	Kırmızı
56	Besni	Besni	1,18	1,62	Var	Kırmızı
57	Karaman	Konya	1,23	1,59	Var	Siyah
58	Maraş	Kahramanmaraş	1,18	1,54	Var	Siyah
59	Sultana	Manisa	0,97	1,52	Yok	Sarı
60	Urumu	Kilis	1,24	1,51	Var	Kahverengi

5.2 Kuru Üzüm Örneklerinde Mikotoksin Tayini

5.2.1 Okratoksin A tayini

5.2.1.1 Okratoksin A standartlarının hazırlanması

Toz haldeki OTA (Sigma Aldrich O1877, $\geq$ % 98 saflıkta) standardına toluen: asetik asit (99:1, v/v) ilave edilerek 29,25 µg/ml konsantrasyonunda OTA stok çözeltisi (1. aşama standart) hazırlanmıştır. Stok çözelti karanlıkta ve -18°C’ de muhafaza edilmiştir.

Stok çözeltiden 2,5 µg/mL konsantrasyonunda toluen: asetik asitte (99:1, v/v) 2. aşama standart çözeltisi hazırlanmıştır. Çalışma standardını (3. aşama standart) hazırlamak için 0,5 ml 2. aşama standart çözeltisi azot altında kurutulmuştur. Kurutulan standart, 1-2 ml mobil faz (asetonitril:su:asetik asit, 99:99:2, v/v/v) kullanılarak çözülmüş ve daha sonra 5 mL’ ye tamamlanmıştır. Böylece 0,25 µg/ml konsantrasyonunda çalışma çözeltisi elde edilmiştir. Çalışmada 0,25-10 µg/mL konsantrasyonlarında kalibrasyon çözeltileri kullanılmıştır (Çizelge 5.2). Kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısı (R^2) OTA için 0,99903 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 5.2 : Okratoksin A kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması.

Kalibrasyon çözeltisinin konsantrasyonu (ng/mL)	Çalışma standardından alınan miktar (µL)	İlave edilen solvent miktarı(µL)(asetonitril:su:asetik asit)
0,25	5	4995
0,5	10	4990
1	20	4980
2	40	4960
5	100	4900
8	160	4840
10	200	4800

5.2.1.2 Geri kazanım değerinin belirlenmesi

Geri kazanım oranının belirlenmesi için örnekte 0.2 µg/kg OTA olacak şekilde Standard çözeltiden kuru üzüme enjeksiyon yapılmıştır. Örnekler toluen:asetik asit çözgen karışımının uçması için çeker ocakta 24 saat bekletilmiştir. Geri kazanım

oranı %86.3 olarak bulunmuştur. Belirleme limiti (LOD) 0.2 µg/kg, ölçüm limiti (LOQ) 0.26 µg/kg olarak tespit edilmiştir.

5.2.1.3 İmmunoaffinite kolonla saflaştırma ile OTA ekstraksiyonu

Kuru üzümde okratoksin A analizi, Perrone ve diğ. (2013) metodu baz alınarak yapılmıştır. Çalışmada analitik veya HPLC saflığında kimyasal maddeler kullanılmıştır. Immunoaffinite kolonları (ochratest) Vicam firmasından temin edilmiştir. Çalışmada, 4 gr örnek üzerine 4 mL distile su, 26 mL asetonitril:metanol:su (90:90:80) ilave edilerek 200 rpm hızında 60 dakika boyunca mekanik çalkalayıcı kullanılarak karıştırılmıştır. Karışım Whatman No 4 filtre kağıdından süzülmüştür. 6 mL filtrat üzerine 44 mL %1 PEG8000, %5 sodyum bikarbonat içeren çözelti eklenerek cam mikrofiber filtreden geçirilmiştir. Saflaştırma işlemi için önce 10 mL filtrat immunoafinite kolona (IAK) verilmiş, sonra kolon sırayla 10 mL %2.5 NaCl, %0.5 NaHCO₃ içeren sulu çözelti, 10 mL distile su ile yıkanmıştır. Kolon 10 mL'lik tüpe alınarak önce hava geçirilmiş, ardından 2 mL metanol yer çekimiyle akışa yakın bir hızda geçirilmiş 50°C'de su banyosu içinde azot gazı altında kurutulmuştur. 500µL mobil faz ilave edilerek HPLC cihazına verilmiştir.

5.2.1.4 OTA analizi için HPLC koşulları

Okratoksin analizi, Agilent 1100 serisi HPLC sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ODS-Hypersil C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm partikül çaplı) ters faz kolonda, 1 mL/dakika akış hızında uygulanmıştır. Kolon sıcaklığı 35 °C'dir. Floresans dedektör ile ayırım için tespit eksitasyon dalga boyu 333 nm (λ_{ex}) ve emisyon dalga boyu 460 nm (λ_{em})'dir. Mobil faz asetonitril:su:asetik asit (99:99:2, HA) karışımı olup, kullanılmadan önce Sartolon 25006-47-N (0,45 µm) filtrede süzölmüş ve ardından ultrasonik su banyosunda 3 dakika boyunca degassing işlemi uygulanmıştır. Örnek enjeksiyon hacmi 100 µl olup, kolonda OTA alıkonma süresi yaklaşık olarak 10 dakikadır. Veriler Chemstation 3D yazılım programı ile değerlendirilmiştir.

5.2.2 Fumonisin tayini

5.2.2.1 Fumonisin B₁ ve B₂ standartlarının hazırlanması

Sıvı haldeki 488,3 µl fumonisin B₁ ve B₂ (fumonisin mix solution, OKENAL) asetonitril:su (50:50) çözeltisi eklenerek 50 µg/mL konsantrasyonunda fumonisin B₁

ve B₂ stok çözeltisi (1. aşama) hazırlanmıştır. Elde edilen stok çözeltiden seyreltme yöntemi ile 10 ile 200 µg/L konsantrasyonları arasında kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır (Çizelge 5.3). Kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısı (R^2) F B₂ için 0,99122 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 5.3: Fumonisin kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması.

Kalibrasyon çözeltisinin konsantrasyonu (ng/mL)	Çalışma standardından alınan miktar (µL)	İlave edilen solvent miktarı(µL)(asetonitril)
1	4	4996
5	20	4980
10	40	4960
25	100	4900
50	200	4800
100	400	4600
200	800	4200

5.2.2.2 Geri Kazanım Değerlerinin Belirlenmesi

Geri kazanım oranının belirlenmesi için örnekte 10 µg/kg konsantrasyonunda Fumonisin B₂ olacak şekilde standart çözeltiden kuru üzüme enjeksiyon yapılmıştır. Örnekler çözgen karışımının uzaklaştırılması için çeker ocakta 24 saat bekletilmiş. Daha sonra analizler yapılmıştır. Geri kazanım oranı %75,5 olarak bulunmuştur. FB₂ için belirleme limiti (LOD) 8µg/kg, ölçüm limiti ise (LOQ) 8.63 µg/kg'dır.

5.2.2.3 İmmunoaffinite kolonla saflaştırma ile fumonisin ekstraksiyonu

Kuru üzümde fumonisin analizi, Perrone ve diğ. (2013) kullanılan metot modifiye edilerek yapılmıştır. Çalışmada analitik veya HPLC saflığında kimyasal maddeler kullanılmıştır. Immunoaffinite kolonları (fumonitest) Vicam firmasından temin edilmiştir. Yıkama işleminde kullanılacak olan fosfat tampon çözeltisi (PBS) hazırlamak için PBS, 900 mL distile su içerisine 8 gr sodyum klorür, 1,16 gr susuz disodyum hidrojen fosfat, 0,2 gr potasyum dihidrojen fosfat ve 0,2 gr potasyum klorür ilave edilip çözdürüldükten sonra hacmin saf su ile 1000 mL'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır. Çözeltinin pH'ı HCl veya NaOH kullanılarak 7,4' e ayarlanmıştır. 10 gram öğütülmüş örnek 40 mL su ile muamele edilip homojen bir karışım oluşturulmuştur. Bu karışımın üzerine 75 mL asetoneitril:metanol (50:50) ilave edilerek 1 saat karıştırma yapılmıştır. Whatman 4 filtre kağıdı ile filtrasyon işlemi yapılmış. 10 mL filtrat üzerine 40 mL su eklenmiş ve cam mikrofiber filtre

kağıdı kullanılarak filtrasyon işlemi yapılmıştır. 10 mL filtrat Fumonitest kolondan geçirilmiş ve 10 mL PBS ile yıkanmıştır. Kolon 10 ml'lik tüpe alınarak önce hava geçirilmiş, ardından 2 mL metanol yer çekimiyle akışa yakın bir hızda geçirilmiş 55°C'de su banyosu içinde azot gazı altında kurutulmuştur. 500µL asetonitril:su (30:70) ilave edilerek HPLC cihazına verilmiştir.

5.2.2.4 Fumonisin B₁ ve B₂ analizi için HPLC koşulları

HPLC ile fumonisin analizi OPA reaktifi ile türevlendirmeyeyle gerçekleştirilmiştir. OPA reaktifinin hazırlanması için, 40 mg ortofital aldehit 1ml metanolde çözüldükten sonra 0,1 M Na₂B₄O₇.10H₂O ile 5 ml' ye tamamlanmıştır. Karışıma 50 µl 2-merkaptotanol ilave edilerek koyu renkli şişede saklanmıştır. OPA reaktifi oda koşullarında bir hafta süreyle kullanılabilir. Asetonitril:su (30:70) ile çözülmüş kalıntıdan 50 µL alınarak 50 µL OPA reaktifi ilave edilerek 30 saniye vortekste karıştırılmış ve 3 dakika içerisinde HPLC' ye enjekte edilmiştir. OPA türevinin floresans şiddeti zamanla azalmaya başladığı için, tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek için örnekler içinde enjeksiyon zamanı sabit tutulmaya çalışılmıştır.

Sıvı kromatografisi, dörtlü çözgen dağıtım sistemi, 20 µl'lik döngü içeren Rheodyne enjeksiyon sistemi, floresans dedektör (λ_{ex} : 335 nm; λ_{em} : 440 nm), degasser ünitesi içeren Agilent 1100 HPLC sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler Chemstation 3D yazılım programı ile değerlendirilmiştir. Fumonisin ayrımı, oda sıcaklığında ODS-Hypersil C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm partikül çaplı) ters faz kolonda 1 ml/dakika akış hızında gerçekleştirilmiştir. Analizde mobil faz olarak o-fosforik asitle pH' ı 3,35' e ayarlanmış olan metanol: 0,1 M NaH₂PO₄.H₂O (77:23, v/v) kullanılmıştır. Mobil faz kullanılmadan önce Sartolon 25006-47-N (0,45 µm) filtreden süzölmüş ve ultrasonik su banyosunda 2 dakika süresince degassing işlemi uygulanmıştır.

6. BULGULAR VE TARTIŞMA

6.1 Kuru Üzüm Örneklerinde Okratoksin A ve Fumonisin B₂ Varlığı

Kuru üzümlerde OTA miktarı, örneklerin ilk olarak ekstraksiyon işlemi devamında IA kolonla saflaştırılmasından sonrasında HPLC yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Analizde ters faz kolon ve floresans dedektör kullanılmıştır. Kuru üzümlerde OTA geri kazanım değeri % 86,3 olarak belirlenmiştir. OTA için belirleme limiti (LOD) 0,2 µg/kg, ölçüm limiti ise (LOQ) 0.26 µg/kg olarak belirlenmiştir. Kuru üzümlerde FB₂ analizi, örneklerin ilk olarak ekstraksiyon işlemi devamında IA kolonla saflaştırılmasından sonrasında HPLC yöntemi ile analiziyle gerçekleştirilmiştir. Analizde ters faz kolon ve floresans dedektör kullanılmıştır. Kuru üzümlerde FB₂ geri kazanım değeri % 75.5 olarak belirlenmiştir. FB₂ için belirleme limiti (LOD) 8 µg/kg, ölçüm limiti ise 8.63 µg/kg olarak belirlenmiştir. Bu miktarlar Çizelge 6.1’de gösterilmektedir.

Çizelge 6.1: Okratoksin A ve fumonisin B₂ için validasyon değerleri.

	OTA (µg/kg)	FB ₂ (µg/kg)
Belirleme limiti (LOD)	0.2	8
Ölçüm Limiti (LOQ)	0.26	8.63
Geri Kazanım (%)	86.3	75.5

Çalışılan 60 örneğin 11 tanesinde (%18,3) 0.22-5,26 µg/kg aralığında OTA tespit edilmiştir. Çalışılan örneklerin 19 tanesi sultana (%31.6), 16 tanesi Besni (26.6), 17 tanesi Antep (%28.3), 4 tanesi Maraş (%6.6), 2 tanesi Karaman (%3.3), 1 tanesi Urumu (%1.6), 1 tanesi Dımışkı (%1,6) çeşit kuru üzüm örnekleridir. Sultana üzümlerinin 1 tanesinin (%5,3), Besni üzümlerinin 5 tanesinin %31,25’i, Antep üzümlerinin 5 tanesinin (%29,4) OTA ile kontamine olduğu görülmüştür. Maraş, Karaman ve Urumu üzümlerinde OTA tespit edilmemiştir. Sultana, Besni, Antep, Maraş, Karaman, Urumu, Dımışkı üzümlerinden oluşan 60 örnekten 1 tanesinin (toplam üzümlerin %1.6’sı) FB₂ ile kontamine olduğu görülmüştür. Antep üzümlerinin %5.8’inin 8.8 µg/kg FB₂ ile kontamine olduğu görülmüştür. Diğer üzüm türlerinde FB₂ tespit

edilmemiştir. FB₂ ve OTA'nın birlikte olduğu kuru üzüm tespit edilmemiştir. Tespit edilen OTA miktarları yasal limitin altındadır. Kuru üzümde FB₂ için yasal limit bulunmamaktadır. Örneklerde tespit edilen mikotoksin miktarları Çizelge 6.2'de gösterilmiştir.

Kuru üzümlerle ilgili yapılan diğer çalışmalara bakıldığında, kuru üzümde OTA miktarının incelendiği birçok araştırma olmasına rağmen kuru üzümde OTA ve FB₂ miktarının birlikte incelendiği sadece bir araştırma mevcuttur. Perrone ve diğ. (2013) Eylül 2011 yılında yaptıkları çalışmada Batı Yunanistan Bölgesindeki 41 adet kuru üzüm örneği incelenmiş örneklerin 12'sinde (%29,2) 7.1 µg/kg ve 25.5 µg/kg aralığında FB₂ görülürken, 30'unda (%73.1) 0.1-98.2 µg/kg aralığında OTA tespit edilmiştir. Örneklerin %20'sinde OTA ve FB₂ birlikte tespit edilmiştir. Macaristanda yapılan bir çalışmada 13 adet kuru üzüm incelenmiş 7 tanesinde (%53.8) Siyah Aspergilli tarafından 4.55-35.49 mg/kg konsantrasyonunda fumonisin kontaminasyonu meydana gelmiştir (Varga ve diğ., 2010).

Aksoy ve diğ., (2006) 1999 ve 2003 yılları arasında 5 farklı yıla ait mahsülden 1885 adet sultana çeşiti kuru üzüm üzerinde OTA miktarı incelemiş ve, %0.6'sında 10 µg/kg'dan yüksek miktarda OTA tespit etmiştir, kalan %90.3'lük kısımda ise 0.3-10 µg/kg arasında OTA tespit edilmiştir.

Kanada'da yapılan bir çalışmada 1998-2000 yılları arasında Kanada'da bulunan perakende satış yerlerinden 66 adet sultana ve 85 adet diğer kuru üzüm çeşitlerinden oluşan 151 adet kuru üzüm ve 2 adet kuş üzümü üzerinde OTA incelenmiştir. 85 adet kuru üzüm 67 tanesinde (%79), 66 adet sultana kuru üzüm örneklerinin 39 tanesinde (%59), kuş üzümünün ise her ikisinde de OTA tespit edilmiştir. Sultana ve kuru üzüm örneklerinde ortalama OTA değeri 1.8 µg/kg olduğu tespit edilirken, kuş üzümünde ise 2.8 µg/kg olduğu tespit edilmiştir. 85 adet kuru üzüm örneğinin 52'sinde (%61) tespit edilen OTA miktarı 1 µg/kg 'dan düşük iken sadece 3 tanesi (%4) 10 µg/kg 'dan yüksek olduğu tespit edilmiştir tespit edilen en yüksek miktar ise 26.6 µg/kg 'dır (Lombeart ve diğ., 2007).

İran'da yapılan bir çalışmada 38 adet kuru üzüm incelenmiş bunların 17'sinde (%44.7) 2.9-18.2 µg/kg aralığında OTA tespit edilmiştir. Bunlardan 3 tanesinde bulunan OTA miktarlarının Avrupa Birliği tarafından kabul edilen yasal limitten yüksek miktarda olduğu tespit edilmiştir (Rahimi ve Shakerian,2013).

Çizelge 6.2: Kuru üzümelerde OTA ve FB₂ miktarları.

Örnek No	Ambalaj Özellikleri	Çeşit /Şehir	Fiziksel Özellikler			Mikotoksin Miktarı	
			Ortalama En (cm)	Ortalama Boy(cm)	Renk	OTA (µg/kg)	FB ₂ (µg/kg)
1	Ambalajlı/Market	Sultana/Manisa	1,046	1,46	Kahverengi	-	-
2	Ambalajlı/Market	Sultana/Manisa	1,022	1,34	Sarı	5.26	-
3	Ev yapımı	Sultana /Manisa	1,064	1,36	Sarı	-	-
4	Ambalajlı/Market	Sultana/İzmir	1,14	1,24	Sarı	-	-
5	Açık/Market	Sultana/İzmir	0,944	1,56	Sarı	-	-
6	Açık/Market	Besni/Besni	1,38	2,44	Kırmızı	-	-
7	Açık/Market	Besni/Besni	1,452	2,69	Kırmızı	-	-
8	Açık/Market	Maraş/Maraş	1	1,43	Siyah	-	-
9	Açık/Market	Antep/Bingöl	1,16	2,14	Siyah	-	-
10	Ambalaj/Market	Sultana/Manisa	0,922	1,34	Sarı	-	-
11	Ev yapımı	Antep/Bingöl	1,168	2,21	Siyah	0.22	-
12	Ev yapımı	Antep/Bingöl	1,43	2,36	Siyah	-	-
13	Ev yapımı	Antep/Bingöl	1,40	2,22	Siyah	-	-
14	Ev yapımı	Besni/Bingöl	1,27	1,82	Kırmızı	-	-
15	Ev yapımı	Besni/Bingöl	1,45	2,24	Kırmızı	2.67	-
16	Ev yapımı	Besni/Bingöl	1,56	2,72	Kırmızı	1.43	-

Çizelge 6.2: Kuru üzümelerde OTA ve FB₂ miktarları devamı.

Örnek No	Ambalaj Özellikleri	Çeşit /Şehir	Fiziksel Özellikler		Renk	Mikotoksin Miktarı	
			Ortalama En (cm)	Ortalama Boy(cm)		OTA (µg/kg)	FB ₂ (µg/kg)
17	Ev yapımı	Besni/Bingöl	1,27	1,82	Kırmızı	-	-
18	Ev yapımı	Antep/Bingöl	1,31	2,16	Siyah	-	8.8
19	Dökme/Ev yapımı	Sultana/Manisa	1,14	1,24	Sarı	-	-
20	Ambalaj/Market	Sultana/İzmir	1,02	1,36	Kahverengi	-	-
21	Ambalaj/Market	Sultana/ Alaşehir	0,93	1,29	Sarı	-	-
22	Açık/Market	Sultana/İzmir	0,92	1,36	Sarı	-	-
23	Açık/Market	Sultana/Kemalpaşa	1,11	1,16	Sarı	-	-
24	Ambalaj/Market	Sultana/Alaşehir	1,01	1,46	Kahverengi	-	-
25	Açık/Pazar	Sultana/Ören	0,97	1,52	Sarı	-	-
26	Ambalaj/Market	Sultana/İzmir	0,9	1,51	Sarı	-	-
27	Açık/Baharatçı	Antep/Antep	1,36	2,28	Siyah	0.26	-
28	Açık/ Pazar	Sultana/İzmir	1,02	1,36	Sarı	-	-
29	Açık/ Pazar	Besni/Antep	1,44	2,46	Kırmızı	1.75	-
30	Açık/Baharatçı	Besni/Besni	1,44	2,40	Kırmızı	-	-
31	Ev yapımı	Antep/Antep	1,39	2,30	Siyah	-	-
32	Açık/Baharatçı	Karaman/Karaman	1,23	1,57	Siyah	-	-

Çizelge 6.2: Kuru üzümelerde OTA ve FB₂ miktarları devamı.

Örnek No	Ambalaj Özellikleri	Çeşit /Şehir	Fiziksel Özellikler		Renk	Mikotoksin Miktarı	
			Ortalama En (cm)	Ortalama Boy(cm)		OTA (µg/kg)	FB ₂ (µg/kg)
33	Açık/Market	Antep/Antep	1,33	2,28	Siyah	1.65	-
34	Açık/Market	Besni/Antep	1,38	2,32	Kırmızı	0.39	-
35	Açık/Market	Antep/Bingöl	1,31	2,17	Siyah	-	-
36	Açık/Market	Antep/Antep	1,32	2,39	Siyah	-	-
37	Açık/Market	Antep/Antep	1,44	2,29	Siyah	-	-
38	Açık/Pazar	Antep/Kilis	1,40	2,22	Siyah	-	-
39	Açık/Pazar	Besni/Antep	1,27	1,81	Kırmızı	-	-
40	Açık/Kuruyemişçi	Besni/Antep	1,50	2,54	Kırmızı	-	-
41	Açık/Kuruyemişçi	Besni/Maraş	1,27	1,82	Kırmızı	-	-
42	Ambalaj/Market	Sultana/İzmir	0,97	1,52	Sarı	-	-
43	Açık/Pazar	Sultana/Manisa	1,13	1,56	Sarı	-	-
44	Açık/Pazar	Antep/Antep	1,33	2,34	Siyah	-	-
45	Açık/Market	Maraş/Bertiz	1,15	1,42	Siyah	-	-
46	Açık/Kuruyemişçi	Besni/Besni	1,30	1,81	Kırmızı	-	-
47	Açık/Kuruyemişçi	Dımışkı/Besni	1,26	2,33	Kırmızı	-	-

Çizelge 6.2: Kuru üzümelerde OTA ve FB₂ miktarları devamı.

Örnek No	Ambalaj Özellikleri	Çeşit /Şehir	Fiziksel Özellikler			Mikotoksin Miktarı	
			Ortalama En (cm)	Ortalama Boy(cm)	Renk	OTA (µg/kg)	FB ₂ (µg/kg)
48	Açık/ Kuruyemişçi	Antep/Antep	1,33	2,28	Siyah	-	-
49	Açık/ Kuruyemişçi	Antep/Kilis	1,39	1,58	Siyah	2.63	-
50	Ambalaj/Market	Sultana	0,97	1,52	Sarı	-	-
51	Ev tipi	Antep/Antep	1,31	2,16	Siyah	0.34	-
52	Ev tipi	Maraş/Bingöl	1,12	1,48	Siyah	-	-
53	Açık/Baharatçı	Besni/Antep	1,27	1,82	Kırmızı	-	-
54	Açık/Baharatçı	Antep/Antep	1,43	2,28	Siyah	-	-
55	Açık/Baharatçı	Besni/Antep	1,27	1,82	Kırmızı	-	-
56	Açık/Pazar	Besni/Besni	1,18	1,62	Kırmızı	1.09	-
57	Açık/Pazar	Karaman/Karaman	1,23	1,59	Siyah	-	-
58	Açık/Pazar	Maraş/Maraş	1,18	1,54	Siyah	-	-
59	Ambalaj/Market	Sultana	0,97	1,52	Sarı	-	-
60	Açık/Kuruyemiş	Urumu/Kilis	1,24	1,51	Kahverengi	-	-

Akdeniz ve diğ., (2013) yaptıkları çalışmada İstanbul'da bulunan geleneksel pazarlar ve farklı süpermarketlerden toplanan 28 adet sultana ve 22 adet kuş üzümünden oluşan 50 kuru üzüm örneği incelenmiş, kuru üzüm örneklerinin %8'inde ortalama olarak 1.15 µg/kg OTA tespit edilmiştir. 28 adet sultananın 2 tanesinde OTA (%7.14) 0.19-1.07 µg/kg aralığında, 22 adet kuşüzümünün 2'sinde (%9.09) 0.77–2.59 µg/kg aralığında OTA tespit edilmiştir.

İngilterede yapılan araştırmada Yunanistan'a ait 11 adet sultana ve 20 adet kuş üzümü incelenmiş ve %85'inde ortalama olarak 2.8 µg/kg OTA tespit etmiştir (MacDonald ve diğ., 1999). Maff (1999), yaptığı çalışmada incelediği 20 adet kuru üzüm örneğinin 17'sinde (%85) 0.2-20µg/kg aralığında OTA tespit etmiştir (ortalama OTA 3.4 µg/kg). Engel (1999), çikolata, müsli,kahvaltılık mısır gevreği, ve diğer kahvaltılık gevrekler, findık, kuru üzüm, sultana kuş üzümü, tatlı sandviç sosu, puding, krema, tüketilebilir yağlar,yağlı tohumlar, süt ürünlerinden oluşan 1933 adet gıda örneği üzerinde OTA miktarı incelemiştir. İncelediği kuru üzümlerin %95'inde en yüksek 21.4µg/kg olmak üzere OTA tespit etmiştir.

Finlandiya'da 31 kuru üzüm, Fransa'da 13 kuru üzüm, İngiltere'de 121 kuru üzüm, 120 sultana ve 120 kuş üzümü üzerinde yapılan incelemede. Finlandiyadaki kuru üzümlerin 22 (%71) tanesinde ortalama 1.34 µg/kg , Fransadaki kuru üzümlerin 6 tanesinde (%41) ortalama 1.54 µg/kg , İngilteredeki kuru üzümlerin 110 (%90) tanesinde ortalama 3.1µg/kg, sultanaların 104'ünde (%86.6) ortalama 4.2µg/kg, kuş üzümlerinin ise 115'inde (%96) ortalama 5.9 µg/kg OTA tespit edilmiştir (Miraglia ve Brera, 2002).

Stefanaki ve diğ. (2003), Yunanistana ait 27 adet sultana incelemiştir 10 tanesinde (%37) 2.1-13.2 µg/kg arasında OTA tespit edilmiştir. En düşük OTA miktarı 2.1 µg/kg iken ortalama OTA miktarı 0.6 µg/kg olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada 54 tane kuş üzümü incelenmiş ve 11 tanesinde (%20) 1.4-13.8 µg/kg arasında değişen miktarlarda OTA tespit edilmiştir. Çalışılan örneklerin %7.5'inde bulunan OTA miktarının yasal limitin üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

Fas'ta yapılan bir diğer çalışmada 20 adet kuru üzüm örneği incelenmiş 6 tanesinde (%30) 0.05-4.95 µg/kg aralığında OTA tespit edilmiştir (Zinedine ve diğ.,2007).

İzmirde yapılan başka bir çalışmada 1998-2000 yılları arasında 264 adet işlenmemiş sultana incelenmiş. %67.8'inde OTA tespit edilmiştir, %9.8'inde 10µg/kg'ın üzerinde OTA tespit edilmiştir, kalan %58'lik kısımda ise tespit edilen OTA miktarı ise 0.026-10µg/kg arasındadır. Ayrıca işlenmiş sultanalarda tespit edilen OTA

miktarının işlem görmemiş sultanalardaki OTA ile kıyaslandığında daha düşük miktarda olduğu tespit edilmiştir (Meyvacı ve diğ. ,2005).

Türkiyede yapılan başka bir çalışmada 53 adet sultana incelenmiş, 28 (%53) adet sultanada 0.51-58.04 µg/kg aralığında OTA tespit edilmiştir. İncelenen örneklerin %4'ünün yasal limitin üzerinde olduğu tespit edilmiştir (Bircan, 2009).

Meyvacı ve diğ. (2012) ait çalışmada 1998-2003 yılları arasında Manisada bulunan 5 farklı üzüm bağındaki OTA oluşum miktarları incelenmiş. Tarımsal uygulamalar, gübreleme, bitki koruma, sulama, budama GA3 uygulamaları, hasat, olgunluk, kurutma şartları(kurutma zeminin yapısı, alkalın solüsyonuna batırma, kurutma periyodu uzunluğu) gibi uygulamalar kayıt altına alınmıştır. Ben düşme sırasında OTA tespit edilememiştir. Taze hasat edilen meyvelerde OTA miktarı <LOD-8 µg/kg arasında iken, kuru sultanalarda <LOD-35 µg/kg arasında olduğu tespit edilmiştir. Kurutulmuş üzümlerdeki OTA pozitif örneklerin sayısı yaş üzümlere kıyaslandığında daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Türkiye’de yapılan çalışmalarda incelenen kuru üzüm örnekleri sadece sultana ve kuş üzümü üzümlerini içermektedir ve sadece OTA miktarı incelenmiştir. Bu araştırmada Türkiye’de bulunan Sultana, Maraş, Antep, Urumu, Karaman, Besni çeşitleri üzerinde hem OTA hem de FB₂ miktarları incelenmiştir. Bu çalışmada Güneydoğu Anadolu bölgesinden temin edilen üzümlerdeki OTA pozitif örneklerin 11 (%28.5), Ege Bölgesinden temin edilen OTA pozitif örneklere kıyasla 1 (%1.6) fazla olduğu görülmektedir. Ayrıca sadece Güneydoğu Anadolu’dan temin edilen bir örnekte FB₂ tespit edilmiştir (Çizelge 6.3).

Çizelge 6.3: Kuru üzümlerde mikotoksin oranlarının bölgelere göre dağılımı.

Bölge	Pozitif OTA Sayısı/ Örnek Sayısı	Pozitif FB ₂ Sayısı/ Örnek Sayısı	OTA (%)	FB ₂ (%)
Ege	1/19	0/19	5.26	-
Güney Doğu Anadolu	10/35	1/35	28.5	2.85
İç Anadolu	0/2	0/2	-	-
Akdeniz	0/4	0/4	-	-
Toplam	11/60	0/60	-	-

Ülkemizde siyah renkli ve çekirdekli üzüm çeşitlerinde doğal kurutma yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde hasadı yapılan üzümler bağda bol güneş gören

yerlere toprak üzerine serilmekte veya salkımlar ipe dizilerek bağdaki çardaklarda veya sundurma altlarında gölgede kurutulmaktadır (Ünal, 2009). Bu çalışmada incelenen 60 tane kuru üzüm örnekleri için Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nden temin edilen siyah renkli ve çekirdekli olan kuru üzümlerde bulunan pozitif mikotoksin sayısının Ege bölgesinden temin edilen üzümlerdeki pozitif mikotoksin sayısına oranla daha fazla olmasının bölgelerdeki kurutma yöntemlerindeki farktan ileri geldiği düşünülebilir. Çünkü üzümlerin toprak yüzeyine yakın şekilde kurutulması veya toprak yüzeyinde kurutulması toprakta bulunan ve mikotoksin oluşturan küflerin taneye olan kontaminasyonunu artırmaktadır. Ayrıca Ege Bölgesi'nde üretilen Sultana kuru üzümlerinin bandırma çözeltisine bandırılması ile de mikotoksin oluşum miktarının azaltılmış olduğu düşünülebilir.

Dünyada Sultana olarak bilinen kuru üzüm, yaş üzümün hasat edildikten sonra, bandırma eriyiğine batırılıp güneşte kurutulmasıyla elde edilir (Altındışli ve İşçi, 2005). Bandırma çözeltileri üzümün geçirgenliğini ve su buharlaştırma işlemini arttırıp dehidrasyon işlem süresinin ksalmasını ayrıca OTA'nın etkili bir şekilde uzaklaştırmasını sağlamaktadır. Bandırma çözeltisi kullanımlarının toksin miktarının anormal derecede çok olabileceği yani iklimsel koşulların toksin üretimini tetikleyebileceği zamanlarda önerilmektedir (Serratos ve diğ., 2010). 1999-2000 yıllarında yapılan incelemelerde ekim yöntemlerinin *Aspergillus* kontaminasyonunu etkilediği görülmüştür. Toprak ile üzümler arasındaki mesafenin kısa olduğu ekim yöntemlerinde *Aspergillus* kontaminasyonunun arttığı tespit edilmiştir (Battilani ve diğ., 2004a; Battilani ve diğ., 2004b). Aynı şekilde İtalyadaki üzüm bağlarında direk güneş ışığına maruz kalmış ve toprağa yakın olan salkımlarda, topraktan uzakta bulunan ve solar radyasyondan korunmuş olan üzümlere kıyasla daha yüksek miktarda *Aspergillus* ile kontamine olduğu tespit edilmiş fakat OTA miktarında bir artış görülmemiştir (Battilani ve diğ., 2004a)

Farklı iklim koşulları OTA üreten mikroorganizmaların dağılımını ve OTA miktarını etkilemektedir. OTA miktarı ile İtalya, Yunanistan gibi Akdeniz ülkeleri gibi üretim yerleri arasında ilişki vardır. Güney Avrupa'da yetişen üzümlerin fungus gelişimine eğilimli olduklarını ve daha büyük miktarlarda toksin ürettikleri görülmüştür (Covarelli, 2012). Üzüm ve şaraplarda OTA kontaminasyonunun coğrafik farklılıklardan etkilendiği yapılan diğer çalışmalarda belirlenmiştir. 2006 yılında üzüm ve şaraplar üzerine yapılan bir çalışmada Güney Avrupa'da ve düşük rakımlarda OTA kontaminasyon sıklığı ve miktarının daha yüksek olduğu

belirlenmiştir. Almanya, Fransa ve İtalya’da kırmızı şaraplar incelenmiş ve yine enlem etkisinin yani coğrafi farklılıkların OTA kontaminasyonunda önemli etkisinin olduğu doğrulanmıştır. İtalya’nın güney ve kuzey bölgelerinde üretilen kırmızı şaraplar incelemiş, güney bölgede üretilen kırmızı şarapların, kuzeyde üretilen şaraplara göre daha yüksek miktarda OTA içerdikleri belirlenmiştir (Blesa ve diğ., 2006).

Eltem ve diğ., (2003) yaptıkları çalışmada, olgunlaşma süreci , kurutma süreci boyunca iklimsel şartların OTA miktarını etkilediği ayrıca bölgelere ait tarımsal uygulamaların toprakta yüksek miktarda bulunan okratoksijenik potansiyele sahip küflerin meyveyi kontamine ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca toprak işleme, sulama işlemlerinin de OTA oluşumunu etkilediği tespit edilmiştir. Bu yüzden İyi Tarım Uygulamalarının üzüm üreticileri tarafından uygulanmasını tavsiye edilmektedir (Eltem ve diğ.,2003).

Çevresel şartlar *Aspergillus spp.* etki alanını OTA birikimini önlemek için çok önemlidir ayrıca biyotik ve abiyotik ajanların kontrolü ile üzümlerdeki mikotoksin miktarı önemli miktarda azaltılabilmektedir. Tanede meydana gelen hasarlar ve *Lobesia botrana* gibi böceklerin ve *Erysiphe necator*, *B. cinerea* gibi fungal patojenlerin sebep olduğu zedelenmeler tane dokusuna *Aspergillus spp.* girişi daha kolay hale gelmekte ve özellikle meyve olgunlaşması sırasında bu fırsatçı patojenin gelişimi için uygun bir ortam sağlanmaktadır (Covarelli ve diğ., 2012). Hasat sonrasında, *Aspergillus section Nigri* diğer rekabetçi küflerle birlikte gelişir ve OTA miktarı azalır. OTA pozitif *A.carbonarius* ve *A. niger aggregate* miktarı ve OTA akümüasyonu azalır. Bu azalma OTA üretici küflerin toksin üretimi için kullandığı besinleri rekabetçi mikroflora tarafından kullanılmasıyla ilişkilir (Abrunhosa ve diğ., 2002).

Üzüm kurutma işlemi de OTA miktarını etkilemektedir. Son üründeki OTA miktarının azaltılmasında sıcaklık ve nemim kontrol edilebildiği üzüm kurutma odaları geleneksel güneşte kurutmaya kıyasla daha avantajlı bir yöntemdir. Kurutma odalarının ısıtılması sonucunda 50°C sıcaklığa maruz kalan üzümlerde görülen *A.carbonarius* gelişimi inhibe olduğu ve mevcut toksinler ise yıkıma uğradığı için OTA üretimi durmaktadır. Bandırma çözeltileri üzümün geçirgenliğini artırıp su buharlaştırma işlemini arttırıp dehidrasyon işlem süresinin kısılmasını ayrıca OTA’nın etkili bir şekilde uzaklaştırmasını sağlamaktadır. Fakat bu uygulamalar

dehidrasyon maliyetini artırmaktadır ayrıca sadece zeytinyağıyla muamele duyusal olarak tercih edilebilmektedir (Serratosa ve diğ., 2010).

SO₂'i küf gelişimini kontrol etmek için etkili olan bir maddedir (Hocking, 1992), SO₂ genellikle kurutma öncesi esmerleşmenin engellenmesi için kullanılır ve aynı zamanda uygulanmasıyla küf kontrolü sağlanır. 30°C'nin üzerinde olan sıcaklıklardaki hızlı kurutma işlemleri OTA üretim potansiyelini azaltan bir su aktivitesine (a_w) ulaşmayı sağlar (Covarelli ve diğ., 2012).

OTA kontaminasyonu tane renginin solmasıyla ve kurutma sonrası koyu renk oluşumuyla ilişkilidir, bu yüzden bu özellikleri taşıyan tanelerin uzaklaştırılması ile OTA kontaminasyonu engellenebilmektedir (Leong ve diğ., 2006b).

Sonuç olarak üzümler OTA kontaminasyonunu azaltma kontrol etmek için iyi tarım uygulamalarına dikkat edilmelidir. Ürün yönetimi ve pestisit kontrolü için yeterli gübreleme ve sulama gibi kültürel uygulamalara dikkat edilmelidir (Covarelli ve diğ., 2012).

7. SONUÇLAR

Bu çalışmada, Antep, Sultana, Maraş, Besni, Karaman, Urumu, Dımeşkı olmak üzere Türkiye’de üretilen 7 farklı çeşit toplam 60 adet kuru üzüm incelenmiştir. Çalışma kapsamında kuru üzümlerde okratoksin A ve fumonisin B₂ varlığı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar AB ülkelerinde ve Türk Gıda Kodeksi (TGK)’nde kabul edilen maksimum limitlere göre değerlendirilmiştir.

Kuru üzüm örneklerinin 11’inde (%18,3) 0,22-5,26 µg/kg arasında değişen düzeylerde OTA belirlenmiştir. Antep üzümlerinin 5 tanesinde (%29,4), Sultana üzümlerinin 1 tanesinde (5,26), Besni üzümlerinin 5 tanesinde (%31,3) OTA tespit edilirken Maraş, Karaman, Urumu ve Dımeşkı üzümlerinde OTA tespit edilmemiştir. Antep üzümlerinin 1 tanesinde (%5,5) FB₂ tespit edilmiş olup bu oran toplam kuru üzüm örneklerinin %1,6’sını oluşturmaktadır. Tespit edilen OTA miktarları yasal limitin altındadır. Kuru üzümde FB₂ için yasal bir limit bulunmamaktadır , kuru üzüm örneğinde tespit edilen FB₂ miktarı 8.8 µg/kg’dır. Coğrafi farklılığın OTA kontaminasyon sıklığını etkilediği belirlenmiştir. Ülkemizde Güney Doğu Anadolu Bölgesi’nde uygulanan kuru üzüm üretim yöntemleri ile Ege Bölgesi’nde uygulanan kuru üzüm üretim yöntemleri kıyaslandığında Güney Doğu Anadolu Bölgesinde geleneksel yöntemlerin daha fazla uygulandığı bilinmektedir. Geleneksel yöntemlerde mikotoksin oluşum riski daha yüksektir. Ayrıca Ege Bölgesi’nde üretilen çekirdeksiz üzümlerin üretimi için bandırma çözeltisi kullanılır iken Güney Doğu Anadolu Bölgesi’nde üretilen çekirdekli üzümlerde bandırma çözeltisi kullanılmamaktadır. Bandırılmadan kurutulan üzümler yaklaşık 14 günde kurur iken, bandırma prosesi ile kuruma 7-8 güne indirilmektedir. Kurutma süresinin uzun olması mikotoksin oluşumunu artırdığı düşünülebilir. Nitekim bu çalışmada da Güney Doğu Anadolu Bölgesi’nden temin edilen örneklerde OTA kontaminasyon oranı yüksek bulunmuştur ayrıca FB₂ sadece Güney Doğu Anadolu Bölgesi’nden temin edilen örneklerde tespit edilmiştir.

Ayrıca Güney Doğu Anadolu Bölgesinden temin edilen çekirdekli kuru üzümler boyut olarak Ege Bölgesi'nden temin edilen çekirdeksiz üzümlerden daha büyüktür. Boyutu büyük olan üzümler için yapılan kurutma işleminin daha uzun bir süreç gerektirebileceği için mikotoksin oluşumunun bu üzümlerde tetiklendiği sonucu ortaya çıkartılabilir.

Bu çalışmada incelenen kuru üzümlerde tespit edilen FB₂ miktarının Yunanistan'da Perrone ve diğ., (2013) yaptığı ve Macaristanda Varga ve diğ., (2010) yaptığı çalışma ile karşılaştırıldığında hem oransal olarak hem de miktar olarak daha az FB₂ tespit edilmesi ülkemiz açısından ve tüketici sağlığı açısından olumlu bir sonuçtur. Kuru meyvelerde özellikle de kurutulmuş asma meyvelerinde ısı ve nem gibi faktörlere bağlı olarak oluşan OTA ve FB₂ çok riskli ürünler arasında yer alır. Ülkemizde kuru ve yaş üzümlerde yapılan incelemelerin büyük bölümü bölgesel taramalar niteliğinde olup, çoğu üzüm yetiştiriciliğinde önde gelen bölge olması sebebiyle Ege Bölgesi'ni kapsamaktadır. Üzümlerde mikotoksin oluşumunun engellenmesi için öncelikle topraktaki küflerin üzüme bulaşmasını engelleyecek tedbirlerin alınması önerilmektedir. Bu amaçla, ben düşme döneminden sonra sulamanın azaltılması ve toprak işçiliğinden kaçınılması ve tercihen damla sulama yöntemi kullanılması küf üremesini azaltabilecektir. Üretim aşamasında, küflü, balgamlı, çürük, kurtlu ve hasarlı tanelerin ayrılması, sergi alanlarında sağlam tanelerle beraber kurutulmaması yine alınabilecek önlemler arasındadır. Aşırı hormon kullanımı sonucu tanelerde kabuğun çatlaması, hastalık veya mekanik nedenlerle zedelenmesi küflerin çoğalabileceği ortam oluşturabilmektedir. Bu nedenle, hormon kullanımında aşırılıktan kaçınılması, bitki koruma önlemlerinin dikkatle yerine getirilmesi gerekmektedir. Bağ alanlarında, hasat sırasında ve sonrasında kontaminasyonların önlenmesi amacıyla İyi Tarım Uygulamaları (GAP), İyi Üretim Uygulamaları (GMP) ve İyi Hijyen Uygulamaları (GHP) oldukça önemlidir. Kuru üzümlerde mikotoksin kontaminasyonu İyi Tarım Uygulamalarının yeterince uygulanmadığını gösterir. İyi Tarım Uygulamaları bağ tesisi, budama, toprak işleme, sulama, hormon uygulaması, bitki koruma önlemleri ve hasat işlemlerini içermektedir. Bu tedbirlerin alınmaması durumunda oluşacak kontaminasyonlar kuru üzümlerde, hem ekonomik kayıplara hem de sağlık ile ilgili sorunlar oluşturmaya devam edecektir.

KAYNAKLAR

- Abia, W., Warth, B., Sulyok, M., Krska, R., Tchana, A.N., Njobeh, P.B., Dutton, M.F. ve Moundipa, P.F.** (2013). Determination of multi-mycotoxin occurrence in cereals, nuts and their products in Cameroon by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), *Food Control*, **31**, 438-453.
- Abrahart, R. J. ve See, L.** (2000). Comparing neural network and autoregressive moving average techniques for the provision of continuous river flow forecasts in two contrasting catchments, *Hydrolog. Process.*, **14**, 2157–2172.
- Anfossi, L., Giovannoli, C., Giraudi, G., Biagioli, F., Passini, C. ve Baggiani, C.,** (2012). A Lateral Flow Immunoassay for the Rapid Detection of Ochratoxin A in Wine and Grape Must, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 11491-11497.
- Anon.** (2013). Çekirdeksiz Kuru Üzüm Raporu, Gümrük ve Ticaret Genel Müdürlüğü, Ocak, 2013
- Anon.** (2012). Kuru Üzüm, Sektör Raporları, Türkiye Cumhuriyeti Ekonomi Bakanlığı, www.ekonomi.gov.tr/2012.
- Anlı E.ve Alkış M.İ.** (2010). Ochratoxin A and Brewing Technology: A Review, *J. Inst. Brew.*, **116** , 27.
- Anlı, E., Vural, N ve Bayram, M.,** (2011). Removal of Ochratoxin A (OTA) from Naturally Contaminated Wines during the Vinification Process, *J.Inst. Brew.* 117: 456-461
- Abrahart, R. J. ve See, L.** (2000). Comparing neural network and autoregressive moving average techniques for the provision of continuous river flow forecasts in two contrasting catchments, *Hydrolog. Process.*, **14**, 2157–2172.

- Abrunhosa, L., Serra, R., & Venâncio, A.** (2002). Biodegradation of ochratoxin A by fungi isolated from grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**, 11907-11912.
- Aksoy, U., Eltem, R., Meyvacı, K.B., Altındışli, A., Karabat, S.** (2007), Five-year survey of ochratoxin A in processed sultanas from Turkey, *Food Additives and Contaminants*, **24(3)**, 292-296.
- Arranz, I., Baeyens, G. ve Weken, V.D.** (2004). Review: HPLC Determination of Fumonisin Mycotoxins, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **44**, 195-203.
- Altındışli, A., İşçi, B.** (2005). Kuru Üzüm Elde Edilmesinde Kullanılan Bandırma Eriyiğindeki Yağ Miktarının Tespiti İçin Yeni bir Analiz Yönteminin Kullanılabilirliği, *Ege Üniv. Ziraat. Fak. Dergisi*, **42**, 13-19
- Astoreca, A., Barberis, C., Magnoli, C., Combina, M., Dalcero, A.** (2009). Ecophysiological factors effect on growth rate, lag phase and ochratoxin A production by *Aspergillus niger* aggregate strains on
- Barkai-Golan, R.** (2008), *Alternaria Mycotoxins in Mycotoxins in Fruits and Vegetables*, p. 185-203. Eds. Barkai-Golan R. ,Paster, N., Elsevier B.V., USA.
- Battilani, P., Pietri, A., Logrieco, A.** (2004a). Risk assessment and management in practice: ochratoxin in grapes and wine. In N. Magan, M. Olsen (Eds.), *Mycotoxins in food: Detection and control* 244-261. Woodhead Publishing.
- Battilani, P., Logrieco, A., Giorni, P., Cozzi, G., Bertuzzi, T., Pietri, A.** (2004b). Ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* on some grape varieties grown in Italy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **84**, 1736-1740
- Bentley, W. J., Varela, L., Daane, K. M.** (2007). Grapes and Insects: Ecology and Control in *Encyclopedia of Pest Management*, p. 207-213. Ed. Pimentel, D., Taylor & Francis.
- Bertuzzi, T., Rastelli, S., Mulazzi, A., Donadini, G., Pietri, A.** (2011). Mycotoxin occurrence in beer produced in several European countries, *Food Control*, **22**, 2059-2064

- Bejaoui, H., Mathieu, F., Taillandier, P., and Lebrihi, A.** (2006). Black aspergilli and ochratoxin A production in French vineyards. *International Journal of Food Microbiology*, **111**, 46-52.
- Belli, N., Marin, S., Sanchis, V. and Ramos, A. J.** (2004). Influence of water activity and temperature on growth of isolates of *Aspergillus* section *Nigri* obtained from grapes, *International Journal of Food Microbiology* 96 :19– 27.
- Belli, N., Ramos, A.J., Coronas I., Sanchis, V. and Marin, S.** (2005). *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A production on a synthetic grape medium in relation to environmental factors, *Journal of Applied Microbiology*, 98, 839–844.
- Belli, N., Bau, M., Bragulat, M. R., Abarca, M. L., Minguez, S., Cabanes, F. J.** (2006). Mycobiota and ochratoxin A producing fungi from Spanish wine grapes, *International Journal of Food Microbiology* 111 S40–S45.
- Belli, N., Marin, S., Coronas, I., Sanchis, V. and Ramos, A. J.** (2007). Skindamage, high temperature and relative humidity as detrimental factors for *Aspergillus carbonarius* infection and ochratoxin A production in grapes, *Food Control*, **18**, 1343–1349.
- Bezerra da Rocha, M.E., Freire, F.C.O., Maia F.E.F, Guedes, M. I. F., Rondina, D.** (2014). Mycotoxins and their effects on human and animal health: A review. *Food Control*, **36**, 159-165
- Brera, C. , Pannunzi, E. , Guarino, C., Debegnach, F., Gregori, E., De Santis, B.** (2013). Ochratoxin in a determination in cured ham by High Performance Liquid Chromatography Fluorescence Detection and Ultra Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry: a comparative study, *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, doi: 10.1080/10826076.2013.825859.
- Bircan, C. (2009).** Incidence of ochratoxin A in dried fruits and co-occurrence with aflatoxins in dried figs. *Food and Chemical Toxicology*, **47**, 1996-2001
- Blesa, J., Soriano, J. M., Moltó, J. C., Mañes, J.** (2006). Factors affecting the presence of ochratoxin A in wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **46**, 473-478.

- Briceño, E.X., Latorre, B.A. (2008).** Characterization of Cladosporium Rot in Grapevines, a Problem of Growing Importance in Chile, *Plant Disease*, **92(12)** , 1635-1642
- Bryła, M., Roszko, M., Szymczyk, K., Jędrzejczak, R., Obiedziński, M.V., Sękul, J. (2013).** Fumonisin in plant-origin food and fodder :A review. *Food Additives & Contaminants: Part A*, **30**, 1626-1640.
- Carughi, A. (2008).** Health Benefits of Sun-Dried Raisins, Sun-Maid Growers of California: <http://www.raisins.net/>
- Cendoya, E., Monge, M.P, Palacios, S.A., Chiacchiera, S.M., Torres, A.M., Farnochi, M.C., Ramirez, M., L. (2014)** Fumonisin occurrence in naturally contaminated wheat grain harvested in Argentina, *Food Control*, **37**, 56-61.
- Chassy, B.M. (2010).** Food safety risks and consumer health , *New Biotechnology*, **36**, 534-544
- Cheli, F., Battaglia, D., Gallo, R., Dell’Orto, V. (2014).** EU legislation on cereal safety: An update with a focus on mycotoxins, *Food Control*, **37**, 315-325.
- Chiotta, M. L, Susca, A., Stea, G., Mule, Perrone, G., Logrieco, A., Chulze, S. N. (2011).** Phylogenetic characterization and ochratoxin A – Fumonisin profile of black Aspergillus isolated from grapes in Argentina, *International Journal of Food Microbiology*, **149**, 171–176.
- Covarelli, L., Beccari, G., Marini A., Tosi L. (2012).** A review on the occurrence and control of ochratoxigenic fungal species and ochratoxin A in dehydrated grapes, non-fortified dessert wines and dried vine fruit in the Mediterranean area: a review. *Food Control*, **26**, 347-356.
- Çalışır, F., Akman, S. (2007).** Survey of lead and copper in Turkish raisins, *Food Additives and Contaminants*, **24(9)**, 960-968.
- Çelik, C. (2008).** Adana’da Bazı Marketlerde Satışa Sunulan Çekirdeksiz Kuru Üzümlerde Ochratoxin A Varlığının HPLC Yöntemi ile Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Dall’Asta, C., Galaverna, G., Bertuzzi, T., Moseriti, A., Pietri, A., Dossena, A. ve Marchelli, R. (2010).** Occurrence of ochratoxin A in raw ham muscle, salami

and dry-cured ham from pigs fed with contaminated diet, *Food Chemistry* 120: 978-983.

EC (European Commission), (2002). Assessment of Dietary Intake of Ochratoxin A by The Population of EU Member State, Reports on Tasks for Scientific Cooperation, Rome, Italy, p. 22.

EC (European Commission) (2006). Setting Maximum Levels for Certain Contaminants in Foodstuffs, B Commission Regulation (EC), EC-1881/2006, 17-18.

EC (European Commission) (2010). Commission regulation 1881/2006 of February 5, 2010, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards ochratoxin A, *Official Journal European Union*, L 35/8.

EFSA (European Food Safety Authority) (2006). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a Request from the Commission Related to Ochratoxin A in Food, *The EFSA Journal*, 365, 1-56.

Eltem R, Aksoy A, Altindisli A, Sarigul N, Taskin E, Askun E, Ates M, Meyvaci B, Arasiler Z, Turgut H, Kartal N. (2003). Determination of ochratoxin A in sultanas of the Aegean region. In: Proceedings of the National Mycotoxin Symposium, Istanbul, Turkey. 54-59.

Fabiania, A., Corzania, C. ve Arfelli, G. (2010). Correlation between different clean-up methods and analytical techniques performances to detect Ochratoxin A in wine, *Talanta*, 83, 281–285.

Fouskaki,M., Karametsi,K., Chaniotakis, N.A. (2003). Method for the determination of water content in sultana raisins using a water activity probe, *Food Chemistry*, 82, 133–137.

Frenette, C., Paugh, R. J., Tozlovanu, M., Juzio, M., Pfohl-Leszkowicz, A. ve Manderville, R. A. (2008). Structure–activity relationships for the fluorescence of ochratoxin A: Insight for detection of ochratoxin A metabolites, *Analytica Chimica Acta* 6, 17, 153–161.

Frisvad, J.C., Smedsgaard, J., Samson, R.A., Larsen, T.O., Thrane, U., (2007). Fumonisin B₂ production by *Aspergillus niger*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 9727-9732.

- Frisvad, J. C., Larsen, T. O., Thrane, U., Meijer, M., Varga, J., Samson, R. A., Neilsen, K. F.** (2011). Fumonisin and Ochratoxin Production in Industrial *Aspergillus niger* strains, Volume 6, Issue, 8. Alındığı tarih: 22.05.2014, www.plosone.org.
- FDA,** (2001). Guidance for industry: Fumonisin levels in human foods and animal feeds, Food and Drug Administration, Washington, A.B.D.
- Galvis-Sanchez A. C., Barros A. S., Degladido, I.** (2008), Method for analysis dried vine fruits contaminated with ochratoxin A, *Analytica Chimica Acta*, **617**, 59–63.
- Gaspardo B, Del Zotto S, Torelli E, Cividino SR, Firrao G, Della Riccia G, Stefanon B.** (2012). A rapid method for detection of fumonisins B₁ and B₂ in corn meal using Fourier transform near infrared (FT-NIR) spectroscopy implemented with integrating sphere, *Food Chemistry*, **135**, 1608-1612.
- Han, Z., Zhao, Z., Shi, J., Liao, Y., Zhao, Z., Zhang, D., Wu Y., De Saeger, S., Wu, A.** (2013). Combinatorial approach of LC–MS/MS and LC–TOF-MS for uncovering in vivo kinetics and biotransformation of ochratoxin A in rat, *Journal of Chromatography B*, **925**, 46– 53.
- Hayat, A., Paniel, N., Rhouati, A., Marty J. ve Barthelmebs, L.** (2012). Recent advances in ochratoxin A producing fungi detection based on PCR methods and OTA analysis in food matrices, *Food Control* **26**, 401-415.
- Heperkan, D., Dazkir, D. S., Kansu, D. Z. ve Güler, F. K.** (2009). Influence of temperature on citrinin accumulation by *Penicillium citrinum* and *Penicillium verucosum* in black table olives, *Toxin Reviews*, **28**, 180–186.
- Heperkan, D., Moretti, A., Dikmen, C. ve Logrieco, A.** (2012). Toxigenic fungi and mycotoxin associated with figs in the Mediterranean area, *Phytopathologia Mediterranea*, **51**, 1, 119-130.
- Hlywkay, J.J. ve Bullerman, L.B.** (1999). Occurence of fumonisin B₁ and B₂ in beer, *Food Additives and Contaminants*, **16**, 94-100.
- Hope, J.H., Hope, B.E.** (2012). A Review of the Diagnosis and Treatment of Ochratoxin A Inhalational Exposure Associated with Human Illness and

Kidney Disease including Focal Segmental Glomerulosclerosis : A review.
Journal of Environmental and Public Health,: doi:10.1155/2012/835059.

Iamanaka, B. T., Taniwaki, M. H., Vicente, E. and Menezes H. (2006). Fungi producing ochratoxin in dried fruits. *Advanced in Experimental Medicine and Biology*, 571, 181-188.

IARC, (1993). Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans vol 56, Lyon, France.

Ibáñez-Vea, M., Gonzales-Peñas, E., Lizarraga, E. ve Lopez de Cerain, A. (2012). Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin and zearalenone in barley from a northern region of Spain, *Food Chemistry* 132: 35-42.

Ibáñez-Vea, M., Martinez, R., Gonzales-Peñas, E., Lizarraga, E. ve Lopez de Cerain, A. (2012). Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin and zearalenone in breakfast cereals from Spanish market, *Food Control* 22: 1949-1955.

Iqbal, Z., Asi, M., Zuber, M., Akhtar, J. ve Saif, M. (2013). Natural occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in commercial chilli and chilli sauce samples, *Food Control* 30: 621-625.

JEFCA (2001). Ochratoxin A. Joint Food and Agriculture Organization/World Health Organization Expert Committee on Food Additives.
<http://www.inchem.org/documents/jefca/jecmono/v47je04.htm>.

Kabak, B., (2012). Aflatoxin M1 and ochratoxin A in baby formula in Turkey: Occurrence and safety evaluation, *Food Control* 26, 182-187.

Kapetanakou, A.E., Panagou, E.Z., Gialitaki, M., Drosinos, E. H., Skandamis, P. N. (2009). Evaluating the combined effect of water activity, pH and temperature on ochratoxin A production by *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus carbonarius* on culture medium and Corinth raisins, *Food Control* , 20 , 725-732.

Karbancioglu-Guler F, Heperkan D. (2008). Natural occurrence of ochratoxin A in dried figs. *Anal Chim Acta* 617, 32–36.

- Karbancioğlu-Güler, F. ve Heperkan, D.** (2009). Natural occurrence of fumonisin B₁ in dried figs as an unexpected hazard, *Food and Chemical Toxicology*, **47**, 289-292.
- Kocsube, S., Varga, J., Szigeti, G., Baranyi, N., Suri, K., Toth, B., Toldi, E., Bartok, T. ve Mesterhazy, A.** (2013). *Aspergillus* Species as Mycotoxin Producers in Agricultural Products in Central Europe, *Jour. Nat. Sci*, **124**, 13-25, Matica Srpska, Novi Sad.
- Köseoğlu İ. V.** (2008). Sarılop İncir (*Ficus carica* L.) Çeşidinin Kurutulmuş Meyvelerinde Fumonisin Varlığının Araştırılması, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Khosrow, C., Saeed Tamadoni, J., Kasa, R. N. R., Saeed, A., & Baharuddin, S.** (2010). Occurrence of *Fusarium* spp. and fumonisins in stored wheat grains marketed in Iran. *Toxins*, **2**, 2816-2823.
- Krska R., Welziga E, Boudra H.** (2007). Analysis of Fusarium toxins in feed. *Animal Feed Science Technology*, **137**, 241-264.
- Lasram, S., Oueslati, S., Valero, A., Marin, S., Ghorbel, A. and Sanchis, V.** (2010). Water Activity and Temperature Effects on Fungal Growth and Ochratoxin A Production by Ochratoxigenic *Aspergillus carbonarius* Isolated from Tunisian Grapes, *Journal of Food Science*, Vol. 75, Nr. 2.
- Latorre, B.A., Briceno, E.X., Torres, R.** (2010). Increase in Cladosporium spp. populations and rot of wine grapes associated with leaf removal, *Crop Protection*, **30** , 52-56
- Leong, S. L., Hocking, A. D., Scott, E. S.** (2006a). Effect of temprature and water activity on growth an ochratoxin A production by Australian *Aspergillus carbonarius* and *A.niger* isolates on a simulated grape juice medium. *International Journal of Food Microbiology*, **110**: 209-216.
- Leong, S. L., Hocking, A. D., Pitt, J. I., Kazi, B. A., Emmett, R. W., Scott, E. S.** (2006b). Australian research on ochratoxigenic fungi and ochratoxin A. *International Journal of Food and Microbiology*, **111**, 10-17.
- Li, X., Li, P., Zhang, Q., Zhang, Z., Li, R., Zhang, W., Ding, X., Chen, X. ve Tang, X.** (2013). A Sensitive Immunoaffinity Column-Linked Indirect Competitive

ELISA for Ochratoxin A in Cereal and Oil Products Based on a New Monoclonal Antibody, *Food Anal. Methods*, doi: 10.1007/s,12161,013,9561,4.

- Lombaert, G.A., Pellaers, P., Mankotia, M., Neil, R. ve Scott, P.M.** (2003). Mycotoxins in infant cereal foods from the Canadian retail market, *Food Additives and Contaminants*, **20**, 494-504.
- Logrieco, A., Bottalico, A., Mulé, G., Moretti, A., Giancarlo, P.** (2003) . Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some mediterranean crops, *European Journal of Plant Pathology* , **109**, 645-667.
- Logrieco, A., Ferracane, R., Visconti, A. ve Ritieni, A.** (2009). Natural occurrence of Fumonisin B₂ in red wine from Italy, *Food Additives and Contaminants*, **27**, 1136-1141.
- Logrieco, A. F., Ferracane, F., Cozzi, G., Haidukowsky, M., Susca A., Mule, G., Ritieni, A.** (2011). Fumonisin B₂ by *Aspergillus niger* in the grape–wine chain: an additional potential mycotoxicological risk, *Ann Microbiol*, **61**, 1–3.
- Magnoli,C., Violante, M., Combina, M., Palacio, G., Dalcero, A.** (2003). Mycoflora and ochratoxin-producing strains of *Aspergillus* section *Nigri* in wine grapes in Argentina, *Letters in Applied Microbiology*, **37**, 179–184.
- Makun, H.A., Adeniran, A.L., Mailafiya, S.C., Ayanda I.S., Mudashiru, A.T., Ojukwu, U.J., Jagaba, A.S. ve Usman, Z.** (2013). Natural occurrence of ochratoxin A in some marketed Nigerian foods. *Food Control*, **31**, 566-571.
- Mao, J., Lei, S., Yang, X. ve Xiao, D.** (2013). Quantification of ochratoxin A in red wines by conventional HPLC-FLD using a column packed with coreeshell particles. *Food Control*, **32**, 505-511.
- Marin, S., Ramos, A.J., Cano-Sancho,G., Sanchis,V.** (2013).Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment, *Food and Chemical Toxicology* , **60**, 218-237.
- Martins, F.A., Ferreira, F.M.D., Ferreira, F.D., Bando, E., Nerilo, S.B., Hirooka, R.Y. ve Jr, M.M.** (2012). Daily intake estimates of fumonisins in corn-based food products in the population of Parana, Brazil, *Food Control*, **26**, 614-618.

- Matumba, L., Poucke, C.V., Biswick, T., Monjerezi, M., Mwatseteza, J., De Saeger, S.** (2014). A limited survey of mycotoxins in traditional maize based opaque beers in Malawi, *Food Control* **36**, 253-256.
- Medina, A., Valle-Algarra F.M., Gimeno-Adelantado J.V., Mateo, R., Mateo F., Jiménez, M.** (2006) . New method for the determination of ochratoxin A in beer using zinc acetate and solid-phase extraction silica cartridges, *Journal of Chromatography*, **1121** ,178-183.
- Meyvacı,K.B., Altindisli,A.,Aksoy,U., Eltem R., Turgut,H., Arasiler,Z. , Kartal, N.** (2005). Ochratoxin A in sultanas from Turkey I: Survey of unprocessed sultanas from vineyards and packing-houses, *Food Additives and Contaminants*, **22**, 1138-1143.
- Meyvacı,K.B., Aksoy,U., Eltem,R., Altindişli,A., Aşkun,T., Taşkın, E.**(2012). Effect of yearly conditions and management practices on ochratoxin A production in Sultana Seedless vineyards, *Food Additives and Contaminants: PartA*, **29**, 1157-1167.
- Mikulikova, R., Belakova, S., Benasova, K. ve Svoboda, Z.** (2012). Study of Ochratoxin A in South Moravian and foreign wines by the UPLC method with fluorescence detection, *Food Chemistry* **133**,55-59
- Miran, B., Atış, E., Bektaş, Z., Salalı, E., Cankurt, M.** (2013). An Analysis of International Raisin Trade: A Gravity Model Approach. In 57th AARES Annual Conference at The Sydney Convention and Exhibition Centre in Darling Harbour, Sydney, New South Wales, 5-8 Şubat.
- Mitchell D., Parra, R., Aldred, D., Magan, N.** (2004). Water and temperature relations of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains from grapes in Europe and Israel. *Journal of Applied Microbiology* **97**, 439–445.
- Mogensen, M.F., Frisvad, J.C., Thrane, U. ve Nielsen, K.F.** (2010). Production of Fumonisin B2 and B4 by *Aspergillus niger* on Grapes and Raisins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**, 954-958.
- Moretti, A., Ferracane, L., Somma, S., Ricci, V., Mule, G., Susca, A., Ritieni, A. ve Logrieco, F.** (2009). Identification, mycotoxin risk and pathogenicity of

Fusarium species associated to fig endosepsis in Apulia, *Food Additives and Contaminants*, **27**, 1-26.

Myung K., Li S., Butchko R.A.E., Busman M., Proctor R.H., Abbas H.K., Calvo A.M. (2009). FvVE1 regulates biosynthesis of fumonisins and fusarins in *Fusarium verticillioides*. *Journal Agricultural Food Chemistry*. **57**, 5089-5094.

Nguyen, K.T.N., Ryu, D. (2013). Concentration of ochratoxin A in breakfast cereals and snacks consumed in the United States, *Food Control*, doi: 10.1016/j.foodcont.2013.11.041

Noonim, P., Mahakarnchanakul, W., Nielsen, K.F., Frisvad, J.C. ve Samson, R.A. (2009). Fumonisin B₂ production by *Aspergillus niger* in Thai coffee beans, *Food Additives and Contaminants*, **26**, 94-100.

Novo,P.,Moulas, G., Franc, D.M., Prazeres, Chu, V., Conde, J.P. (2013). Detection of ochratoxin A in wine and beer by chemiluminescence-based ELISA in microfluidics with integrated photodiodes, *Sensors and Actuators B*, **176**, 232-240.

Ozbey, F. ve Kabak, B., (2012). Natural co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in spices, *Food Control* 28: 354-361.

Ozden, S., Akdeniz, A. ve Alpertunga, B., (2012). Occurrence of Ochratoxin A in cereal-derived food products commonly consumed in Turkey, *Food Control* 25: 69-74.

Palacios, S. A., Ramirez, M. L., Cabrera Zalazar, M., Farnochi, M. C., Zappacosta, D.,Chiacchiera, S. M., M. Reynoso, M.M., Sofia N. Chulze,S.N.,Torres, A.M. (2011). Occurrence of *Fusarium spp* and fumonisin in durum wheat grains. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **59** , 12264- 12269.

Patharajan, S., Karthikeyan, V., Reddy, K. R. N., Spadaro, D. (2011).Potential of Ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains isolated from grapes at different enviromental factors, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, Volume 44, No 18, 1802- 1814.

- Pattano, D., Grosso, A., Stocco, P.P., Pazzi, M. ve Zeppa, G.** (2013). Survey of the presence of patulin and ochratoxin A in traditional semi-hard cheeses. *Food Control*, **33**, 54-57.
- Perronea, G., De Girolamo, A., Sarigiannisab, Y., Haidukowskia, M.E., Angelo Viscontia, A.** (2013). Occurrence of ochratoxin A, fumonisin B2 and black aspergilli in raisins from Western Greece regions in relation to environmental and geographical factors, *Food Additives and Contaminants: Part A*, doi:10.1080/19440049.2013.796594.
- Perši, N., Pleadin, J., Kovačević D., Scortichini G., Milone S.** (2014). Ochratoxin A in raw materials and cooked meat products made from OTA-treated pigs, *Meat Science*, **96** , 203-210.
- Pleadin, J., Vahcic, N., Persi, N., Sevelj, D., Markov, K. ve Frece, J.** (2013). *Fusarium* mycotoxins occurrence in cereals harvested from Croatia fields, *Food Control*, **32**, 49-54.
- Prelle, A., Spadaro, D., Garibaldi, A., Gullino M. L.** (2014). Co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in spices commercialized in Italy, *Food Control*, **39** , 192-197.
- Remiro, R., Gonzales-Penas, E., Lizarraga, E. ve Lopez de Cerain, A.,** (2012). Quantification of Ochratoxin A and five analogs in Navarra red wines, *Food Control* 27: 139-145.
- Quintela, S., Villarán, M., Lopez de Armentia, I. ve Elejalde, E.,** (2011). Occurrence of Ochratoxin A in Rioja Alavesa wines, *Food Chemistry* 126: 302-305.
- Quintela, S., Villarán, M., Lopez de Armentia, I. ve Elejalde, E.,** (2012). Ochratoxin A in Spanish exportation wine market, *Food Control* 25: 501-504.
- Radulovic, S. S., Markovic, R. V., Milic, D. D., Jakic-Dimic, D. P. ve Sefer, D. S.** (2013). Degree of Mycotoxicological Contamination of Feed and Complete Feed Mixtures for Pigs and Poultry During the Period 2007-2012 on the Territory of the Republic of Serbia, *Jour. Nat. Sci*, **124**, 153-169, Matica Srpska, Novi Sad.

- Remiro, R., Gonzales-Penas, E., Lizarraga, E. ve Lopez de Cerain, A.,** (2012). Quantification of Ochratoxin A and five analogs in Navarra red wines, *Food Control* **27**,139-145.
- Rhouati, A., Hayat, A., Hernandez, D.B., Meraihi, Z., Munoz, R. ve Marty, J.L.** (2013). Development of an automated flow-based electrochemical aptasensor for on-line detection of Ochratoxin A. *Sensors and Actuators B*, **176**, 1160-1166.
- Ringot,D.,Chango,A.,Schneider, Y.J., Larondelle, Y.** (2006). Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update, *Chemico-Biological Interactions*, **159**, 18-46.
- Rocha, L.O.,Reis, G.M. Nascimento da Silva, V., Braghini, R., Teixeira, M.M.G., Corrêa, B.** (2011). Molecular characterization and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* isolated from corn grains of different geographic origins in Brazil, *International Journal of Food Microbiology*, **145**, 9-21.
- Romero, S.M. , Comerio, R.M. , Larumbe,G, Ritieni, A., Vaamonde, G.,Fernandez Pinto, V.** (2005). Toxigenic fungi isolated from dried vine fruits in Argentina, *International Journal of Food Microbiology* **104**, 43-49.
- Rousseaux,S. , Diguta,C.F., Radoï-Matei, F., Alexandre, H., Guilloux-Bénatier, M.** (2014). Non-Botrytis grape-rotting fungi responsible for earthy and moldy off-flavors and mycotoxins, *Food Microbiology*, **38** , 104-121.
- Sabuncuoğlu, S.A., Baydar, T., Giray, B., Şahin, G.** (2008). Mikotoksinler: toksik etkileri, degradasyonları, oluşumlarının önlenmesi ve zararlı etkilerinin azaltılması, *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **28(1)**, 63-92.
- Sage, L., Krivobok, S., Delbos, E.** (2002). Fungal flora and ochratoxin A production in grapes and musts from France, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 1306-1311.
- SCF (Scientific Committee on Foods of the European Union)**, 2003. Updated opinion of the Scientific Committee on Foods on Fumonisin B1, B2 and B3. Expressed on 4 April 2003. SCF/CS/CNTM/MYC/28 FINAL. Directorate-Scientific Opinions. European Commission, Brussels, Belgium

- Scott, P. M.** (2012). Recent research on fumonisins: A review. *Food Additives and Contaminants: Part A*, **29**, 242–248
- Serra, R., Lorenço, A., Alipio, O.P., Venancio, A.** (2005). Influence of the region of origin on the mycobiota of grapes with emphasis on *Aspergillus* and *Penicillium* species, *British Mycological Society*, **110**, 971-978.
- Serratos, M. P., Lopez-Toledano, A., Millan, C., Medina, M., & Merida, J.** (2010). Changes of ochratoxin A in grapes inoculated with *Aspergillus carbonarius* and subjected to chamber-drying under controlled conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**, 11907-11912.
- Selouane, A., Bouya, D., Lebrihi, A., Bouseta, A.,** (2009). Impact of some environmental factors on growth and production of ochratoxin A of/by *Aspergillus tubingensis*, *A. niger* and *A. carbonarius* isolated from Moroccan grapes. *The Journal of Microbiology*, **47**, 411-419.
- Shotwell O. L., Hesseltine C. W., Goulden M. L.** (1969). Ochratoxin A: Occurrence as natural contaminant of a corn sample. *Applied Microbiology*, **17**, 765–766.
- Somorin, Y.M., Bertuzzi, T., Battilani, P. ve Pietri, A.** (2012). Aflatoxin and fumonisin contamination of yam flour from markets in Nigeria, *Food Control*, **25**, 53-58.
- Soyöz, M., Özçelik, N.** (2002). Ochratoxin A'nın Toksik Etkileri ve Eliminasyonu, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, **22**, 421-427.
- Spadaro, D., Patharajan, S., Lore, A., Gullino, M. L., Garibaldi, A.** (2010a). Effect of pH, water activity and temperature on the growth and accumulation of ochratoxin A produced by three strains of *Aspergillus carbonarius* isolated from Italian vineyards, *Phytopathol. Mediterr.* **49**, 65–73
- Spadaro, D., Lore, A., Garibaldi, A. ve Gullino, M.** (2010b). Occurrence of Ochratoxin A before bottling in DOC and DOCG wines produced in Piedmont (Northern Italy), *Food Control* **21**: 1294-1297.
- Stankovic, S., Levic, J., Ivanovic, D., Krnjaja, V., Stankovic, G. ve Tancic, S.** (2012). Fumonisin B₁ and its co-occurrence with other fusariotoxins in naturally-contaminated wheat grain, *Food Control*, **23**, 384-388.

- Suarez-Quiroz, M. L., Gonzalez-Rios, O., Barel, M., Guyot, B., Schorr-Galindo, S. ve Guiraud, J. P.** (2004). Effect of chemical and environmental factors on *Aspergillus ochraceus* growth and toxigenesis in green coffee, *Food Microbiology*, **21**, 629–634.
- Susca, A., Proctor, R.H., Mule, G., Stea, G., Ritieni, A., Logrieco, A. ve Moretti, A.** (2010). Correlation of Mycotoxin Fumonisin B2 Production and Presence of the Fumonisin Biosynthetic Gene fum8 in *Aspergillus niger* from Grape, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**, 9266-9272.
- Şen, L., Nas, S.** (2010). Kuru İncir, Üzüm ve Kırmızıbiberlerde Mikotoksin Varlığı: Derleme. *Akademik Gıda*, **8**, 24-32.
- TGK,** (2008). Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ, Türk Gıda Kodeksi. **Tebliğ No:** 2008/26, *Resmi Gazete*, No: 17.05.2008- 26879.
- TGK** (2011). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. Yayımlandığı Resmi Gazete, 29.12.2011-28157.
- Toffa, D.D., Mahnine N., Ouaffak, L., El Abidi, A., El Alaoui Faris, F.Z. ve Zinedine, A.** (2013). First survey on the presence of ochratoxin A and fungi in raw cereals and peanut available in the Republic of Niger. *Food Control*, **32**, 558-562.
- TS 3411** (2002). Çekirdeksiz Kuru Üzüm, Türk Standardı, Şubat 2002
- Tournas, V.H , Katsoudas, E.,**(2005). Mould and yeast flora in fresh berries, grapes and citrus fruits, *International Journal of Food Microbiology*, **105**, 11-17.
- Türkben, C.** (2007). Bitkilerde Yüzey Mumu (Epikutikular Mum) ve Meyvelerdeki Önemi, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **21**, 21-26
- Türkben, C., Çetin, B.** (2008). Handling and Marketing Problems of Seedless Raisin Grapes in Turkey, *Small Fruits Review*, **1**, 73-79.
- Ünal, A.** (2009). Kuru Üzüm ve Ürünlerinde Ochratoxin A Varlığının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul. ss.13-51.

- Valero, A., Marín, S., Ramos, A. J., Sanchis, V.** (2005). Ochratoxin A producing species in grapes and sun dried grapes and their relation to ecophysiological factors. *Letters in Applied Microbiology*, **41**, 196-201.
- Van der Merve K.J., Steyn P.S., Fourie L.** (1965). Mycotoxins. Part II. The constitution of ochratoxins A, B and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* Wilhm, *Journal of Chemical Society*, 7083-7088.
- Vanesa, D. ve Ana, P.,** (2013). Occurrence of Ochratoxin A in coffee beans, ground roasted coffee and soluble coffee and method validation, *Food Control* **30**: 675-678.
- Var, I. ve Kabak, B.** (2006). Üzüm, Üzüm Suyu ve Sarapta Ochratoxin A Sorunu, Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bolu, 24-26 Mayıs. ss. 421-424.
- Varga, J., Kocsube, S., Suri, K., Szigeti, G., Szekeres, A., Varga, M., Toth, B. ve Bartok, T.** (2010). Fumonisin contamination and fumonisin producing black Aspergilli in dried vine fruits of different origin, *International Journal of Food Microbiology*, **143**, 143-149.
- Vecchio, A., Mineo, V. ve Planeta, D.,** (2012). Ochratoxin A in instant coffee in Italy, *Food Control* **28**, 220-223.
- Vega, M., Rios, G., Baer, D., Mardones, C., Tessini, C., Herlitz, E., Saelzer, R. ve Ruiz, M.,** (2012). Ochratoxin A occurrence in wines produced in Chile, *Food Control* **28**, 147-150.
- Vidal, A., Marin. S., Ramos, A.J., Sancho, G. ve Sanchis, V.** (2013). Determination of aflatoxins, deoxynivalenol, ochratoxin A and zearalenone in wheat and oat based bran supplements sold in the Spanish market. *Food and Chemical Toxicology*, **53**, 133-138.
- Waskiewicz, A., Beszterda, M. ve Golinski, P.** (2012). Occurrence of fumonisins in food- An interdisciplinary approach to the problem, *Food Control*, **26**, 491-499.
- Waskiewicz, A., Beszterda, M. , Bocianowski J., ve Golinski, P.** (2013). Natural occurrence of fumonisins and ochratoxin A in some herbs and spices commercialized in Poland analyzed by UPLC-MS/MS method, *Food Microbiology*, **36**, 426-431.

- Williamson, G., Carughi, A.** (2010). Polyphenol content and health benefits of raisins, *Nutrition Research*, **30**, 511-519.
- Zahavi, T., Cohen, L., Weiss, B., Schena, L., Daus, A., Kaplunov, T., Zutkhi, J., Ben-Arie, R., Droby, S.** (2000). Biological control of Botrytis, Aspergillus and Rhizopus rots on table and wine grapes in Israel, *Postharvest Biology and Technology*, **20**, 115-124.
- Zhang, A., Ma, Y., Feng, L., Wang, Y., He, C., Wang, X. Ve Zhang, H.** (2011). Development of a sensitive competitive indirect ELISA method for determination of ochratoxin A levels in cereals originating from Nanjing, China, *Food Control*, **22**, 1723-1728.
- Zhang, X., Li, J., Zong, N., Zhou, Z., Ma, L.** (2013). Ochratoxin A in dried vine fruits from Chinese markets, *Food Additives and Contaminants: Part B*, doi: 10.1080/19393210.2013.867365.
- Zinedine, A., Soriano, J. M., Juan, C., Mojemmi, B., Moltó, J. C., Bouklouze, A., ve diğ.** (2007). Incidence of ochratoxin A in rice and dried fruits from Rabat and Salé area, Morocco. *Food Additives and Contaminants*, **24**, 285-291.
- Zimmerly, B., Dick, R.** (1995). Determination of ochratoxin A at the ppt level in human blood, serum, milk and some foodstuffs by high-performance liquid chromatography with enhanced fluorescence detection and immunoaffinity column cleanup: methodology and Swiss data. *Journal of Chromatography B*, **666**, 85-89.

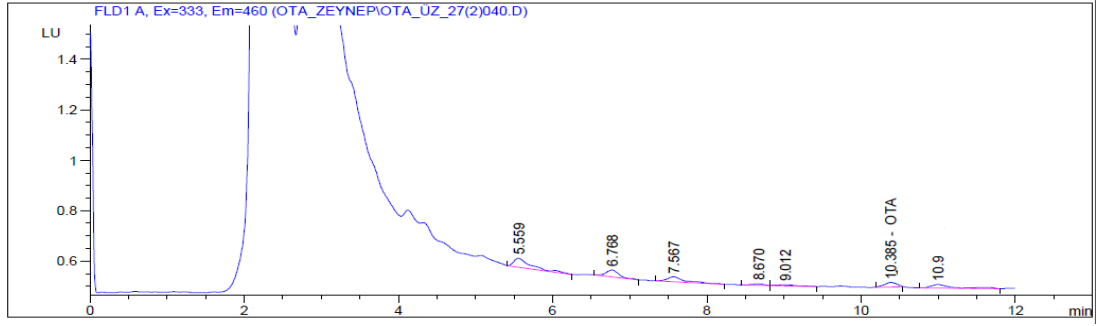
EKLER

EK A : Antep Kuru Üzümleri HPLC Sonuç Kromatogramları

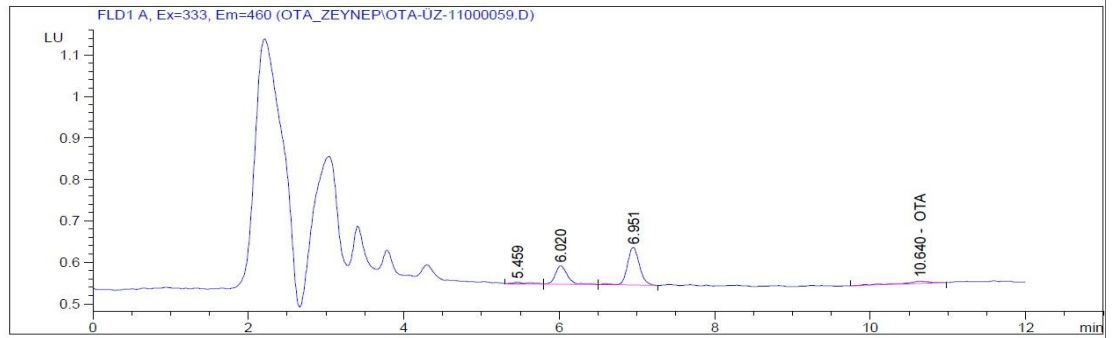
EK B : Sultana Kuru Üzümleri HPLC Sonuç Kromatogramları

EK C : Besni Kuru Üzümleri HPLC Sonuç Kromatogramları

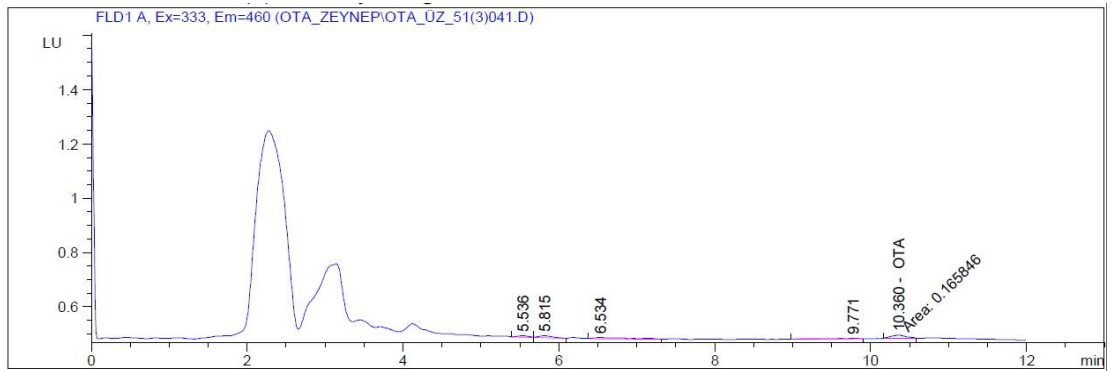
EK A : Antep Kuru Üzümleri HPLC Sonuç Kromatogramları



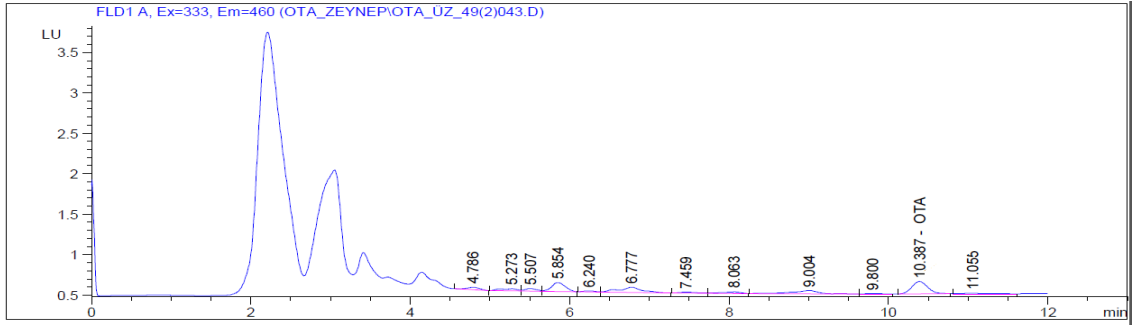
Şekil A.1 : 27 nolu örneğe ait kromatogram.



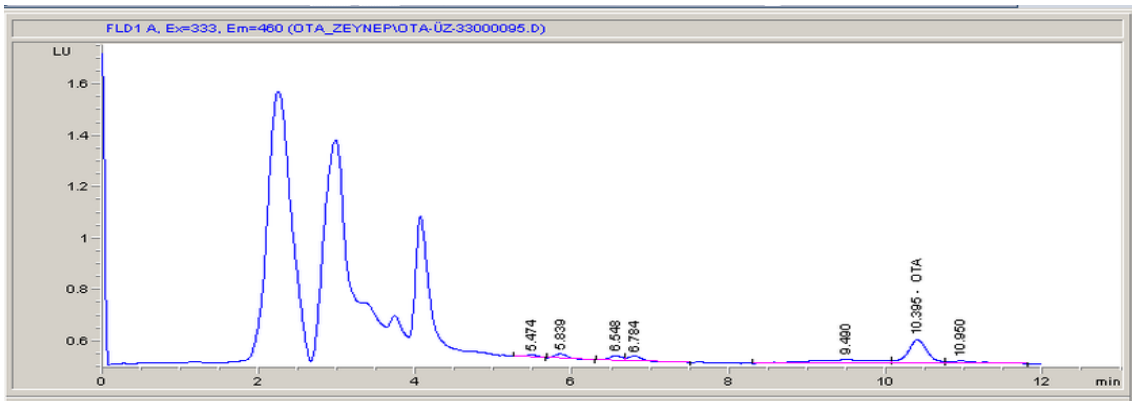
Şekil A.2 : 11 nolu örneğe ait kromatogram.



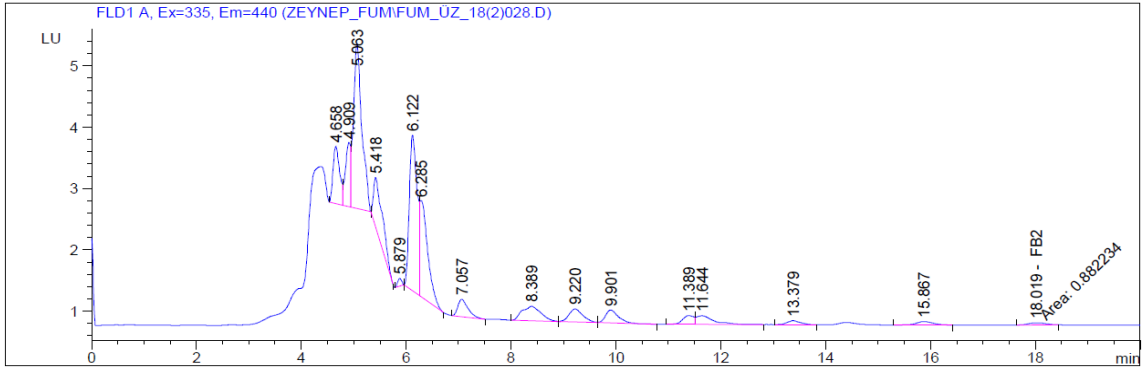
Şekil A.3 : 51 nolu örneğe ait kromatogram.



Şekil A.4 : 49 nolu örneğe ait kromatogram.

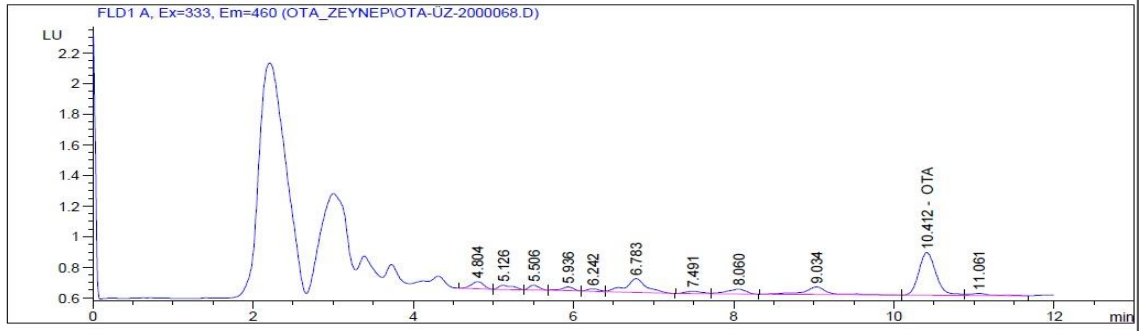


Şekil A.5 : 33 nolu örneğe ait kromatogram.



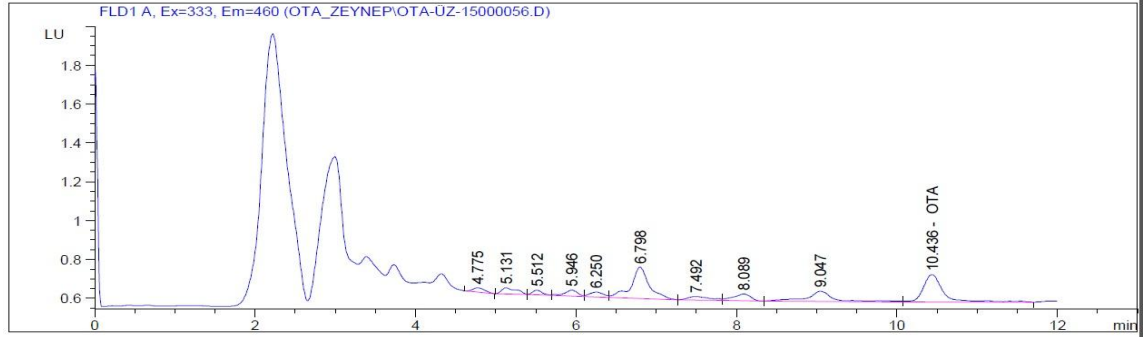
Şekil A. 6: 18 nolu örneğe ait kromatogram.

EK B : Sultana Kuru Üzümleri HPLC Sonuç Kromatogramları

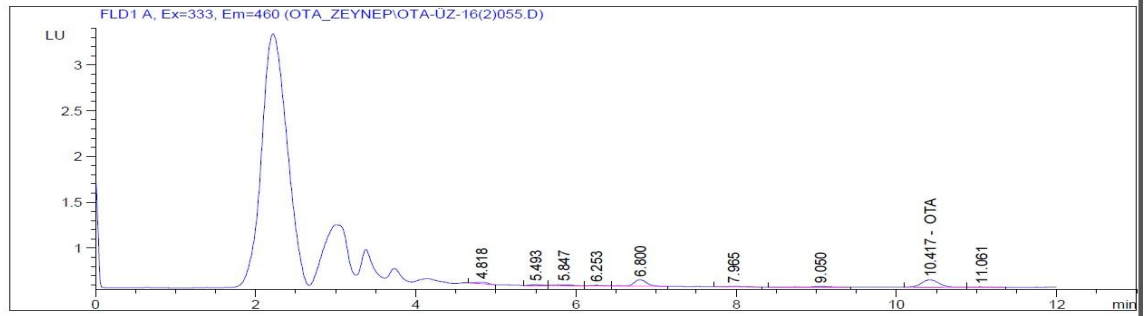


Şekil B.1 : 2 nolu örneğe ait kromatogram.

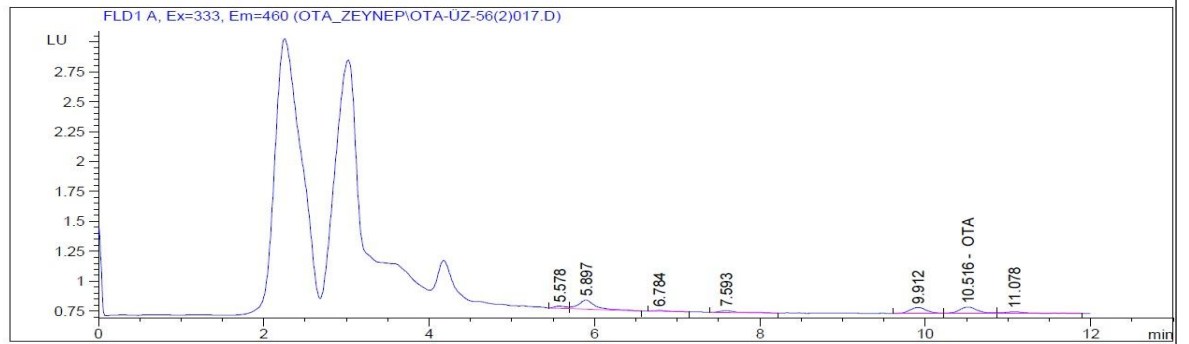
EK C : Besni Kuru Üzümleri HPLC Sonuç Kromatogramları



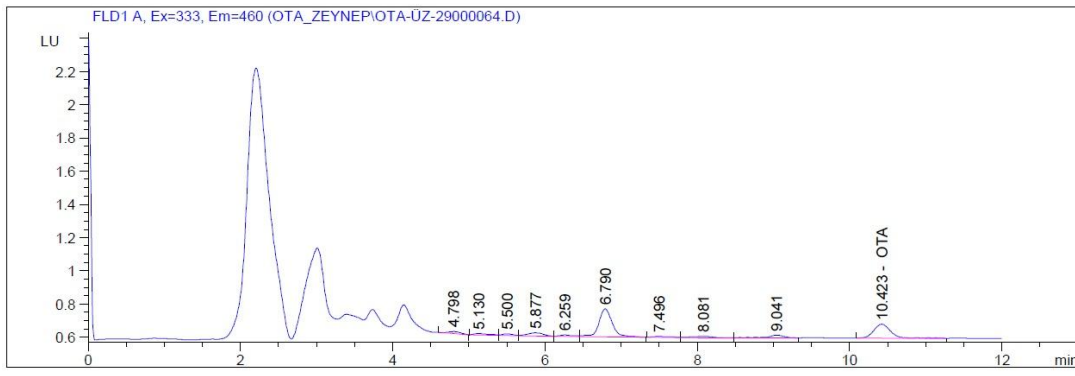
Şekil C.1 : 15 nolu örneğe ait kromatogram.



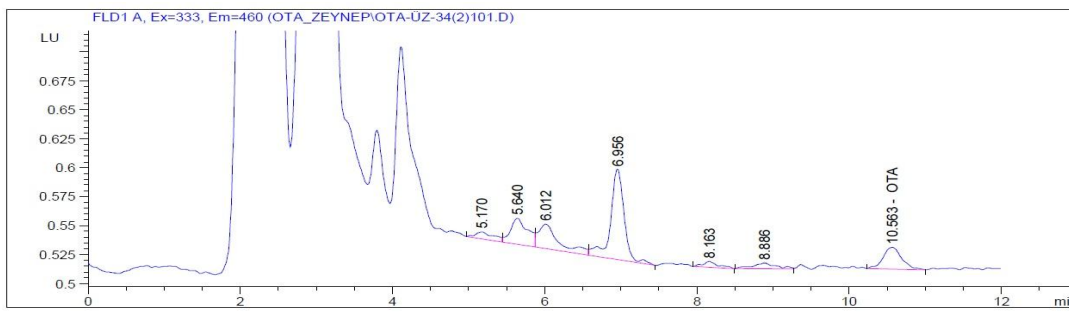
Şekil C.2 : 16 nolu örneğe ait kromatogram.



Şekil C.3: 56 nolu örneğe ait kromatogram.



Şekil C.4: 29 nolu örneğe ait kromatogram.



Şekil C.4: 34 nolu örneğe ait kromatogram.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Zeynep ASLANOĞLU

Doğum Yeri ve Tarihi: SAMSUN/ 1985

Adres: Üsküdar

E-Posta: z.aslanoglu@hotmail.de

Lisans: İnönü Üniversitesi

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

▪ **Aslanoğlu Z.**, Heperkan D., 2013 : The 2nd international symposium on "Traditional Foods from Adriatic to Caucasus" , *International Congress – Determination of Ochratoxin A in Turkish Raisins and Sultanias*, October 24-26, 2013, Struga, Macedonia