

**T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**SİRKEDE OTA VE PATULİN İLE BAZI KALİTE PARAMETRELERİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ece GÜNALAN İNCİ

**Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Gıda Mühendisliği Programı**

Haziran, 2019

**T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**SİRKEDE OTA VE PATULİN İLE BAZI KALİTE PARAMETRELERİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Ece GÜNALAN İNCİ
(Y1613.040011)**

**Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Gıda Mühendisliği Programı**

Tez Danışmanı: Prof.Dr. Zeynep Dilek HEPERKAN

Haziran, 2019

ONAY FORMU



T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

Yüksek Lisans Tez Onay Belgesi

Enstitümüz Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Gıda Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans Programı Y1613.040011 numaralı öğrencisi Ece GÜNALAN İNCİ'nin "SİRKEDE OTA VE PATULİN İLE BAZI KALİTE PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ" adlı tez çalışması Enstitümüz Yönetim Kurulunun 12.06.2019 tarih ve 2019/12 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından Başarı ile Tezli Yüksek Lisans tezi olarak Kabul edilmiştir.

Öğretim Üyesi Adı Soyadı

İmzası

Tez Savunma Tarihi : 27/06/2019

1) Tez Danışmanı: Prof. Dr. Zeynep Dilek HEPERKAN

2) Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Gülşay BAYSAL

3) Jüri Üyesi : Doç. Dr. Filiz ALTAY

[Handwritten signatures in blue ink: Zeynep Dilek HEPERKAN, Gülşay BAYSAL, Filiz ALTAY]

Not: Öğrencinin Tez savunmasında **Başarılı** olması halinde bu form **imzalanacaktır**. Aksi halde geçersizdir.

YEMİN METNİ

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “Sirkede Ota Ve Patulin İle Bazı Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi ” adlı çalışmanın, tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadarki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin Bibliyografya’da gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve onurumla beyan ederim. (.../.../20..)

Ece GÜNALAN İNCİ

ÖNSÖZ

Lisansüstü eğitimim boyunca araştırmamın gerçekleştirilmesi ve değerlendirilmesi sırasında desteklerini esirgemeyen değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Dilek HEPERKAN'a teşekkür ederim. Maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan sevgili anne ve babam Serpil-Hikmet GÜNALAN ve canım kardeşim Öykü Beste GÜNALAN, her zaman moral ve enerji veren sevgili teyzem Ayşe SEVİNÇ başta olmak üzere tüm aileme çok teşekkür ederim. Tezimin araştırılması ve yazılması gibi bu zorlu süreçte her türlü desteğini esirgemeyen pozitif enerji ve güç veren canım eşim, hayat arkadaşım Ender İNCİ'ye sonsuz teşekkür ederim. Çalışmada kullanılan örnekleri temin ettiğimiz ev hanımlarına ve bize ulaştıran dostlarına çok teşekkür ederim. İntertek Test Hizmetleri A.Ş. Gıda Laboratuvarı Müdürü Sayın Çiğdem KALIN VATANSEVER, Müdür yardımcısı Fatma HASKAN ARMAN ve birim sorumlusu Namık Özer ŞENOL'a bu zor ve uzun süreçte bana imkan ve destek sağladıkları için çok teşekkür ederim.

Haziran, 2019

Ece GÜNALAN İNCİ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xvii
ABSTRACT.....	xix
1. GİRİŞ	1
1.1 Mikotoksinler	1
1.2 Mikotoksinlerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri	2
2. SİRKE	3
2.1 Sirkenin Tarihi.....	3
2.2 Sirkenin Tanımı.....	3
2.3 Sirkenin İçeriği ve Bileşenleri.....	4
2.4 Sirke Oluşum Yöntemleri.....	5
2.5 Sirke Çeşitleri	6
2.6 Sirke ile Yapılan Çalışmalar	7
2.7 Sirkede Kalite Parametreleri	8
2.8 Sirkenin Sağlık Üzerine Etkisi	8
3. OKRATOKSİN	11
3.1 Okratoksin Yapısı ve Özellikleri.....	11
3.2 Okratoksin Oluşumuna Etki Eden Faktörler	12
3.3 Okratoksin Bulunabilen Gıdalar.....	12
3.4 Okratoksinin İnsan ve Hayvan Sağlığı Üzerine Etkisi.....	13
3.5 Okratoksin ile İlgili Yasal Düzenlemeler	14
4. PATULİN.....	17
4.1 Patulinin Yapısı ve Özellikleri	17
4.2 Patulinin İnsan ve Hayvan Sağlığı Üzerine Etkisi	19
4.3 Patulin İle İlgili Yasal Düzenlemeler	19
5. MATERYAL VE METOT	21
5.1 Materyal	21
5.2 Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler	22
5.3 Kullanılan Sarf Malzemeler	23
5.4 Kullanılan Cihaz ve Aletler.....	24
5.5 Okratoksin Analizinde Kullanılan Çözeltiler	24
5.5.1 OTA standart çözeltileri.....	24
5.5.2 OTA kalibrasyon çözeltileri.....	25
5.5.3 Okratoksin tayinininde HPLC şartları.....	26
5.5.4 Okratoksin tayini	26
5.6 Patulin Analizinde Kullanılan Çözeltiler	26

5.6.1 Patulin standart çözeltileri	26
5.6.2 Patulin kalibrasyon çözeltileri	27
5.6.3 Patulin tayinininde HPLC şartları	28
5.6.4 Patulin tayini	29
6. BULGULAR VE TARTIŞMA	31
6.1 Sirke Örneklerinde Okratoksin A Varlığının Tespiti	31
6.2 Sirke Örneklerinde Patulin Varlığının Tespiti.....	34
7. SONUÇ	47
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ	57

KISALTMALAR

EC	: Avrupa Birliği Komisyonu
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
JEFCA	: Gıda Katkıları Uzmanlar Komisyonu
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
FAO	: Dünya Gıda Tarım Örgütü
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
FLD	: Flouresans Dedektör
DAD	: Diode Array Dedektör
FTIR	: Fourier Transform Infrared
OTA	: Okratoksin A
IAC	: Immunoaffinite kolon
UV	: Ultra Viole
PBS	: Phosphate Buffer Saline
NaOH	: Sodyum Hidroksit
LOD	: Tespit Limiti
LOQ	: Tayin Limiti
CAS	: Kimyasal maddelerin incelendiği servis kayıt numarası (Chemical Abstracts Service Registry Number)
ISO	: Uluslararası Standartlar Organizasyonu
TS	: Türk Standartları
EN	: Avrupa Kriteri
a_w	: Su aktivitesi
SD	: Standart sapma
%RSD	: Relative standard deviation

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 3.1: Okratoksin A mikotoksinlerinin küf türleri ve ilişkili gıdalar	12
Çizelge 3.2: Çeşitli gıdalarda OTA kontaminasyonundan sorumlu mantar türleri ...	13
Çizelge 3.3: Çeşitli gıdaların yer aldığı Avrupa Birliği Komisyon Direktifleri OTA limitleri.....	14
Çizelge 4.1: Çeşitli gıdaların yer aldığı Avrupa Birliği Komisyon Direktifleri Patulin limitleri.....	20
Çizelge 5.1: Sirkelerin hammadde, üretildikleri yıl ve bölgelere ait bilgiler	21
Çizelge 5.2: Okratoksin A kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması	25
Çizelge 5.3: Patulin kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması	27
Çizelge 5.4: Patulin gradient cihaz parametreleri	28
Çizelge 6.1: Sirkelerde Okratoksin ve Patulin için LOD ve LOQ değerleri	45
Çizelge 6.2: Sirkelerde Okratoksin ve Patulin analiz sonuçları	46

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Fermente edilenilen şekerlerin iki basamaklı oksidasyonu. 1. Basamak şekerin etil alkole fermantasyonu (anaerobik koşullar) 2. Basamak etil alkolün asetik aside fermantasyonu (aerobik koşullar)	6
Şekil 3.1: Okratoksin A'nın moleküler yapısı (Varga ve ark., 2006).....	11
Şekil 4.1: Patulin' in Kimyasal Yapısı (Desphande, 2002).....	17
Şekil 5.1: Okratoksin A kalibrasyon grafiği	25
Şekil 5.2: Patulin kalibrasyon grafiği	28
Şekil 6.1: 1 µg/L (ppb) Okratoksin A standart çözeltisi.....	31
Şekil 6.2: 2,15 µg/L konsantrasyonda OTA tespit edilmiş olan sirke (Örnek-6) örneğine ait kromatogram.....	32
Şekil 6.3: 0,85 µg/L konsantrasyonda OTA tespit edilmiş olan sirke (Örnek-21) örneğine ait kromatogram.....	33
Şekil 6.4: 0,14 µg/L konsantrasyonda OTA tespit edilmiş olan sirke (Örnek-26) örneğine ait kromatogram.....	33
Şekil 6.5: 0,12 µg/L konsantrasyonda OTA tespit edilmiş olan sirke (Örnek-29) örneğine ait kromatogram.....	34
Şekil 6.6: 100 µg/L (ppb) Patulin standart çözeltisi	35
Şekil 6.7: 5,31 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-3) örneğine ait kromatogram.....	36
Şekil 6.8: 27,52 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-10) örneğine ait kromatogram.....	36
Şekil 6.9: 1451,94 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-11) örneğine ait kromatogram.....	37
Şekil 6.10: 4,31 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-15) örneğine ait kromatogram.....	37
Şekil 6.11: 267,03 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-16) örneğine ait kromatogram.....	38
Şekil 6.12: 113,82 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-17) örneğine ait kromatogram.....	38
Şekil 6.13: 48,45 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-18) örneğine ait kromatogram.....	39
Şekil 6.14: 52,15 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-19) örneğine ait kromatogram.....	39
Şekil 6.15: 5,02 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-20) örneğine ait kromatogram.....	40
Şekil 6.16: 6,35 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-21) örneğine ait kromatogram.....	40
Şekil 6.17: 5,47 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-22) örneğine ait kromatogram.....	41

Şekil 6.18: 243,23 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-23) örneğine ait kromatogram.....	41
Şekil 6.19: 5,48 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-24) örneğine ait kromatogram.....	42
Şekil 6.20: 165,43 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-25) örneğine ait kromatogram.....	42
Şekil 6.21: 31,92 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-27) örneğine ait kromatogram.....	43
Şekil 6.22: 30,56 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-28) örneğine ait kromatogram.....	43
Şekil 6.23: 9,09 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-30) örneğine ait kromatogram.....	44
Şekil 6.24: 5,06 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-31) örneğine ait kromatogram.....	44
Şekil 6.25: 6,29 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-32) örneğine ait kromatogram.....	45
Şekil 6.26: 10,21 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-33) örneğine ait kromatogram.....	45

SİRKEDE OTA VE PATULİN İLE BAZI KALİTE PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Bilinen ilk sirke üretimi mayalar aracılığı ile *Saccharomyces cerevisiae* bakterisiyle fermentasyon sonucu ortaya çıkmıştır. Varolan olan şekerin etanole parçalanarak ve asetik asit bakterisinin etanol oksidasyonu ile fermantasyonu ve oluşum süreci ile üretimi tamamlanmaktadır.

Okratoksin A (OTA), *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus section Nigri*, *Penicillium verrucosum* gibi küfler tarafından üretilen, toksik özellikteki sekonder metabolitlerdir. Okratoksin üreten küf metabolitleri fazla özellik ve miktardaki substratla gelişebildikleri için ortaya çıkan bulaşlarla birçok gıda ürününde bulunmaktadır.

Patulin, en fazla miktarda *Penicillium expansum* küfünden izole edilmektedir. Bunun yanında kırmızı meyvelerde ve meyvelerden yapılan meyve suyu, şıra, posa gibi ürünlerde hammadde kalitesine bağlı olarak oluşmaktadır.

Okratoksin tespiti için çalışmanın içeriğinde de belirttiğimiz gibi incelenen 33 adet sirke örneğinin 4 tanesinde (%87,87) çıkan sonuçların <LOD ve <LOQ şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Analiz yapılan 33 adet sirke numunesinden 4 tanesinde (%12,12) çıkan değerler sırası ile örnek 6 için; 2,15 µg/L, örnek 21 için; 0,85 µg/L, örnek 26 için; 0,14 µg/L, örnek 29 için; 0,12 µg/L'dir. Patulin varlığı için incelenen 33 adet sirke örneğinin 19 tanesinin (%57,57) LOQ değerinden büyük, 1 tanesinin (%3,03) LOD değerinden büyük, kalan 13 örneğin (%39,39) sonuçlarının ise <LOD ve <LOQ şeklinde olduğu tespit edilmiştir.

OTA ve Patulin toksinlerinin üremesi için gerekli ortamın sıcak, nemli ve kötü depo şartlarının uygun olmasını çıkan pozitif değerlerde sayısal verilerle desteklemektedir. Bunun yanında ev yapımı sirkelerde fermentasyon işlemi uygulanmadığı için hammadde olan meyvede oluşan toksinin sonrasında işlem görmüş son üründen geçmekte olup yok edilememektedir.

Anahtar Kelimeler: Sirke, Toksin, Patulin, Okratoksin

OCRATOXIN AND PATULINE ANALYSIS IN HOMEMADE VINEGARS

ABSTRACT

The first known vinegar production was the result of fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* bacteria through yeasts. The production of the existing sugar is completed by breaking down into ethanol and acetic acid bacteria fermenting with ethanol oxidation and formation process.

Ochratoxin A (OTA) is a toxic secondary metabolites produced by molds such as *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus section Nigri*, *Penicillium verrucosum*. Ochratoxin-producing mold metabolites are found in many food products due to contamination as they can develop with more features and amounts of substrates.

Patulin is isolated from the maximum amount of *Penicillium expansum* mold. In addition, red fruit and fruit juice made from fruit, must, products such as pulp is formed depending on the quality of raw materials.

As stated in the content of the study for the determination of ochratoxin, the results obtained in 4 (87.87%) of the 33 vinegar samples examined were <LOD and <LOQ. The values obtained in 4 (12,12%) of the 33 vinegar samples analyzed were as follows; 2.15 µg / L for example 21; 0.85 µg / L for example 26; 0.14 µg / L for example 29; 0,12 µg / L. Of the 33 vinegar samples examined for the presence of patulin, 19 (57.57%) were greater than the LOQ value, 1 (3.03%) was greater than the LOD value, and the remaining 13 (39.39%) had <LOD and <LOQ results. was determined.

It supports the warm, humid and bad storage conditions of the environment required for the growth of OTA and Patulin toxins by using positive numerical data. In addition, since the fermentation process cannot be applied in homemade vinegars, the toxin, which is the raw material, is passed through the processed final product and cannot be destroyed.

Keywords: *Vinegar, Toxin, Patulin, Ochratoxin*

1. GİRİŞ

1.1 Mikotoksinler

Mikotoksinin isim kökeni incelendiğinde Yunanca'da küf manasına gelen 'MYKES' ve Latince'de toksik manasına gelen 'TOXICUM' sözcüklerinden türetildiği görülmektedir (Tayfur 1993,1996). Mikotoksin küfleri, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* gibi küf çeşitlerinin ikincil metabolizması neticesinde meydana gelen toksinlerdir. Günümüz de 400 çeşit mikotoksin küfü tespit edilerek kayıt altına alınmıştır. Mikotoksin tespitlerinin bu kadar fazla oluşuna üzerinde yapılan çalışmaların fazlalığı ve yeni kemoterapik, antibiyotik ajanların tespit edilmeye çalışıldığı farklı laboratuvarlarda metabolitlerin mikotoksin olarak tespit edilmesinin etkisi olmuştur.

Küf türlerinin hepsi mikotoksin meydana getirmezler. Toksik olarak tanımlanan küfler mikotoksin üretebilmektedir. Küflerin tatlarına bakılarak, koklayarak veya görünüşlerini baz alarak mikotoksin meydana getirdiklerini tespit etmek imkansızdır. Görünürde küf olmamasına rağmen bazı gıdalar da mikotoksin oluştuğu gözlemlenmiştir (Jones et al.,1993). Bahsedilen metabolitler küflerin çoğalma döneminin sonların da (tropofaz) veya durma döneminin başların da (idiofaz) meydana gelmektedir.

Kimyasal yapıları ile ilgili inceleme yapılan mikotoksinlerin ağırlıklı olarak halkalı yapılarda olduğu ve ufak bir kısmının da düz zincir yapı bileşenlerden meydana geldiği görülmüştür. Yüksek sıcaklıklara dirençli olan mikotoksinler sıcaklık derecelerine, çeşitlerine ve uygulanma sürelerine göre değişik stabiliteler ortaya koymuştur.

Tarım ürünlerinin hasat dönemleri de dahil olmak üzere işleme ve depolama süreçlerindeki ortam şartları, söz konusu ürünlerin bileşenleri ve su aktivitelerine (a_w) göre değişik küfler oluşturdukları görülmüştür.

1.2 Mikotoksinlerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

İnsanların denek olarak kullanılamaması, üzerlerin de deney yapılamaması sebebi ile mikotoksinlerin insan sağlığı ile ilgili ortaya çıkardığı sorunlar, sonuçları ve gerekçelerini izah etmek zordur. Mikotoksinlerin akut ve kronik etkilerine hassasiyeti olan bazı hayvan türleri mevcuttur. Doğrudan olmayan bu bilgilere göre insanları da duyarlı olabileceği düşünülmektedir. Hastalığı belirlenen, izolasyon inceleme sonuçları, epidemiyolojik tespitler doğrultusunda mikotoksinlerin insanlar üzerinde hastalık gibi sonuçlar doğurduğu tahmin edilmektedir (Wilson et al.,1984).

Bu küflerin insan ve hayvan sağlığı ile ilgili toksik etkileri mikotoksikozis hastalığı olarak adlandırılır. Mikotoksikozis hastalığı sekonder ve primer mikotoksikozis olarak iki evrede tanımlanır (Peraica et al., 1999).

İnsanlar ve hayvanlar toksik etkilere maruz kaldığı takdirde, ortaya çıkabilecek sonuçlar mikotoksin oranına göre farklılık göstermektedir. Fazla oranda akut toksisiteye veya ölüme sebep olurken, az oranda bağışıklık sisteminde bozukluklara sebebiyet vermektedir. Çok az oranda uzun zaman maruz kalındığında tümör oluşumu, kronik hastalıklar ve kansere sebep oldukları görülmektedir. (Meerdink, 2002; Siegel ve Babauscio, 2011).

2. SİRKE

2.1 Sirkenin Tarihi

Tarihsel süreçte farklı alanlar da kullanım imkanı bulan sirke ve çeşitleri günümüzde de aynı şekilde sadece yemek ve salatalar da tüketilmekle kalmayıp; turşu yapımı, hardal, salça, salamura ve mayonez gibi yoğun tüketilen farklı gıda maddelerinin tüketime hazır hale gelmesinde ve konserve şekline getirilmesinde farklı oranlar da antiseptik olarak işlenmektedir. (Türker, 1963; Plessi, 2003; Tan, 2005). Bilinen ilk sirke üretimi mayalar aracılığı ile *Saccharomyces cerevisiae* bakterisi tarafından fermente edilerek ortaya çıkmıştır. Mevcut olan şekerin etanole parçalanması ve asetik asit bakterisinin etanol oksidasyonu neticesinde fermantasyonu ve oluşum süreci ile üretimi tamamlanır. Bilindiği gibi oksidasyon işlemi olan asetik asit fermantasyonu oksijen varlığın da gerçekleşmektedir. Mevcut fermantasyon sürecin de faaliyet gösteren asetik asit bakterileri sirkeyi suya ve etanole dönüştürür (Trcek ve ark., 1997; Trcek ve Raspor, 1999; Trcek ve Teuber, 2002; De Ory ve ark., 2002; Mejias ve ark., 2002; Bamforth, 2005; Garcia-Garcia ve ark., 2006).

2.2 Sirkenin Tanımı

Sirkeler, farklı ham maddelerin değişik yöntem ve teknikler ile fermente edilmesi sonucu ortaya çıkarılan ürünlerdir. Sirkelerden bahsedildiğinde asetik asitlerin fermentesi sonucu mevcut olan alkollerin asetik asite parçalandığı bir fermantasyon ürün grubu olduğu ortaya çıkmaktadır (Aktan ve Kalkan,1998; Plessi, 2003). Farklı ülkelerde ve güncel olan mevzuatlarına göre sirke ürünleri ile ilgili farklı tanım ve yorumlar ortaya atılmıştır. ‘TSE 1880 EN 13188 sirke

standardı' nda ise mevcut olan sirke tanımı; "Tarım kökenli sıvılar veya diğer maddelerden, iki aşamalı alkol ve asetik asit fermantasyonuyla, biyolojik yolla üretilen kendine özgü ürün" olarak kayda geçmiştir.

Bahsedilen standartta ki sirke türleri, oluşum sürecin de tercih edilen ham maddelerine göre; tahıl, alkol, elma şarabı, şarap, meyve, malt, aromalı, meyve şarabı sirkeleri ve diğer sirke çeşitleri olarak belirtilmiştir. Bu örneklerden şarap(üzüm) sirkesi "biyolojik yol tercih edilerek fermantasyon sonucunda asetik asit oluşumu ile yalnızca şaraptan (taze üzüm ile üretilen şarap) imal edilen sirke"olarak ifade edilmiştir (Anonim, 2003). Gıda ve Tarım Örgütü FAO (Food and Agriculture Organization) ve Dünya Sağlık Örgütü WHO (World Healty Organization) standartlarına göre şöyle ifade edilmiştir; 'sirke, iki fermantasyon prosesi yani etil alkol ve asetik asit fermantasyonu ile, nişasta ve/veya şeker içeren tarımsal kökenli hammaddelerden üretilen, insan tüketimi için uygun olan bir sıvıdır (Anonim, 2000).

2.3 Sirkenin İçeriği ve Bileşenleri

Sirkelerin oransal olarak düşünürsek %80 gibi bir oranını su meydana getirmektedir. Geriye kalan %20 oranını ise alkoller, amino asitler, polifenoller, organik asitler vb.'den meydana gelmektedir (Casale ve ark., 2006). Sirkeler ile ilgili farklı bir çalışma da ise sirkelerin kimyasal yapısında mevcut olan aromatik maddelerin önem arz eden bir kalite kriterinin mevcut olduğu ve tercih edilen ham maddeler ve bekletme sürelerine göre farklılık gösterdikleri tespit edilmiştir (Tesyafe ve ark., 2002).

Yapay sirkeler ile doğal sirkeleri birbirinden ayırt edebilmek için uygulanan test yöntemlerinden başlıca alkol tayini, kuru madde tayini, kül tayini, şekersiz kuru madde tayini, toplam asitlik ve asetil metil karbinol testi tercih edilmektedir (Aktan ve Kalkan, 1998). Ülkemiz de ki sirke üretim süreçlerin de meydana getirilen sirkeler de mevcut asit içeriği TS 1880 EN 13188 sirke standardına

göre '(suda serbest asetik asit türünden) litrede 40g'dan az olmamalıdır' (Anonim, 2004). Aynı şekilde TS 1880 EN 13188 sirke standardın da bahsedilen kalıntı alkol oranı ise şarap sirkelerin de hacim itibarı ile %1,5'tan, diğer sirke çeşitlerinde ise hacim itibarı ile %0,5'den yüksek olmamalıdır (Anonim, 2003).

Sirkelerin kimyasal yapıları, tercih edilen ham madde ve kullanılan üretim teknikleri mevcut sirkelerin kalitesini de etki altında bırakmaktadır. Ham madde yapıları toprak şartları, yetiştirme yöntemleri, iklim ve çeşitlilik gibi gerekçelere tabi olup sirke yapısına doğrudan etki etmektedir. Sirke üretim süreçlerine etki eden faktörler ise başlıca tercih edilen mikroorganizmalar, oksijen bulunurluğu, alkol ve sıcaklıktır. Sirkenin yapısında mevcut olan mikroorganizmalar alkol oranı %13'ü aşan ortamda faaliyette bulunmamakta ve ayrıca alkol mevcut olmayan ortamda da asetik asiti fermante ederek bir üst oksidasyona sebep olmaktadır (Türker, 1974; Achaerandio ve ark., 2002; Morales ve ark., 2004).

2.4 Sirke Oluşum Yöntemleri

Sirkelerin üretim yöntemleri başlıca 3 grupta toplanmıştır. Bunlar; derin kültür (submers) yöntemi, hızlı yöntem ve yavaş yöntemdir. Sirke üretimin de kullanılan bu yöntemlerden daha ekonomik ve hızlı olan derin kültür (submers) yöntemidir. Bunun yanı sıra kalite açısından bakıldığında da tercih edilen yöntem, yavaş üretim yöntemidir. Gerekçe olarak ise üretim sürecinin zamana yayılarak uzun olması iz elementlerinin meydana gelmesine sebebiyet vermekte olduğu gösterilmiştir. Bu şartlar altında derin kültür yöntemi ile hızlı yöntem, ekonomik açıdan değerlendirildiğinde ve üretim süreci zaman olarak göz önüne alındığında, yavaş yöntemle kıyasla daha karlı olması sebebi ile ticari sirke üretimlerinin de tercih edilen yöntemler olmuştur (Morales ve ark., 2001; Tan, 2005). Sirke oluşum mekanizması Şekil 2.4.1 de verilmiştir (Aktan ve Kalkan, 1998; Plessi, 2003).

- Basamak (Alkol fermentasyonu) Anaerobik



(180 g) (92 g) (88 g)

Fermente olabilir şeker etil alkol karbondioksit

- Basamak (Asetik asit fermentasyonu) Aerobik



(46 g) (60 g) (18g)

Etil alkol asetik asit su

Şekil 2.1: Fermente edilen şekerlerin iki basamaklı oksidasyonu. 1. Basamak şekerin etil alkole fermentasyonu (anaerobik koşullar) 2. Basamak etil alkolün asetik aside fermentasyonu (aerobik koşullar)

2.5 Sirke Çeşitleri

Şekerli meyveler veya üzüm çeşitleri aracılığı ile üretilen ya da farklı ham maddelerden öncesinde de alkol ile sonrasında da asetik asit fermentasyonu aracılığı ile üretilen sirke türlerine "fermantasyon sirkesi" denilmektedir. Bahsedilen koşullar ile elde edilen farklı sirke çeşitleri genellikle üretim aşamasında kullanılan ham madde ile adlandırılmaktadır. Örneğin; malt sirkesi, elma sirkesi, pirinç sirkesi, üzüm sirkesi vb. (Gülcü, 2012). Bilenen önemli örneklerden biri olan 'Balsamik Sirke' İtalya'nın Modena bölgesinde üretimi yapılarak bütün dünyaya yayılan, çok bilinen bir sirke çeşididir. Üzüm şarabından üretimi sağlanan balsamik sirke, üretim aşamasından sonra meşe fiçilerinde dinlendirilerek, yıllandırma işlemine maruz kalır ve bu süreçte elde edilen sirkeye ekstra bir lezzet katmaktadır. Olgunlaştırılarak değerini yükselttikleri bu sirke çeşidi olgunlaşma evresinde mikrobiyal etki aracılığı ile kimyasal dönüşüm sayesinde organik asitlerin, alkol ve aldehitlerin karışımından kaynaklı belirgin bir aroma katılır. Bu süreç sonunda koyu

kahverenginde olan, %6-18 asetik asit bulunduran, tatlı ve hoş bir aromaya sahip sirke üretilmiş olur (Elgün, 2011; Gülcü, 2012).

2.6 Sirke ile Yapılan Çalışmalar

Ünal (2007), yaptığı incelemeler de Nevşehir-Ürgüp yöresinde yetiştirilmekte olan Dimrit üzümü ile üretimi sağlanan şarabı farklı teknikler aracılığı ile sirkeye işleyerek üretimini sağladığı bu sirkelerin özelliklerini duyuşal ve kimyasal analiz yöntemleri ile incelemiştir. Derin kültür (submers) yöntemi ve yavaş yöntem aracılığı ile üretilen bu sirkeleri duyuşal özellikleri, genel bileşimleri ve aroma madde içerikleri '(2-metil-1-bütanol, metil asetat, 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-bütanol, asetaldehit, 2 feniletanol)' konusunda istatistiksel olarak incelemiştir ve karşılaştırmıştır. Yapılan değerlendirme üzerine elde edilen ve incelenen sirkelerin duyuşal özellikleri, aroma maddeleri içeriğı ve genel bileşimleri yönünden birbirlerinden farklı oldukları görülmüştür. Yapılan üretim yöntemlerinden yavaş yöntem aracılığı ile üretilen sirkelerin aroma maddeleri içerikleri ve asitliklerinin diğere yöntemlere göre daha yüksek olduğu görülmüş ve duyuşal özelliklerinin daha verimli olduğu ortaya çıkmıştır.

Yurdağül ve ark. (2010), yapacağı çalışmalar ve incelemeler için Batı Karadeniz yöresinde (Düzce, Bolu, Zonguldak vb.) yetişen ve buradan toplanan bir çeşit orman kültürü meyvesi olan böğürtlenlerden faydalanarak sirke elde etmiş ve bu sirkenin karakteristik ve yapısal özelliklerini incelemeler sonucu belirlemiştir. Ürün üzerinde yapılan çalışmalar sonucu söz konusu sirkenin pH tayinini, elektriksel iletkenliğini, şeker tayinini, mikrobiyal kalitesini, inhibitör bileşik taramasını ve Fourier Transform Infrared Spektroskopisini (FTIR) belirlemiştir ve bazı farklı özelliklerini tanımlamıştır. Yapılan analizler neticesinde mevcut sirke de asetik asit bakterileri tespit edilmiştir.

Diğere bir çalışma da Öztürk ve ark. (2015), Türkiye'nin diğere yörelerinden toplanan yirmi adet geleneksel ve farklı ev yapımı sirkenin incelemelerini yapmış

olup bu sirkelerin antimikrobiyal, fizikokimyasal, mineral ve uçucu profillerini, ve mikrobiyal floralarını mercek altına almıştır. Söz konusu sirkelerin karakteristik durumları ve özellikleri 5 farklı endüstriyel üretim olan sirke ile karşılaştırılarak incelenmiştir. Endüstriyel üretim olan bu sirkeler de yüksek oranda antimikrobiyal faaliyet gösterirken, yalnızca 3 adet geleneksel ev yapımı sirkede yüksek oranda antimikrobiyal faaliyet göstermiştir. Elde edilen bu verilere göre geleneksel ev yapımı sirkelerde genellikle yüksek oranda mikrobiyal yük tespit edilememiştir. Bununla beraber endüstriyel üretim sirkelerde düşük oranda mikroorganizma tespit edilmiştir. Bütün çalışma üzerinde ortak sonuç bütün sirke çeşitlerinin fizikokimyasal yapılarının ve özelliklerinin son derece değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Geleneksel ev yapımı sirkelerin toplamın da 61 adet uçucu bileşik tespit edilmiştir.

2.7 Sirkede Kalite Parametreleri

Sirke üretimin de kalite ile bağlantılı temel faktör hammaddedir. Gerekçe olarak mevcut hammaddenin sahip olduğu bileşimin üretimi yapılacak olan sirkenin bileşimi üzerinde doğrudan belirleyici olması gösterilebilir. Söz konusu hammaddenin bileşim özellikleri mevcut olan çeşitliliği, içinde bulunduğu toprak ve iklim koşulları ile yetiştirme yöntemleri gibi değişkenlere bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir (Prescott ve ark., 1959; Morales ve ark., 2004). Sirke üretimin de tercih edilerek kullanılacak hammaddenin belirlenmesi üretim işleminin yapılacağı bölgenin yetiştirilen ürün sayısı, ürün çeşitliliği ve bu ürünlerin fiyatlarına göre belirlenir (Aktan ve Kalkan, 1998).

2.8 Sirkenin Sağlık Üzerine Etkisi

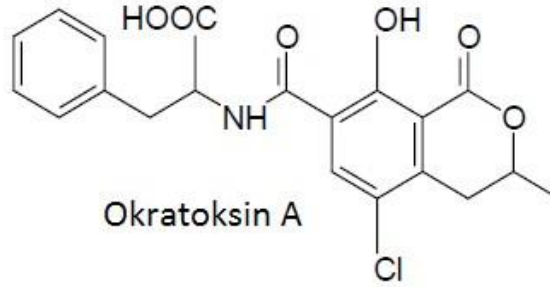
Tarihin eski dönemlerinden günümüz dönemine kadar sirke kullanımının sadece gıda amaçlı olmadığı, aynı zaman da tırnak mantarı, saç biti, siğil, temizlik amaçlı ve kulak enfeksiyonları vb. tedavi süreçlerinde de kullanıldığı

bilinmektedir (Rutala ve ark., 2000; Dohar 2003). Gıdaların bileşimin de mevcut olan gıda kökenli patojenlerin yok edilmesi gerekçe gösterilerek son dönemler de kimyasal merkezli koruyucu olarak eklenen katkı maddeleri yerine doğal yolları kullanmaktadırlar (Rauha ve ark. 2000). Genel olarakta taze, tüketime hazır sebze ve meyveler de mevcut olan patojen organizmalarını inhibe edilmesi için sirkelerden faydalanıldığı farklı çalışmalar mevcuttur (Rhee ve ark., 2003; Sengun ve Karapinar, 2004; Chang ve Fang, 2007). Ayrıca direk olarak sirke tüketimi insan bünyesinde tokluk hissi yaratmakta ve bireylerin gıda ihtiyaçlarını azaltarak bir öğünün mevcut glisemik şiddetini düşürmektedir (Lim ve ark. 2009).

3. OKRATOKSİN

3.1 Okratoksin Yapısı ve Özellikleri

Okratoksin molekül yapısının ağırlığı 403,82 g/mol'dür. Okratoksin A' nın yanında Okratoksin B (OTB), Okratoksin C (OTC) ve bunların metil esterler yapılarında mikotoksinlerdir (Khoury ve Atoui, 2010).



Şekil 3.1: Okratoksin A'nın moleküler yapısı (Varga ve ark., 2006).

OTA farklı *Penicillium* ve *Aspergillus* cinsleri aracılığı ile üretimi gerçekleştirilen bir toksin çeşididir. Bunun yanı sıra *A. Ochraceus*, *A. niger aggregate*, *P. Verrucosum* ve *A. Alliaceus* gibi farklı bir miktar mikroorganizmanın kayıt altına alınan raporlar da okratoksijenik oldukları tespit edilmiştir (Lund et al.2003).

A. ochraceus'un 28°C en iyi üreme sıcaklığıdır. En üst seviyede toksin miktarını 30°C sıcaklıkta ve %95 nisbi nem ortamında üretirler (Tunail,2000).

Su fazına geçebilen Okratoksin A görünüm itibari ile renk içermeyen berrak bir bileşimdir. Ultra viole (100-400 nm), yani mor ötesi ışınlar altında mavi renkte ışımaya yaparlar. Kimyasal bileşimin de Cl, OH, ve fenilalanin bulunduran dihidroizokumarin mevcuttur. Okratoksin A'nın yanı sıra Okratoksin B ve Okratoksin C de Cl olmadığı için gıdalar da düşük konsantrasyon da bulunurlar. Bu sebeple sağlık açısından sorun teşkil etmemektedirler (Tunail,2000).

3.2 Okratoksin Oluşumuna Etki Eden Faktörler

Gıdalarda ve yemlerde OTA oluşumuna tesir eden birçok etken mevcuttur. Bunların en bilinenleri; mevcut ortamda rekabetçi mikrofloranın bulunulurluğu, substratın türü, ortamın pH'ı fungusun türü, sıcaklık ve su aktivitesi (a_w) olarak sayılabilir (Gümüş, 2002; Bucheli ve ark., 2002; Bayman ve ark., 2002; Larsen ve ark., 2001). Su aktivitesi (a_w); mikroorganizmaların faaliyet göstermesine ortam hazırlayan ve gıdanın bileşiminde bağlılık göstermeyen suyu ifade eder. Gıdanın bileşimin de mevcut olan suyun faaliyet göstermeye çalışan mikroorganizmaların kullanımına kapalı olması gerekmektedir.

Subrasttaki su buharı basıncı ile saf suyun buhar basıncına oranlanması sonucu elde edilen parametre bize a_w değerini verir. Okratoksinin su aktivitesin de ideal sıcaklık aralığı 4-31°C'de değişmektedir. Bu sebeple soğuk iklime sahip olan İskandinavya ve Kanada gibi ülkelerde OTA oluşumuna *Penicillium*; Avusturalya ve Yugoslavya gibi sıcak iklim süreci geçiren ülkelerde OTA oluşumuna *Aspergillus ochraceus* türlerinin sebep olduğu tahmin edilmektedir (Soyöz ve Özçelik 2002). OTA'nın oluşup faaliyet gösterebilmesi için bir diğer önemli etken pH değeridir. PH değeri 3,9-9,1 olan mantarların gelişebildikleri ve okratoksin ürettikleri gözlemlenmiştir. Aynı zaman da oksijensiz ortamda ki küfler aerobik mikroorganizmalar olmaları sebebi ile gelişim gösteremezler.

3.3 Okratoksin Bulunabilen Gıdalar

Çizelge 3.1: Okratoksin A mikotoksinlerinin küf türleri ve ilişkili gıdalar (Kabak, B., & Var, I. 2006).

Mikotoksin	Üretici Küf Türleri	Bulunabileceği Gıdalar
Okratoksin A	<i>Aspergillus ochraceus</i>, <i>Aspergillus versicolor</i>, <i>Penicillium viridicatum</i> <i>Penicillium cyclopium</i>	<i>Tahıl taneleri (buğday, mısır, arpa), yer fıstığı, kahve çekirdeği, fındık</i>

OTA'nın gıdalar da bulunurluğuna örnek vermek gerekirse öncelikle arpa ve çeşitli tahıllar (Juan ve ark, 2008), (Juan et al.,2007) , kuru incir (Şenyuva et al., 2005) , pekmez (Arıcı et al.,2004) , kırmızı biber (Almela et al., 2007; Topal , 2004) , yarfıstığı (Magnoli et al., 2007) , bira, şarap (Battilani et al.,2006; Mateo et al.,2007,) , kahve (Suarez-Quiroz et al.,2004) , kuru incir

(Şenyuva et al., 2005) , üzüm, üzüm suyu (Battilani et al., 2006, Vargaa ve Kozakiewicz, 2006,) baklagiller , kakao gibi tüketim alanı geniş olan işlem görmüş gıdaların haricinde ülkemizin önemli ihracat ürünlerinden olan kuru üzümde (Aksoy et al.,2007, Meyvacı et al.,2005) gösterilebilir.

Çizelge 3.2: Çeşitli gıdalarda OTA kontaminasyonundan sorumlu mantar türleri (Varga ve ark., 2006).

Gıda	Sorumlu Türler	Kaynak
Tahıllar	<i>P. verrucosum</i>	Lund ve Frisvad (2003)
Et, peynir	<i>P. nordicum</i>	Larsen ve ark. (2001)
Üzüm, şarap	<i>A. niger, A. carbonarius</i>	Battilani (2002)
Kahve, baharat	<i>A. ochraceus, A. niger, A. carbonarius</i>	Bucheli (2002)
İncir	<i>A. alliaceus</i>	Bayman ve ark. (2002)

3.4 Okratoksinin İnsan ve Hayvan Sağlığı Üzerine Etkisi

Okratoksin bulaşması gıdalarda bazı faktörlere bağlı olmakla birlikte bunlar depo şartları, nem ve sıcaklık gibi direkt etkileyen şartlardır. (Anlı ve Alkış, 2010).

OTA toksini genellikle su oranı yüksek gıda ürünlerinin kurutma işleminin doğru yapılamaması sonucu ortaya çıkan ve küf gelişimi açısından elverişli bir ortam haline gelen depolama aşamasında oluşur. Okratoksin A teratojenik, nefrotoksik olmasının yanı sıra kanserojeniktir. Çocuklar üzerinde zihinsel ve fiziksel anormal durumlara sebep olmakta aynı zaman da insan vücudun da bağışıklık sistemi ve sinir sistemi üzerinde hasara yol açmaktadır. Bu veriler Gıda Katkıları Uzmanlar Komisyonu (JECFA), Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından da raporlanmıştır.

Mikotoksinlerden OTA hayvanlarda ve insanlarda sağlık için önemli bir tehdit unsurudur. (Quintela ve diğ., 2013).

Okratoksinin sağlık üzerine olumsuz etkilerinin araştırılması için denek olarak çeşitli hayvanlar kullanılmıştır. Çalışma için kullanılan bu hayvanlar oral yolla okratoksin alınmasına değişik oranlarda hassasiyet göstermiştir. Vücuda yüksek

oranda okratoksin alınmasıyla çeşitli organlar etkilenmiş dokularda değişim olmuş fakat yalnızca böbreklerde tahribata sebep olduğu görülmüştür. (Soyöz ve Özçelik, 2002).

3.5 Okratoksin ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Okratoksin ilk olarak şaraplarda saptanmasından sonra farklı çeşit gıdalardada bulunmuştur. Birçok gıdaya ait ülkemizde limit değerler belirlenmiş ve bu değerler Türk Gıda Kodeksi'nde (TGK) belirtilmiştir Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ (29 Aralık 2011 Sayı: 28157) 'de yer alan EK-1 Bölüm 2 Mikotoksinler kısmında yer almaktadır. (Çizelge 3.5.1)

Çizelge 3.3: Çeşitli gıdaların yer aldığı Avrupa Birliği Komisyon Direktifleri OTA limitleri (EC, 2006)

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

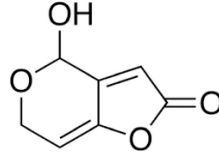
Çizelge 3.3: (Devamı) Çeşitli gıdaların yer aldığı Avrupa Birliği Komisyon Direktifleri OTA limitleri (EC, 2006)

Baharatın aşağıdaki türleri için;	30,0
Kırmızıbiber (<i>Capsicum spp.</i>) (bunların kurutulmuş meyveleri, tüm ve öğütülmüş halleri dahil)	(30.6.2012 tarihine kadar)
Karabiber (<i>Piper spp.</i>) (bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil)	15,0
Hintceviz/Muskat (<i>Myristica fragrans</i>)	(1.7.2012 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
Meyan kökü (bitkisel infüzyon bileşeni olarak kullanılanlar)	
Meyan kökü ekstraktı (özellikle alkolsüz içecek ve şekerleme üretiminde kullanılan)	80,0

4. PATULİN

4.1 Patulinin Yapısı ve Özellikleri

Patulin halkalı yapıya sahip doymamış beta lakton yapıda olup kimyasal kapalı formülü $C_7H_6O_4$ ve toplam molekül ağırlığı 154,12 g/mol olan molekül yapıdır (Artık, 2007). Patulin toksininin kimyasal yapısını 1949 yılında Singh ve Woodward belirlemiş olup yine aynı yıl içerisinde formül yapısını Weisenborn ve Daiben doğrulamıştır (Desphande, 2002). Patulinin molekül yapısı Şekil 4.1.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1: Patulin' in Kimyasal Yapısı (Desphande, 2002)

Gıdalarda patulinin gelişmesi için optimum sıcaklık değerleri 0-25 °C'de, en düşük su aktivitesi ise 0,95 elma sularında ise pH 3.2-3.8 aralığında olmaktadır (Lawley ve ark. 2008, Morales ve ark. 2010). Patulin 276 nm'de DAD dedektörde, UV absorbans özelliğindedir (Baert ve ark. 2007). Etanol, aseton, kloroform ve suda oran olarak çok iyi çözünmekte fakat petrol eterinde hiçbir oranda çözünmemektedir (Karaca, 2005).

Penicillium expansum'dan izole edilen tüm mikroorganizmalar çok iyi bir patulin üreticisidir (Morales ve ark. 2010). Patulin toksini, oluşumundaki en etkili küflerden olan *P. expansum*'un meyveyi çürütmesi ve de toprağa düşen elmalarda ortaya çıkmıştır. (Paterson ve ark. 2000). Patulin ısıtılmalardan olan fermentasyona karşı dirençli olmamakla birlikte mayalar sayesinde neredeyse tamamı parçalanmaktadır (Arıcı, 2005). Elmada patulin oluşumunda, elmanın çeşitli, farklı olması dahi *P. expansum*'un toksin oluşturmadaki oranını etkilemektedir (Moake ve ark. 2005).

Meyve sularında başlıca önem arz eden mikotoksin patulindir. Meyve ve sularında patulinin üremesine sebep olan küfler; *B. Nivea*, *Byssochlamys fulva* ve *Penicillium expansum*'dur (Delage et al., 2003). Bunlardan en çok küf üretimine sebep olan *P. expansum*'dur (Jackson and Al-Taher, 2008). Patulin toksini daha çok kırmızı meyvelerden olan elma, kiraz, nektari, şeftali, domates gibi meyvelerde küf oluşumuyla birlikte ortaya çıkar ve bulaşma sonucu küflenmiş elmalardan elma suyu, şıra ve marmelat yapılmasıyla da son üründe görülebilir (Jackson and Al-Taher, 2008). Meyveler de eğer patulin bulaşması olmuş ise üretimden çıkmış son üründede patulin toksini olur. Patulinin meyvelerde oluşunun etkileyen bazı yapıya özel durumlar vardır, bunlar pH ve su aktivitesidir. Değişik ve çeşitli elmalarda bulunan asidiklik ve pH, patulin oluşumuna etki etmektedir (Morales et al., 2006).

Patulin toksini pastörizasyon işlemleri yapılarak giderilememekle birlikte üründeki toksik etkiyi de azaltmaz. Bu sebeple meyve suları gibi ürünlere patörizasyon işlem uygulamak yararlı değildir. Elma suyundan şarap yapımı esnasında patulin ascladiol'e parçalanmaktadır. Elma suyunun, şirasının kalitesini belli eden bir parametrede bu ürünlerde ascladiol' un olmasıdır (Moss, 2008). Patulin'in 1/5 'inin elma suyunun içerisinde mevcut olan katı formdaki bileşen maddelerle bağ kurduğu belirlenmiştir. Elma suyu gibi ürünlerde katı form yapısında protein bakımından fazla olduğundan patulin bu bölgelerle bağ kurmaktadır. Bu sebeple patulinin içindeki 1/5'lik kısmın HPLC-DAD analizi ile belirlenemediği ve berrak olmayan elma sularında patulin miktarının net olarak belirlenemeyeceği bildirilmektedir (Baert et al., 2007).

Berrak olan meyve sularında yapılan analizlerin yanı sıra berrak olmayan, katı parçacıklı elma sularında yapılan analizlerde protein içeren katı parçaların daha çok olması ve reaksiyona girmesi sonucunda süre geçtikçe patulin miktarının azaldığı belirlenmiştir (Silva ve ark. 2007). Bazı çalışmalarda üretim sonucu son üründeki patulinin depo aşamasında toksik etkisi incelenmiştir. Çalışmalardan bazıları elma suyu göz önüne alındığında soğukta saklanması patulin miktarında düşüşe sebep olduğunu, bazıları ise patulin miktarında değişim olmadığını kaydetmiştir (Baert ve ark. 2007, Iha ve Sabino 2008, Moake ve ark. 2005, Murillo-Arbizu ve ark. 2010).

4.2 Patulinin İnsan ve Hayvan Sağlığı Üzerine Etkisi

Patulinin kanserojenik etkisinin olup olmadığı beta lakton yapıda olmasından dolayı araştırmalar yapılmıştır. Çeşitli hayvan deneylerinde mutajenik, tetrajen ve karsinojenik etkilerinin olduğu ve bunun yanında geniş bir alanda etkisinin olması belirlenmiştir (Janotová ve ark. 2011).

Toksin bulaşmış ürünlerin yenmesi sonucu patulinle muamele gören insanlarda nefrotoksik, genotoksik mutajenik, teratojenik ve hepatoksik, sonuçları olan toksin hastalığına maruz kalabilmektedirler. Kişilerde toksine maruz kalma sonucunda böbrek hastalıkları, mide rahatsızlıkları gözlenebilmektedir. Aşırı miktarda alınan patulin immün sistemde bozukluklara yol açabilmektedir (Barkai-Golan, 2008).

Patulin insanlar dışındaki diğer canlılar için genotoksik, tetraoksik, akut ve bağışıklık sistemini etkileyen bir toksin maddesidir. Patulinin insanların vücuduna alımı sonrasında zararlı ve toksik etkilerinin olup olmadığı hakkında daha çalışma yapılmamıştır. Fakat bunun yanı sıra uzun süreli elma ürünleri kullanımında patulin etkisi daha saptamadığı için patulinin toksik miktarına sınırlama konulmuştur. Birden fazla ülkede elma ve elmadan üretilen ürünlerde patulin miktarı 50 µg/ L ve daha az seviyelerde kabul edilmiştir (Jackson and Al-Taher, 2008).

4.3 Patulin İle İlgili Yasal Düzenlemeler

2003 yılında Avrupa Birliği tarafından yürürlüğe geçirilen yasal mevzuatlara göre , uygun görülen ve üretim sürecinde müsaade edilen en yüksek patulin oranları konsantre meyve suları , meyve nektar ve suları için 50 µg/kg , katı halde bulunan elma püresi ve kompostosu gibi elma ürünlerinde 25 µg/kg , tüketimi sıvı şekil de olan ve aynı şekil de elmadan üretilen şıralar , fermente içecekler , elma suları ve elmadan üretilen enerji içeceği gibi ürünlerde 50 µg/kg, oranlarında sınırlandırmalar uygulamıştır (Valle-Algarra ve ark. 2009, Wu ve ark. 2009).

Çizelge 4.1: Çeşitli gıdaların yer aldığı Avrupa Birliği Komisyon Direktifleri Patulin limitleri (EC, 2006)

	Gıda Maddesi	İzin Verilen Maksimum Patulin Miktarı (µg/kg)
Avrupa Birliği	Meyve suları, konsantre meyve suları, meyve nektarları, enerji içecekleri, elma şırası ve diğer fermente elma suları	50
	Elma püresi ve kompostosu gibi katı elma ürünleri	25
	Çocuklara yönelik üretilen elma püresi ve elma kompostosu gibi belirli bazı ürünler	10
Türk Gıda Kodeksi	Meyve suları, meyve suyu konsantresi ve meyve nektarları	50
	Distile alkollü içkiler, elma şarabı ile elmadan üretilen veya elma suyu içeren diğer fermente içkiler	50
	Katı haldeki elma ürünleri (elma kompostosu ve doğrudan tüketime sunulan elma püresi dahil)	25
	Bebek ve küçük çocuklar için üretilen ve bu amaçla satışa sunulan elma suyu ve katı haldeki elma ürünleri (elma kompostosu ve elma püresi dahil)	10

Bununla beraber aynı şekilde Avrupa Birliği tarafından yönetmelikler aracılığı ile desteklenen, bebek ve küçük çocukların patulin toksisitesinden etkilenmemesi, korunmaları amacı ile elma püresi, elma kompostosu, elma suları ve bebek tüketim ürünlerini barındıran katı elmadan üretilen ürünlerde patulin miktarı olarak 10 µg/kg oranında farklı bir sınır getirmiştir (Barreira ve ark. 2010). Farklı bir örnek olarak JECFA da elma suların da mevcut olabilecek maximum patulin oranını 50 µg/kg olarak belirlemiştir (He ve ark. 2009). Patulin sınırlamaları ile ilgili ülkemiz de yapılan yasal düzenlemeler incelendiğin de oransal olarak Avrupa Birliği seviyelerinin kabul edildiği Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ (29 Aralık 2011 Sayı: 28157) 'de yer alan EK-1 Bölüm 2 Mikotoksinler kısmında görülebilmektedir.

5. MATERYAL VE METOT

Çeşitli ev yapımı sirke örneklerinde yapılan Okratoksin ve Patulin analizleri İntertek Test Hizmetleri A.Ş. Gıda Laboratuvarı Mikotoksin biriminde gerçekleştirilmiştir.

5.1 Materyal

Okratoksin ve Patulin analizlerini gerçekleştirmek için farklı kişilerden alınan 33 tane ev yapımı çeşitli sirke örnekleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan sirke örnekleri ile ilgili bilgiler Çizelge 5.1’de verilmiştir.

Çizelge 5.1: Sirkelerin hammadde, üretildikleri yıl ve bölgelere ait bilgiler

Örnek No	Hammadde	Üretim yılı	Orijini	Temin edildiği yer
1	Elma,Mandalina	Eylül 2018	İzmir	Halk pazarı
2	Elma	Eylül 2018	İzmir	Halk pazarı
3	Üzüm	Eylül 2018	İzmir	Kendi bahçesi
4	Üzüm,mandalina,portakal,elma,limon	Ekim 2018	İzmir	Market
5	Elma	Ekim 2018	İzmir	Market
6	İncir, elma	Kasım 2018	İzmir	Kendi bahçesi
7	Alıç	Şubat 2018	Erzurum	Halk pazarı
8	Üzüm	Şubat 2018	Tokat	Halk pazarı
9	Elma		Adana	Halk pazarı
10	Elma	Ağustos 2018	Hatay	Kendi bahçesi
11	Elma	Ocak 2017	Gaziantep	Kendi bahçesi
12	Elma	Kasım 2018	Eskişehir	Halk pazarı
13	Üzüm	Kasım 2018	Eskişehir	Halk pazarı
14	Elma	Aralık 2018	İstanbul	Halk pazarı
15	Elma	Eylül 2018	Kırklareli	Kendi bahçesi
16	Alıç	Ağustos 2018	Ege bölgesi	Halk pazarı
17	Hurma	Temmuz 2018	—	Halk pazarı

Çizelge 5.1: (Devam)Sirkelerin hammadde, üretildikleri yıl ve bölgelere ait bilgiler

Örnek No	Hammadde	Üretim yılı	Orijini	Temin edildiği yer
18	Elma	—	Ege bölgesi	Halk pazarı
19	Elma ve Dağ çileği	—	Ege bölgesi	Halk pazarı
20	Elma	—	Denizli	—
21	Kırmızı parmak üzüm	Aralık 2017	Antalya /Kaş	Kendi bahçesi
22	Beyaz ve kırmızı üzüm karışımı	Eylül 2018	Mersin	Kendi bahçesi
23	Elma	Temmuz 2018	Hatay	Kendi bahçesi
24	Elma (küçük sarı elma)	Kasım 2018	Hatay	Kendi bahçesi
25	Elma ve Kiraz	Temmuz 2018	Hatay	Kendi bahçesi
26	Üzüm (Tarsus beyazı)	Ağustos 2018	Mersin	Halk pazarı
27	Siyah üzüm	Eylül 2018	Mersin	Kendi bahçesi
28	Elma kabuğu ve alıç	Kasım 2018	Hatay	Halk pazarı
29	Elma	Ağustos 2018	—	Kendi bahçesi (dökülen elma)
30	Siyah üzüm	Ekim 2018	Ankara	Kendi bahçesi
31	Elma	Eylül 2018	Ankara	Kendi bahçesi
32	Elma	Kasım 2018	Ankara	Halk pazarı
33	Nar	—	Ankara	Halk pazarı

5.2 Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler

Okratoksin standardı (TSL-503 1,0 µg/ml Ochratoxin in Methanol Trilogy Analytical Laboratory)

Asetonitril (Merck, CAS number: 75-05-8 HPLC Plus \geq 99.9 %)

Metanol (Merck, CAS number: 67-56-1 for HPLC \geq 99.9 %)

Sodyum Bikarbonat (Merck, CAS number 144-55-8)

Phosphate Buffered Saline (PBS) (Merck, Product number: P4417)

Asetik Asit (Merck, CASnumber: 64-19-7 for HPLC)

Metanol-Asetik Asit (98:2 v/v)

Metanol: Su: Asetik Asit (68,5: 29: 2,5)

UP Su (Ultra saf su)

Patulin standardı (Sigma-Aldrich 100 µg/ml in acetonitrile, CAS number: 149-29-1)

Di etil eter (Merck, CASnumber: 60-29-7)

Etil Asetat (Sigma-Aldrich, CASnumber: 141-78-6)

%65 Perklorik asit (Sigma-Aldrich, CAS number: 7601-90-3)

Pektinaz Enzimi (R-Biopharm P54)

%0,1 'lik Asetik Asit çözeltisi

%2 'lik Asetik Asit çözeltisi

%40 'lık Asetonitril çözeltisi

%1'lik Sodyum Bikarbonat çözeltisi

Sodyum Hidroksit (Merck, CAS number: 1310-73-2)

5.3 Kullanılan Sarf Malzemeler

Okratoksin için Immunoaffinity Ochraprep Kolonu (R-Biopharm)

Patulin için Immunoaffinity kolon (R-Biopharm P250-P250B)

Filtre kağıdı (Whatman No.4)

0,45 µm'luk PTFE Filtre (Sartorius)

Enjektör (10ml) (Set inject)

Falkon Tüpler (15 ml: 50ml) (Iso Lab)

Pipet Uçları (0,5-10 µL; 2-20µL; 20-200 µL;100-1000 µL) (Eppendorf)

Balon joje (10 ml) (Iso Lab)

1,5 ml 9 mm Short Thread Vial ND9 (AIJIREN)

Mobil Faz Schott şişeleri (250 mL; 500 mL; 1 L) (Iso Lab)

5.4 Kullanılan Cihaz ve Aletler

Ayarlı otomatik pipetler (0,1-2,5 µL; 0,5-10 µL; 2-20 µL; 20-200 µL; 100-1000 µL) (Eppendorf)

40°C ye ayarlı Etüv (Nüve)

Santrifüj aleti (Thermo Scientific)

Laboratuvar blenderı 8011 EB (Waring commercial)

Laboratuvar Hassas Terazisi Precisa, XB 220 A

Blok Isıtıcı (STUART SBH200D)

Ph metre (SCHOTT TitroLine Easy M1 Titrator)

Azot tüpü Habaş

Vorteks (Heidolph)

HPLC Floresans Dedektöre sahip (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) (Shimadzu Seri No: L20225219693, Model LC-20A) (Okratoksin analizi için kullanılan cihaz)

HPLC DAD Dedektöre sahip (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) (Shimadzu Seri No: L20225220083, Model LC-20A) (Patulin analizi için kullanılan cihaz)

C-18 ODS-2 kolon (25cm x 4,6 mm x 5µm) (Okratoksin analizi için)

ODS-3 C18 HPLC Kolonu (250mm x 4,6mm x 5µm) (Patulin analizi için)

5.5 Okratoksin Analizinde Kullanılan Çözeltiler

5.5.1 OTA standart çözeltileri

OTA Ana stok çözeltisi: Hazır olarak alınan 1000 µg/L konsantrasyondaki ana solusyondur. Satın alınan OTA standart çözeltisi buzdolabında -20°C’de saklanmıştır.

OTA Ara stok çözeltisi: Ana stok 1/20 oranında seyreltilir ve son konsantrasyonu 50 µg/L olur. (500 µL ana stoktan alınarak 10 ml’lik balon jodede HPLC saflıkta Metanol ile çizgisine tamamlanır. Dilüsyon çözeltisi: Metanol: Su: Asetik Asit (68,5: 29: 2,5)

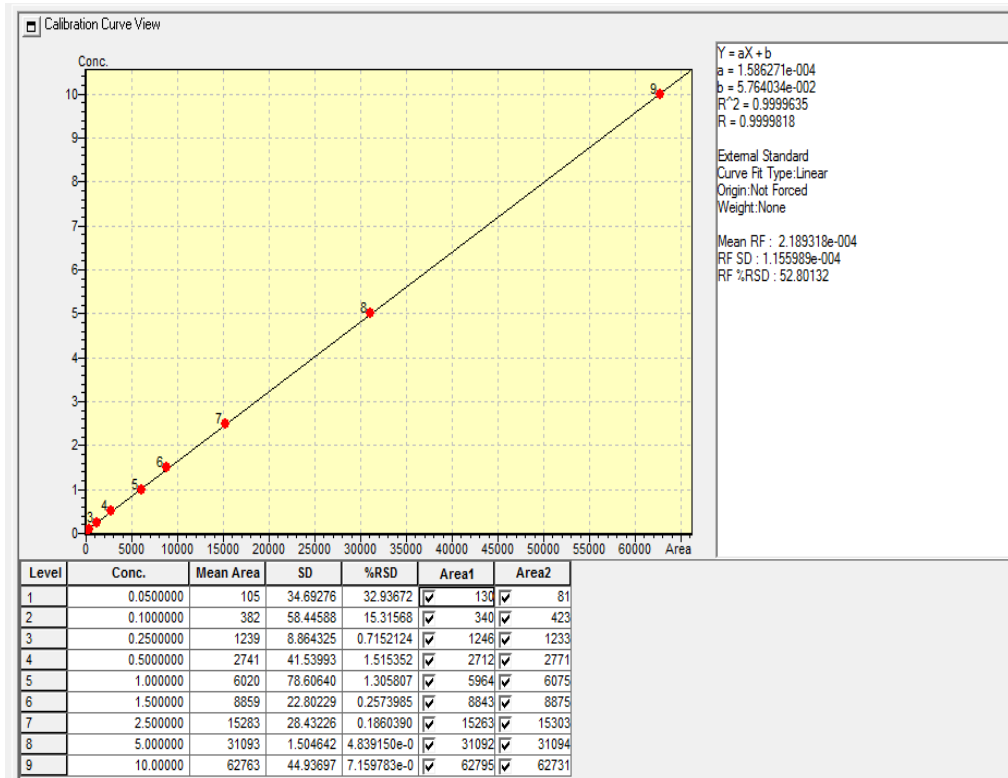
5.5.2 OTA kalibrasyon çözeltileri

Kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanışı: Okratoksin için kalibrasyon çözeltileri hazırlanırken sırasıyla ara stoktan alınarak 10 ml 'lik balon joje içinde son hacime (10 ml) dilüsyon çözeltisiyle tamamlanır.

Çizelge 5.2: Okratoksin A kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması

Son Konsantrasyon ($\mu\text{g/L}$)	Ara Stoktan Alınan (μL)	Tamamlanan Hacim (ml)
0,05	10 mL	10
0,10	20 mL	10
0,25	50 μL	10
0,50	100 μL	10
1	200 μL	10
1,5	300 μL	10
2,5	500 μL	10
5	1 ml	10
10	2 ml	10

Okratoksin A için 0,05; 0,1; 0,25; 0,50; 1; 1,5; 2,5; 5; 10 $\mu\text{g/L}$ konsantrasyonlarında hazırlanan kalibrasyon grafiği Şekil 5.1 'de verilmiş olup kalibrasyonun Regresyon değeri (R^2) 0,9999635 olarak bulunmuştur. Okratoksin için çizilen kalibrasyon grafiğinde sırası ile tüm konsantrasyon noktalarında SD, %RSD ve alan sonuçları belirlenmiştir.



Şekil 5.1: Okratoksin A kalibrasyon grafiği

5.5.3 Okratoksin tayininde HPLC şartları

Mobil Faz: Asetonitril: Su: Asetik Asit (51: 47:2 v/v/v)

Kolon: C-18 ODS-2 kolon (25cm x 4,6 mm x 5µm)

Floresans dedektör: Excitation: 333 nm, Emission: 443 nm

HPLC Kolon: 5µm x 4,6mm 25 mm ODS2 HPLC kolonu

Akış Hızı: 1 mL/ dakika

Enjeksiyon hacmi: 100 µL

Basınç: Minimum 0 bar, Maksimum 300 bar

Kolon sıcaklığı 40 °C

5.5.4 Okratoksin tayini

Sirke numunelerinde okratoksin A analizi R-Biopharm Application Notes metoduna göre yapılmıştır. 10 ml süzölmüş berrak olan sirke numunesi alınır ve 2M NaOH ile pH 7,8 olacak şekilde ayarlanır. Üzerine 10 ml PBS eklenerek santrifuj tüplerine alınır. 10 dakika 1600 rpm de santrifuj edilir. Santrifuj sonrası 10 ml Süpernatant (üst faz) alınarak Ochraprep immunoaffinite kolondan saniyede 1-2 damla olacak şekilde geçirilir. 20 ml PBS ile dakikada 5 ml akış ile immunoaffinite kolona yıkama yapılır. Okratoksin A, 1,5 ml Metanol-Asetik Asit (98:2 v/v) karışımı ile geri alınır. Üzerine 1,5 ml Su eklenir ve vortekslenir. 0.45 µm'lik filtreden geçirilerek 1,5 ml'lik cam vialer alınır, HPLC cihaza 100µl enjekte edilir. OTA analizi için kolonda alıkonma süresi yaklaşık olarak 12 dakikadır. (Seyreltme faktörü=0,3) (R-Biopharm Application Notes)

5.6 Patulin Analizinde Kullanılan Çözeltiler

5.6.1 Patulin standart çözeltileri

Patulin Ana stok çözeltisi: Hazır olarak alınan 100 mg/kg konsantrasyondaki ana solusyondur. Satın alınan Patulin standart çözeltisi buzdolabında -20°C'de saklanmıştır.

Patulin Ara stok çözeltisi: Ana stok 1/100 oranında seyreltilir ve son konsantrasyonu 1 mg/kg olur. (100 µl ana stoktan alınarak 10 ml'lik balon jode HPLC saflıkta %40 Asetonitril ile çizgisine tamamlanır. Çalışma standartları %0,1 Asetik Asit Solusyonu ile hazırlanır.

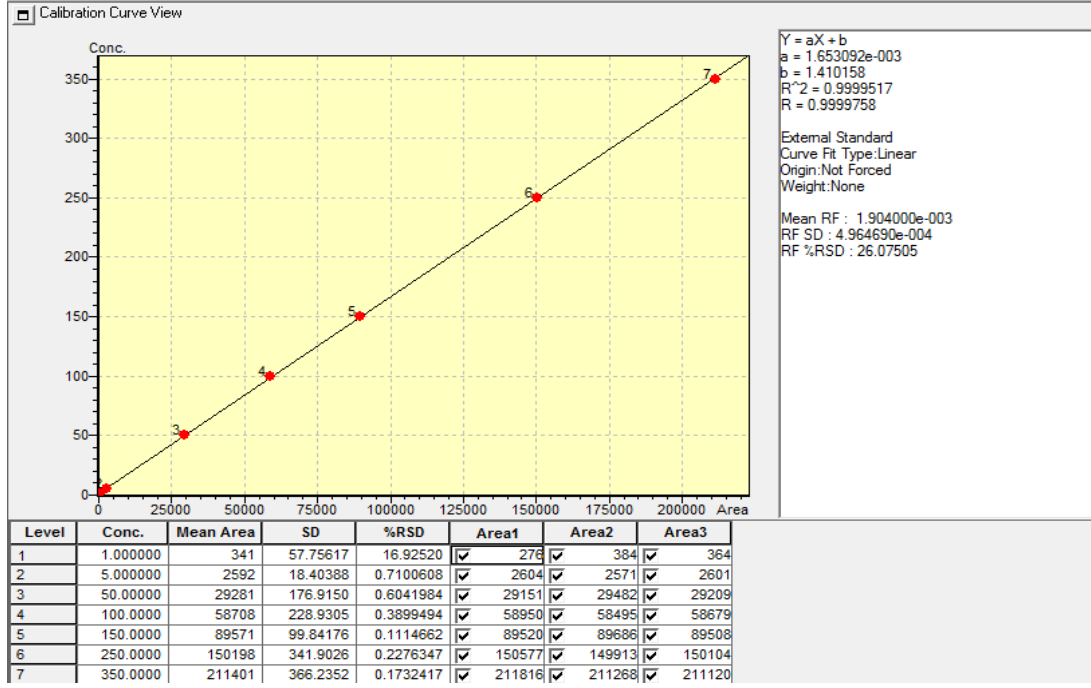
5.6.2 Patulin kalibrasyon çözeltileri

Kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanışı: Patulin için kalibrasyon çözeltileri hazırlanırken sırasıyla ara stoktan alınarak 10 ml 'lik balon joje içinde son hacime (10 ml) %40 Asetonitril çözeltisiyle tamamlanır.

Çizelge 5.3: Patulin kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması

Son Konsantrasyon (µg/L)	Ara Stoktan Alınan (µL)	Tamamlanan Hacim (ml)
1	10 µL	10
5	50 µL	10
50	500 µL	10
100	1 ml	10
150	1,5 ml	10
250	2,5 ml	10
350	3,5 ml	10

Patulin için 1; 5; 50; 100; 150; 250; 350 µg/L konsantrasyonlarında hazırlanan kalibrasyon grafiği Şekil 5.2 'de verilmiş olup kalibrasyonun Regresyon değeri (R^2) 0,9999517 olarak bulunmuştur. Patulin için çizilen kalibrasyon grafiğinde sırası ile tüm konsantrasyon noktalarında SD, %RSD ve alan sonuçları belirlenmiştir.



Şekil 5.2: Patulin kalibrasyon grafiği

5.6.3 Patulin tayininde HPLC şartları

Mobil Faz: Gradient olarak cihaz üzerinden programlanır.

Mobil Faz 1: H₂O: Asetonitril: %65 Perklorik Asit (950:50:1)

Mobil Faz 2: Asetonitril

Kolon: ODS-3 C18 HPLC Kolonu (250mm x 4,6mm x 5µm)

Dalga Boyu: 276 nm

Akış Hızı: 1 mL/ dakika

Basınç: Minimum 0 bar, Maksimum 300 bar

Enjeksiyon hacmi: 100 µL

OKolon sıcaklığı 30 °C

Çizelge 5.4: Patulin gradient cihaz parametreleri

Zaman	% Mobil Faz 1	% Mobil Faz 2
0	100	0
16	100	0
16,01	20	80
19	20	80
19,01	100	0
24	100	0
24,01		

5.6.4 Patulin tayini

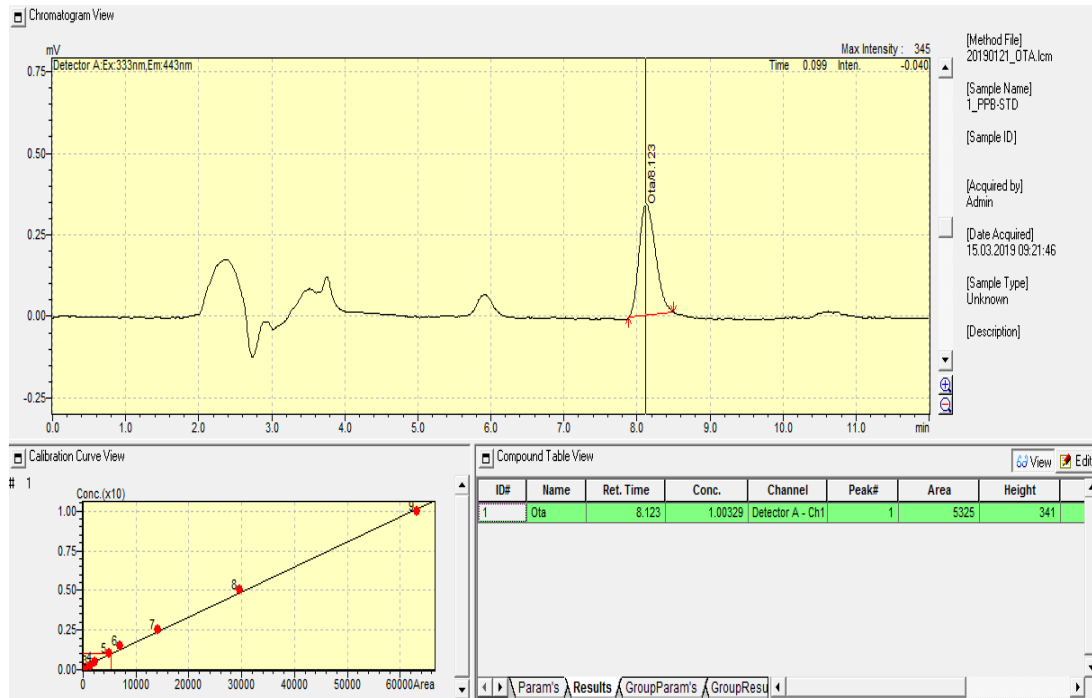
Sirke numunelerinde Patulin analizi R-Biopharm App. Notes P250 metoduna göre yapılmıştır. 2,5 ml süzölmüş berrak olan sirke numunesi santrifuj t0püne alınır. Üzerine 2,5 ml %2'lik Asetik asit çözeltisi eklenir. 20 saniye süreyle vortekslenir. Kolonu şartlamak için 2 ml Asetonitril 1 damla/saniye hızda geçirilir. Bu süre içerisinde kolonun kurumaması gerekmektedir. Kolonun en üst beyaz tabakası üzerinde ince bir asetonitril kalınca hemen 1 ml su eklenir kolondan geçirilir. Yine ince bir su tabakası kalınca 4 ml seyreltilmiş örnek 0,5 ml/dakika akış hızında kolondan geçirilir. Akış hızı geri kazanım açısından çok önemlidir. 1ml %1'lik sodyum bikarbonat solusyonu ile tuzları ve polar matriks bileşenlerini uzaklaştırmak için yıkanır. 2 ml su geçirilerek yıkama devam edilir. Kolondan hava geçirilerek kurutulur. Çeker ocak altında 0,5 ml dietil eter 1 damla/saniye akış hızında geçirilir. Kolondan hava geçirilerek kurutulur. 2ml 100 Etil asetat kolondan geçirilerek tutulan toksin 1,5 ml'lik cam vial e alınır. 10µl %100 Asetik asit eklenir ve 20 saniye boyunca vortekslenir. 35-45 °C'de azot altında kuruluğa kadar uçurulur. Hemen 1 ml %0,1 'lik asetik asit çözeltisi eklenir ve 20 saniye vortekslenerek özölür. HPLC cihazında enjeksiyona verilir. Patulin analizi için kolonda alıkonma süresi yaklaşık olarak 24 dakikadır. Seyreltme Faktörü = 0,5'tir. (R-Biopharm App. Notes P250)

6. BULGULAR VE TARTIŞMA

6.1 Sirke Örneklerinde Okratoksin A Varlığının Tespiti

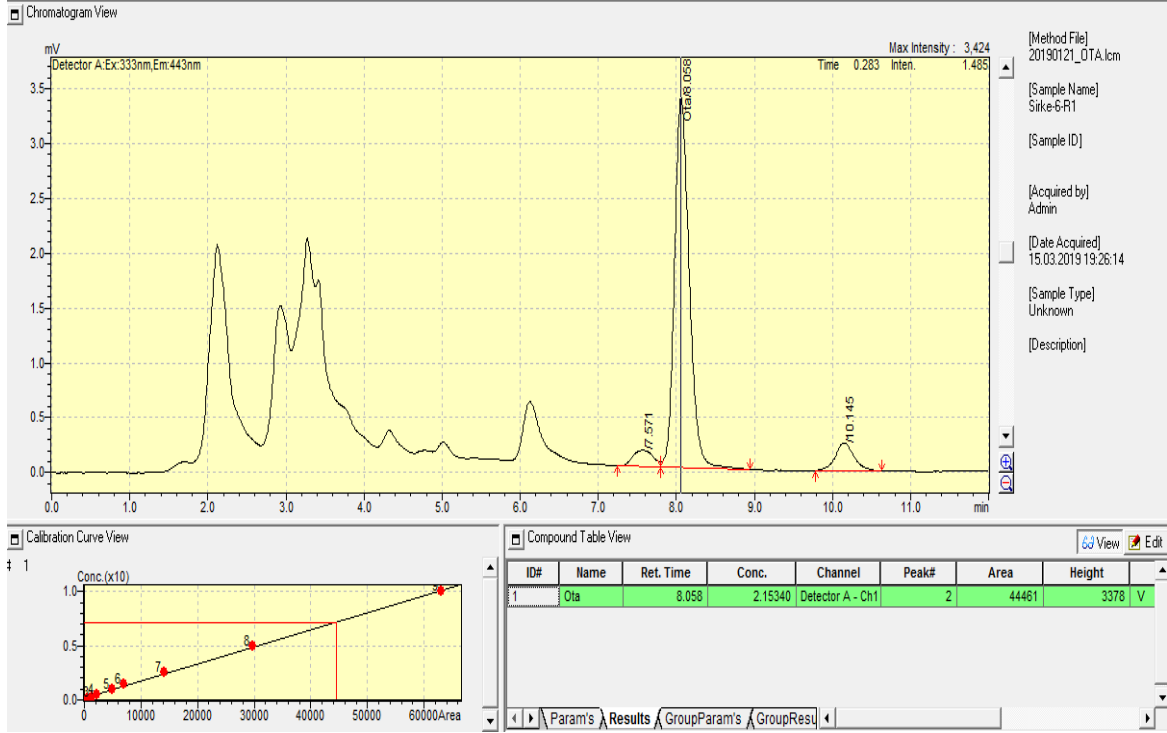
Sirke örneklerinde OTA analizi, örneklerin ön hazırlığı sonrasında ekstraksiyonu yapılarak Immunoaffinity Ochrapprep kolonuyla saflaştırılan ekstraktların HPLC yöntemi ile analizi gerçekleştirilmiştir. Ters faz C-18 ODS-2 kolonda OTA' nın ayrımı sonrasında floresans dedektörle tayin ve tespiti gerçekleştirilmiştir. Okratoksin A analizinde Sirkede OTA geri kazanım değeri %86 olarak belirlenmiştir. Okratoksin A analizinde Limit of detection (LOD): 0,09 µg/L iken Limit of Quantification (LOQ) değeri 0,11 µg/L olarak belirlenmiştir.

HPLC cihazında Okratoksin A analizi için çizilmiş olan kalibrasyon eğrisine göre (Şekil 5.1) kalibrasyon noktalarından olan 1 µg/L (ppb) standart çözeltisi cihaza verilerek standardın konsantrasyonunu 1,003 µg/L olarak kaydedilmiştir (Şekil 6.1).

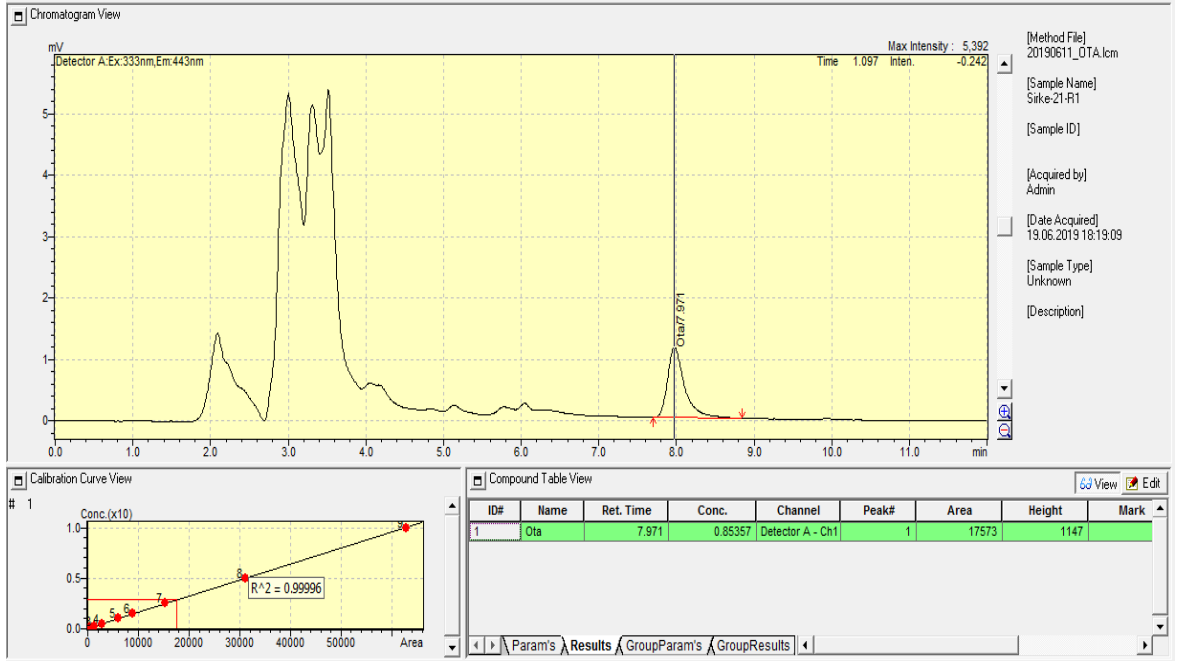


Şekil 6.1: 1 µg/L (ppb) Okratoksin A standart çözeltisi

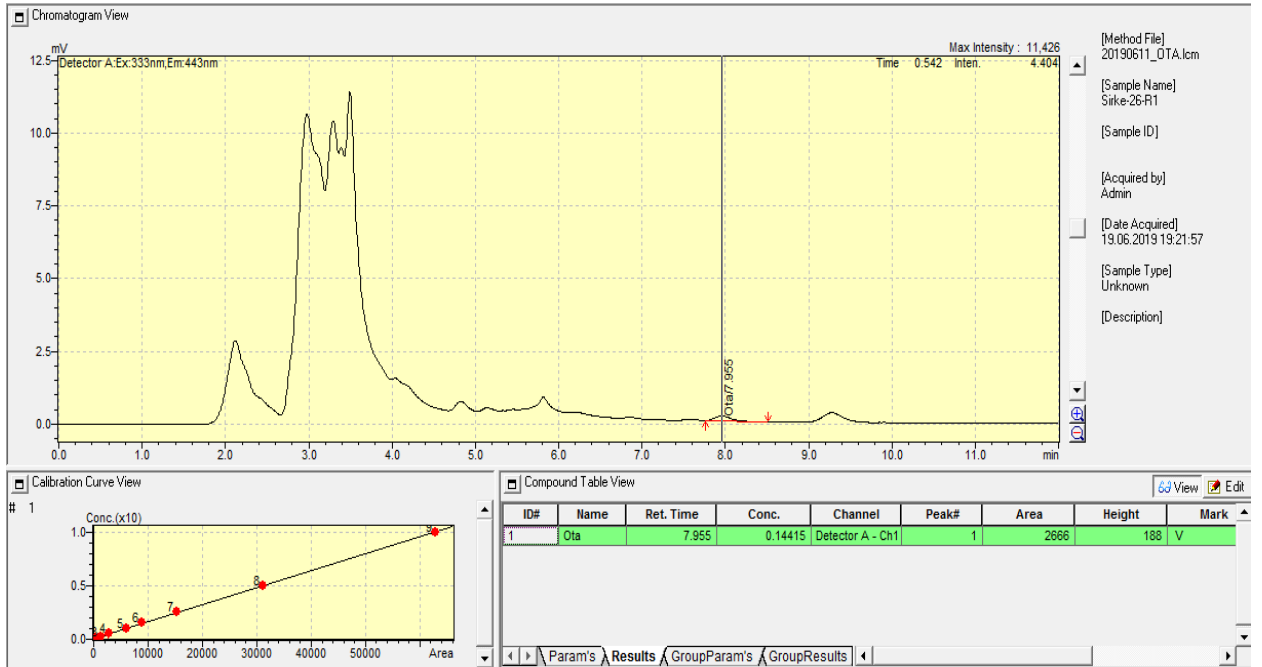
İncelenen 33 adet sirke örneğinin 4 tanesinde (%87,87) çıkan sonuçların <LOD ve <LOQ şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Analiz yapılan 33 adet sirke numunesinden 4 tanesinde (%12,12) çıkan değerler sırası ile örnek 6 için; 2,15 µg/L, örnek 21 için; 0,85 µg/L, örnek 26 için; 0,14 µg/L, örnek 29 için; 0,12 µg/L olup sirke numunesinde OTA 'nın alıkonma zamanı (dk) 8,058 'dir. Tespit edilen değerlerin sonuç kromatogramları sırası ile Şekil 6.2, 6.3, 6.4 ve 6.5' te belirtilmiştir.



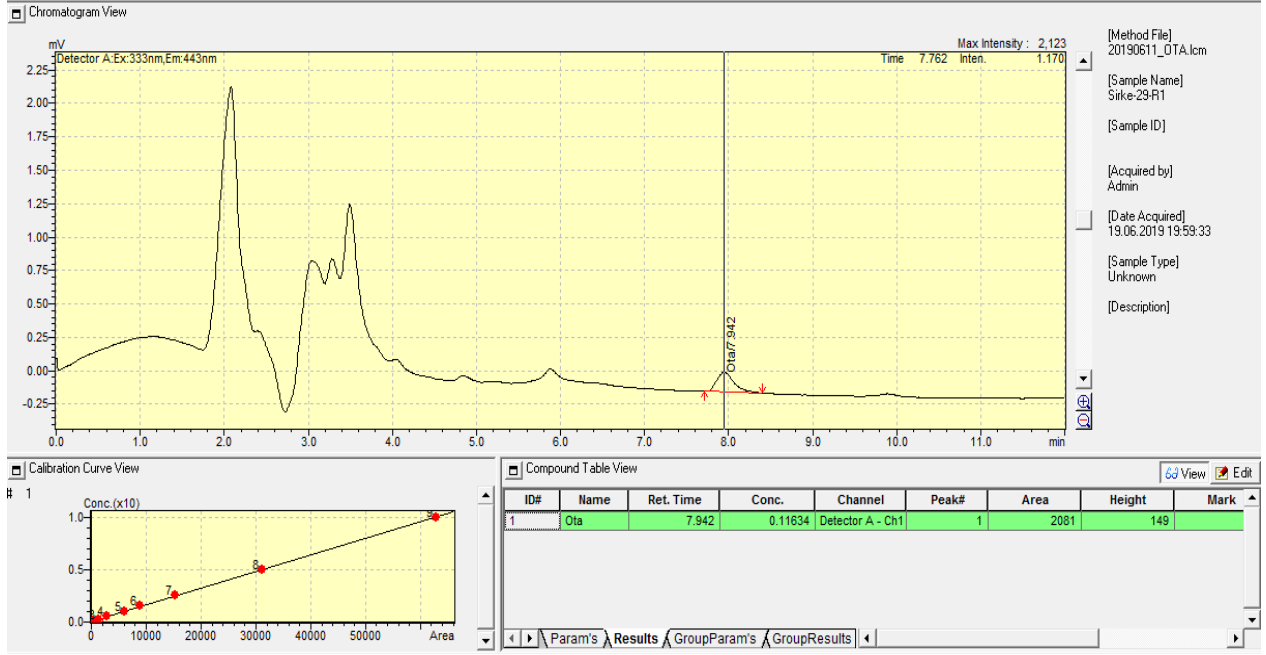
Şekil 6.2: 2,15 µg/L konsantrasyonda OTA tespit edilmiş olan sirke (Örnek-6) örneğine ait kromatogram.



Şekil 6.3: 0,85 µg/L konsantrasyonda OTA tespit edilmiş olan sirke (Örnek-21) örneğine ait kromatogram.



Şekil 6.4: 0,14 µg/L konsantrasyonda OTA tespit edilmiş olan sirke (Örnek-26) örneğine ait kromatogram.

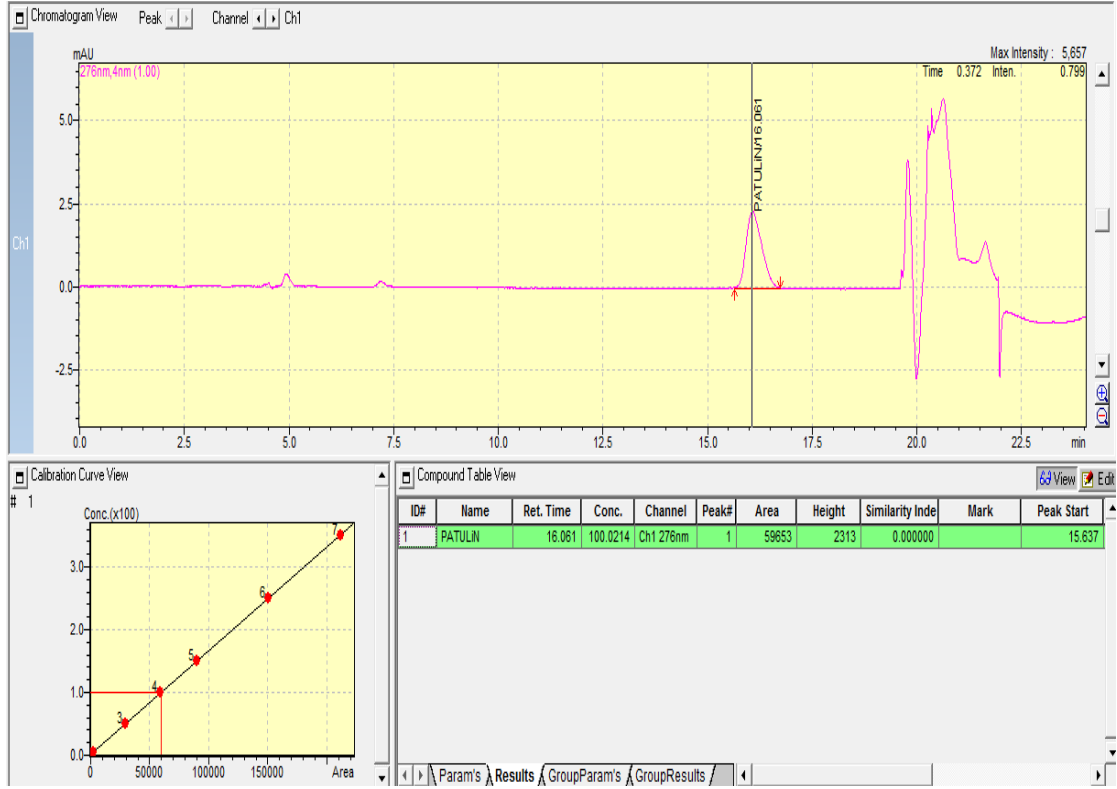


Şekil 6.5: 0,12 µg/L konsantrasyonda OTA tespit edilmiş olan sirke (Örnek-29) örneğine ait kromatogram.

6.2 Sirke Örneklerinde Patulin Varlığının Tespiti

Sirke örneklerinde Patulin analizi, örneklerin ön hazırlığı sonrasında ekstraksiyonu yapılarak Immunoaffinity kolonuyla saflaştırılan ekstraktların HPLC yöntemi ile analizi gerçekleştirilmiştir. ODS-3 C18 HPLC Kolonunda Patulin'nin ayrımı sonrasında DAD dedektörle tespit ve tayini gerçekleştirilmiştir. Patulin analizinde Sirkede patulinin geri kazanım değeri %75 olarak belirlenmiştir. Patulin analizinde Limit of detection (LOD): 3,97 µg/L iken Limit of Quantification (LOQ) değeri 4,70 µg/L olarak belirlenmiştir.

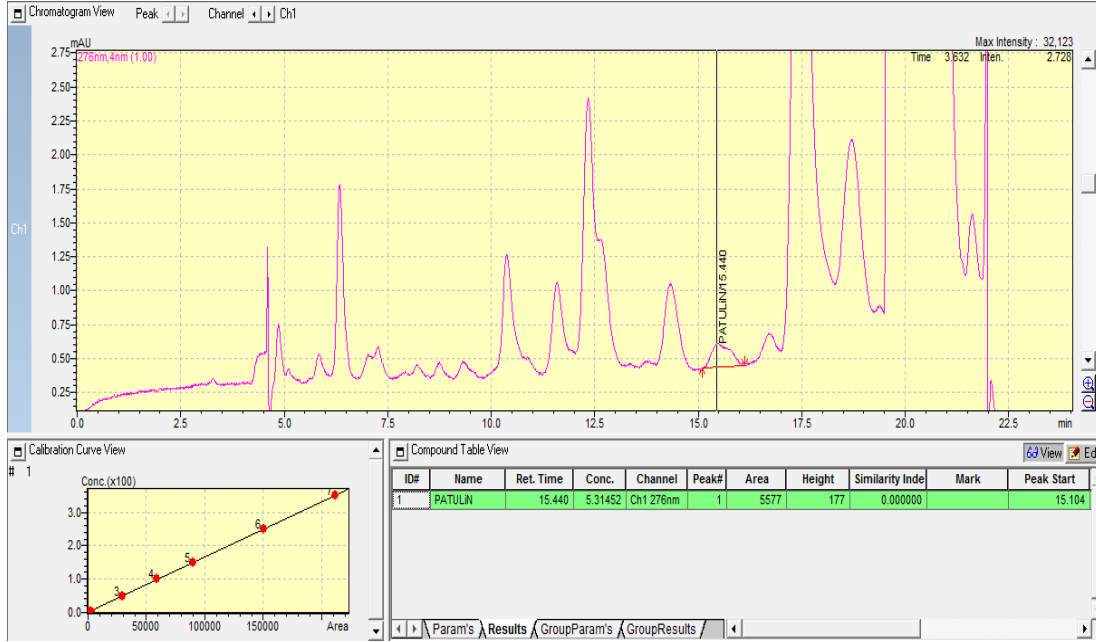
HPLC cihazında Patulin analizi için çizilmiş olan kalibrasyon eğrisine göre (Şekil 5.2) kalibrasyon noktalarından olan 100 µg/L (ppb) standart çözeltisi cihaza verilerek standardın konsantrasyonunu 100,02 µg/L olarak kaydedilmiştir (Şekil 6.6).



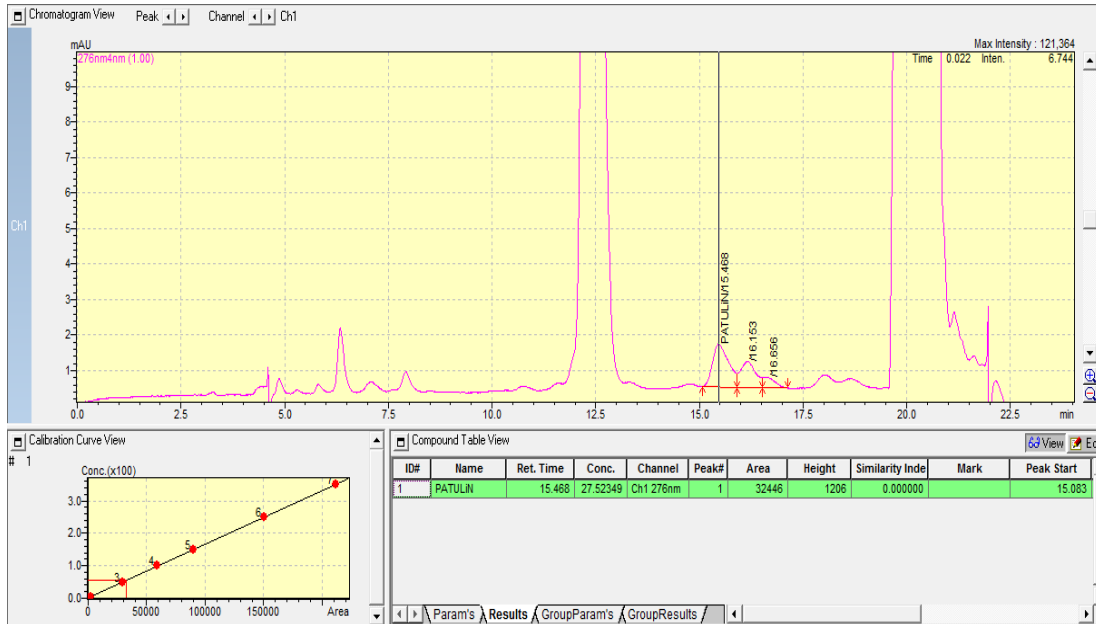
Şekil 6.6: 100 µg/L (ppb) Patulin standart çözeltisi

İncelenen 33 adet sirke örneğinin 19 tanesinin (%57,57) LOQ değerinden büyük, 1 tanesinin (%3,03) LOD değerinden büyük, kalan 13 örneğin (%39,39) sonuçlarının ise <LOD ve <LOQ şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Sirke numunesinde Patulin 'in alıkonma zamanı (dk) 16,061'dir. Sirke örneklerinde çıkan değerler sırası ile örnek 3 için; 5,31 µg/L, örnek 10 için; 27,52 µg/L, örnek 11 için; 1451,94 µg/L, örnek 15 için; 4,31 µg/L, örnek 16 için; 267,03 µg/L, örnek 17 için; 113,82 µg/L, örnek 18 için; 48,45 µg/L, örnek 19 için; 52,15 µg/L, örnek 20 için; 5,02 µg/L, örnek 21 için; 6,35 µg/L, örnek 22 için; 5,47 µg/L, örnek 23 için; 243,23 µg/L, örnek 24 için; 5,49 µg/L, örnek 25 için; 165,4 µg/L, örnek 27 için; 31,92 µg/L, örnek 28 için; 30,57 µg/L, örnek 30 için; 9,10 µg/L, örnek 31 için; 5,06 µg/L, örnek 32 için; 6,29 µg/L ve örnek 33 için; 10,21 µg/L olarak bulunmuştur. Bu değer tespit edilen örnek-3,10,11,15, 16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,27,28,30,31,32 ve 33 numuneleri için sonuç

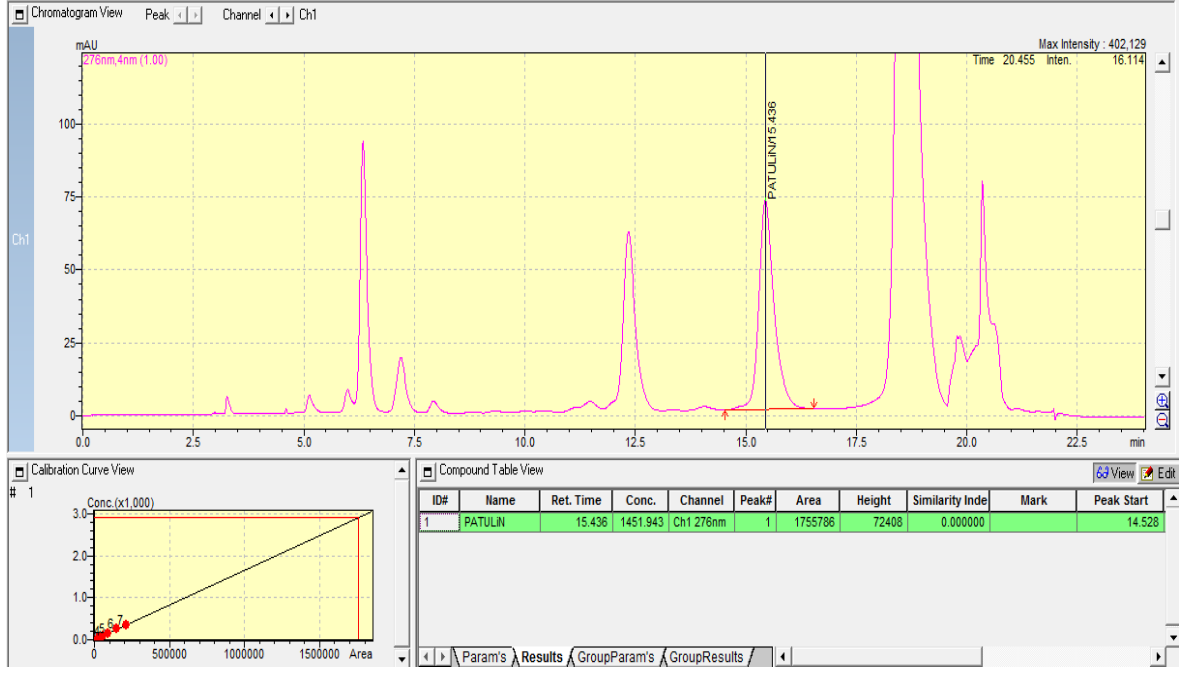
kromatogramları sırası ile Şekil 6.7, 6.8, 6.9, 6.10, 6.11, 6.12, 6.13, 6.14, 6.15, 6.16, 6.17, 6.18, 6.19, 6.20, 6.21, 6.22, 6.23, 6.24, 6.25 ve 6.26'dir.



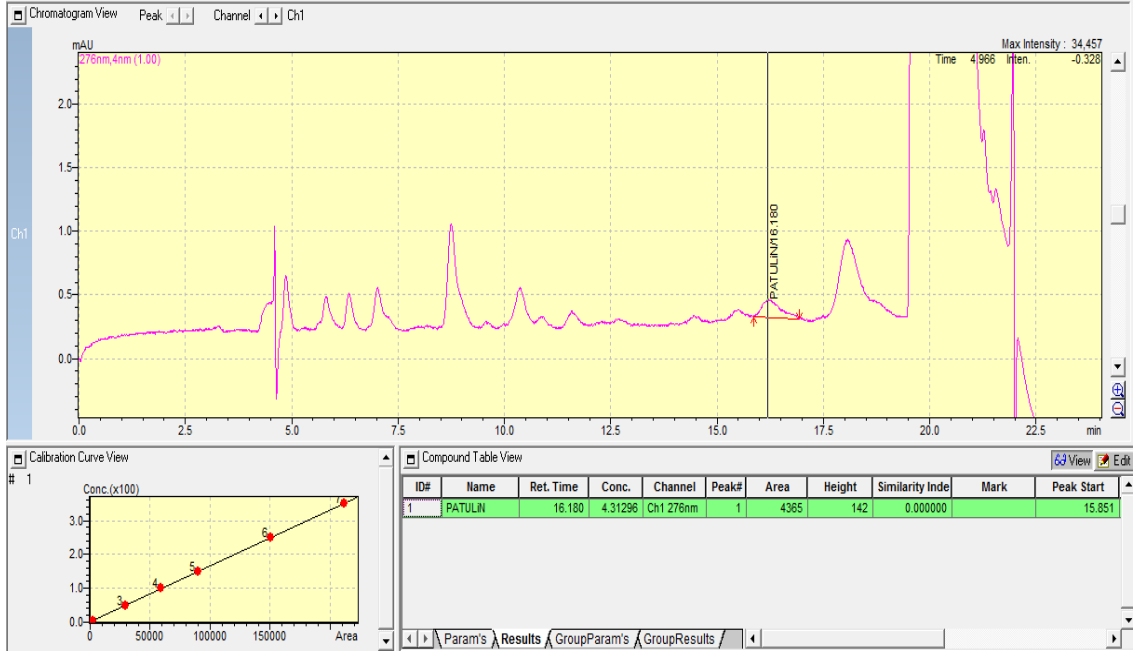
Şekil 6.7: 5,31 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-3) örneğine ait kromatogram.



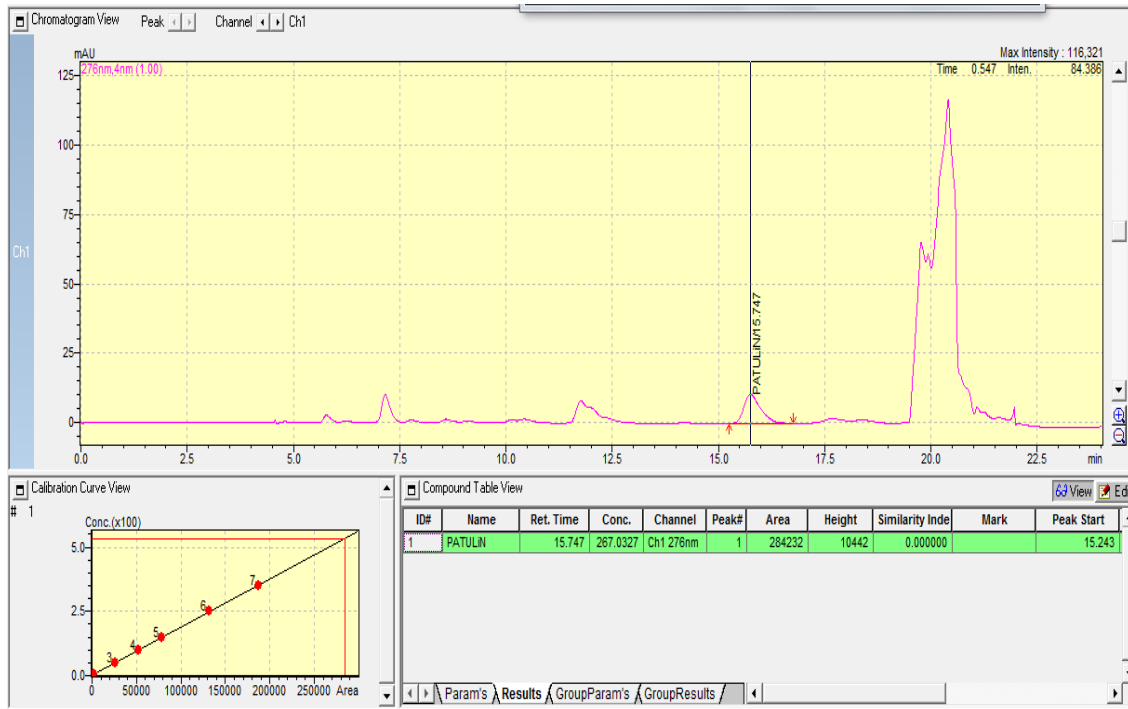
Şekil 6.8: 27,52 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-10) örneğine ait kromatogram.



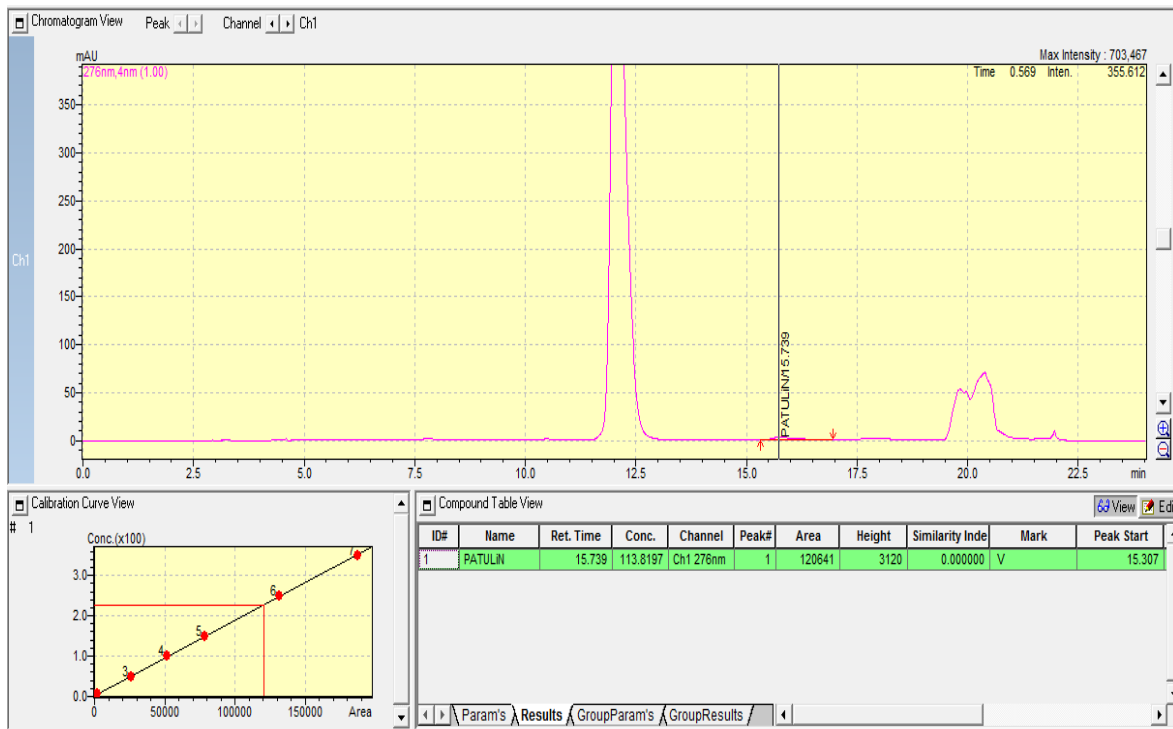
Şekil 6.9: 1451,94 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-11) örneğine ait kromatogram.



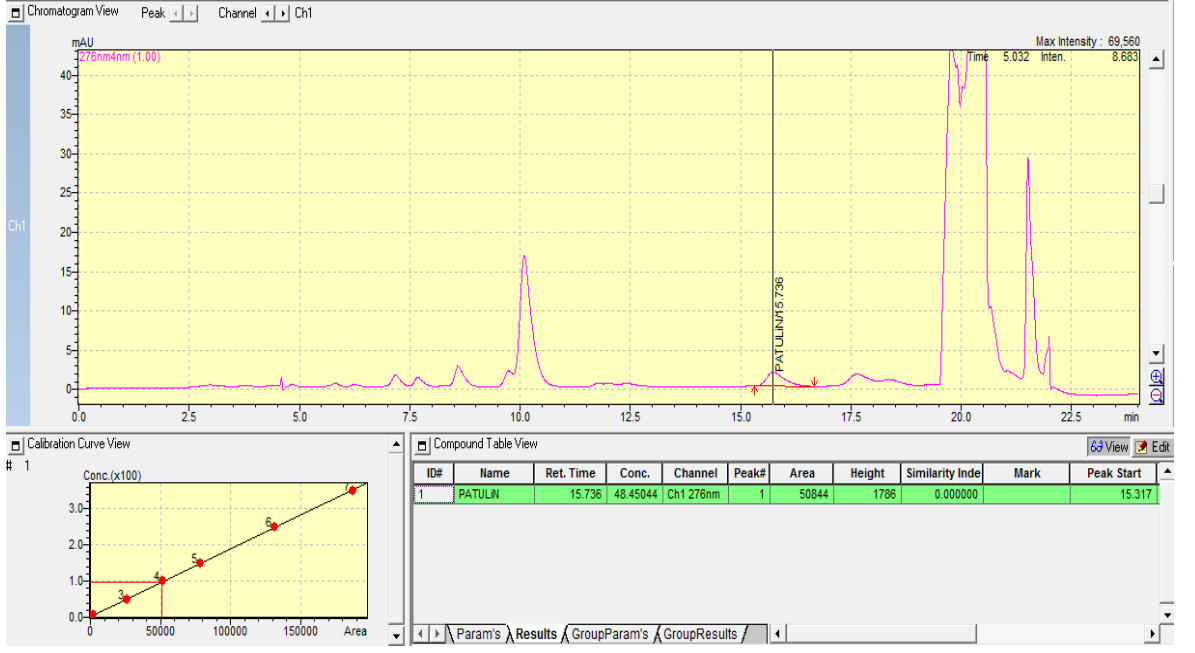
Şekil 6.10: 4,31 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-15) örneğine ait kromatogram.



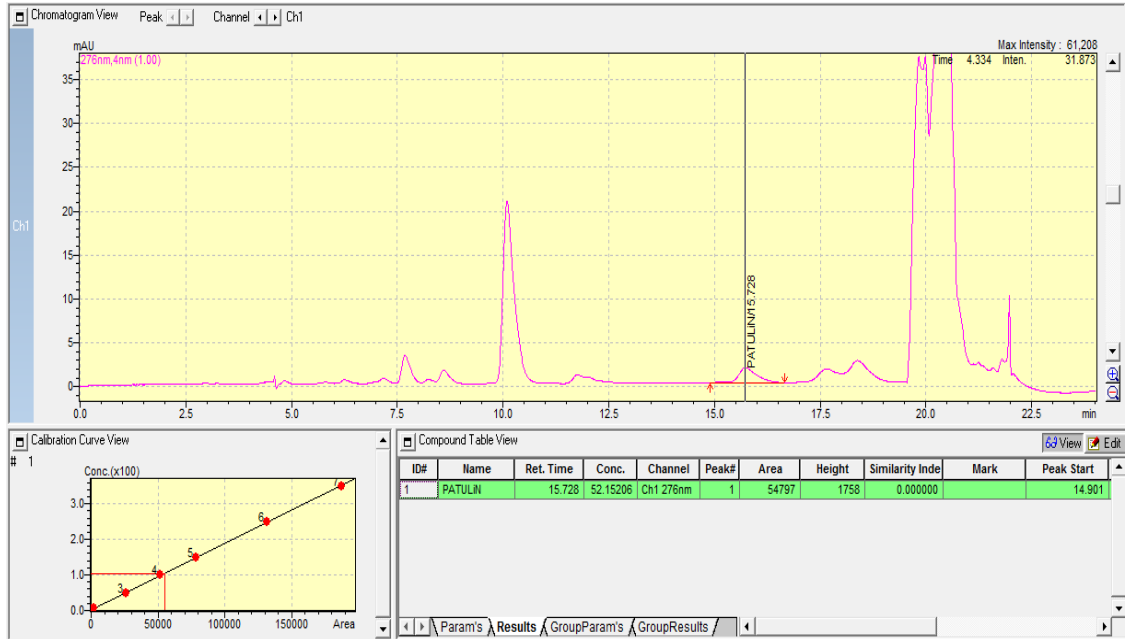
Şekil 6.11: 267,03 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-16) örneğine ait kromatogram.



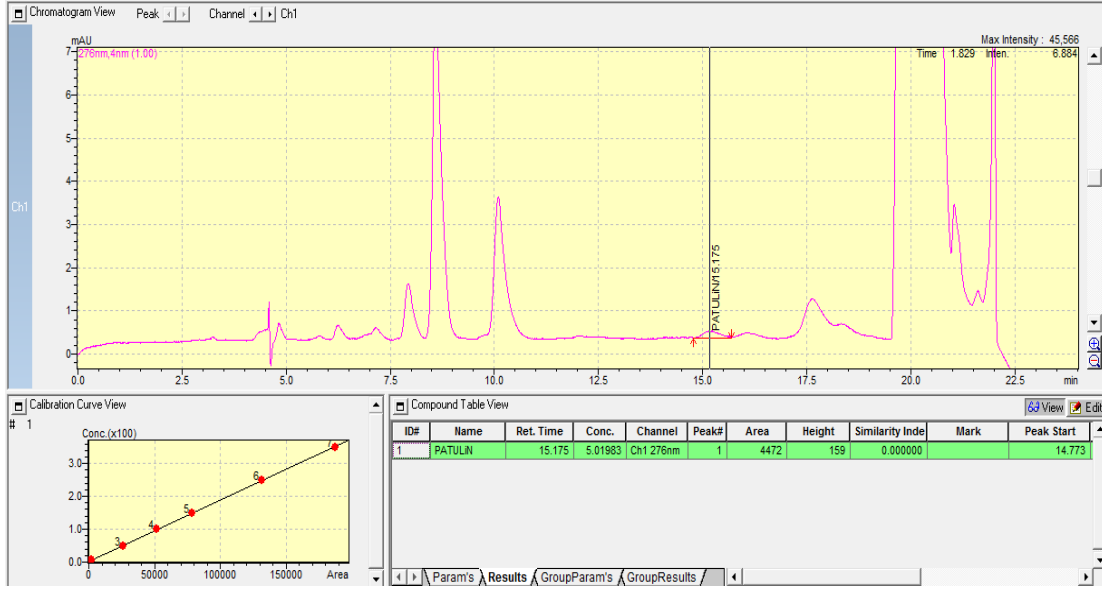
Şekil 6.12: 113,82 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-17) örneğine ait kromatogram.



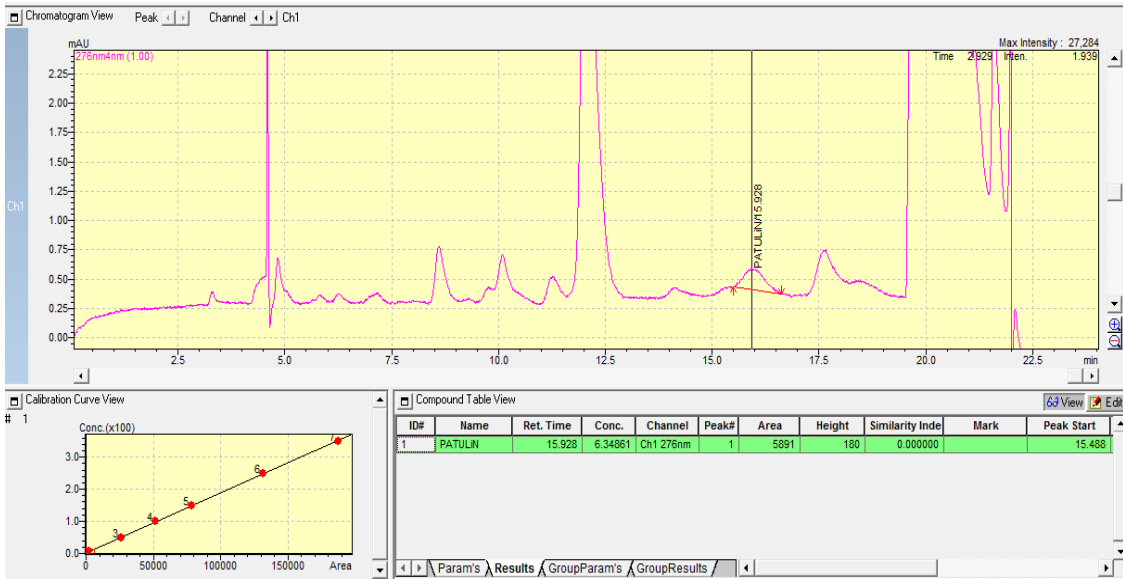
Şekil 6.13: 48,45 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-18) örneğine ait kromatogram.



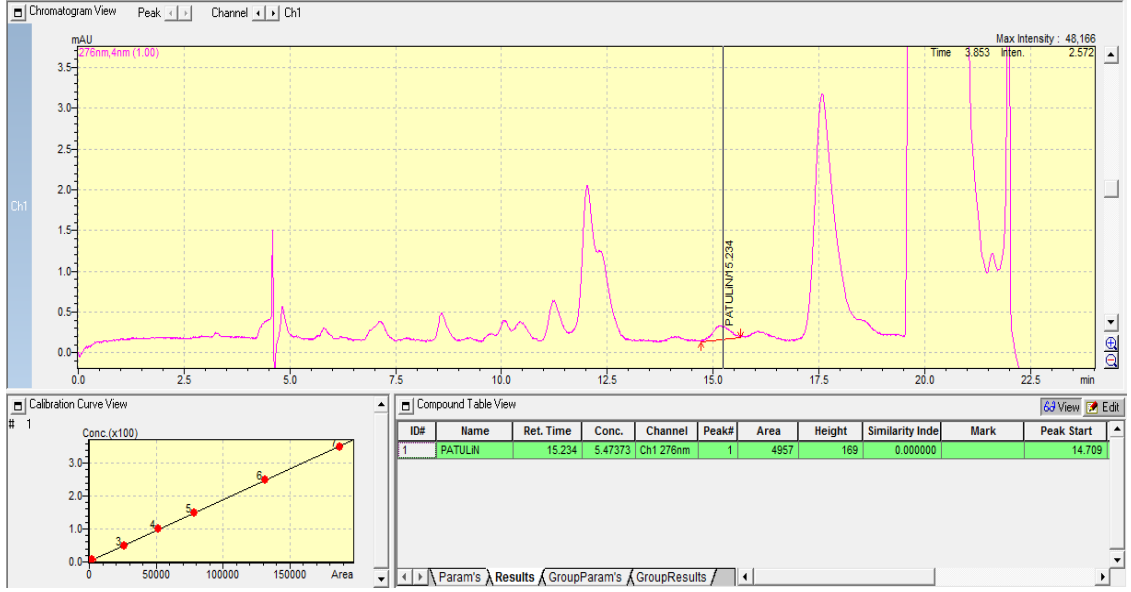
Şekil 6.14: 52,15 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-19) örneğine ait kromatogram.



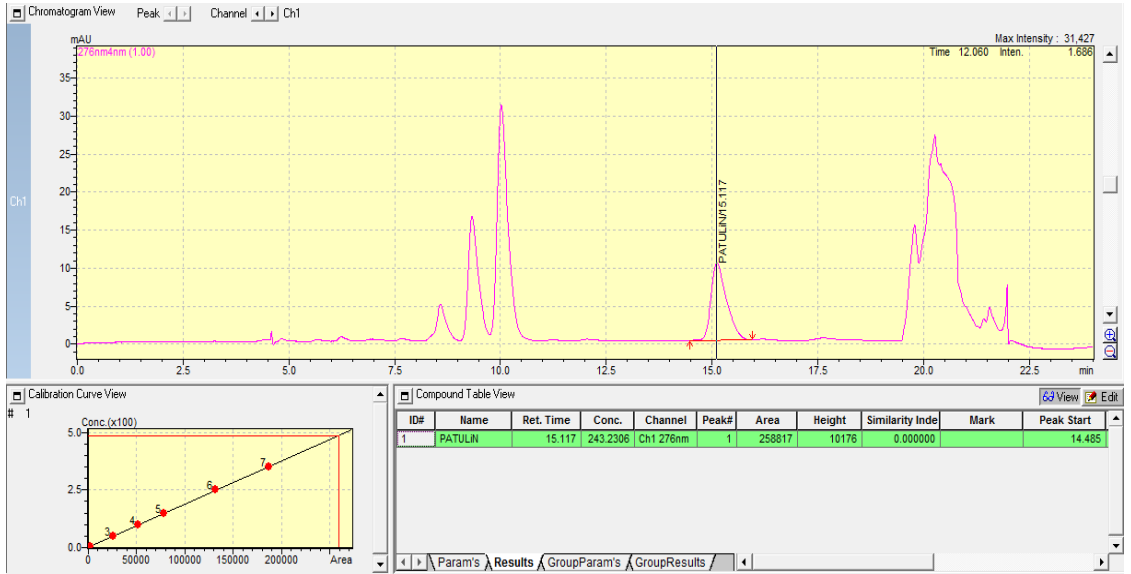
Şekil 6.15: 5,02 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-20) örneğine ait kromatogram.



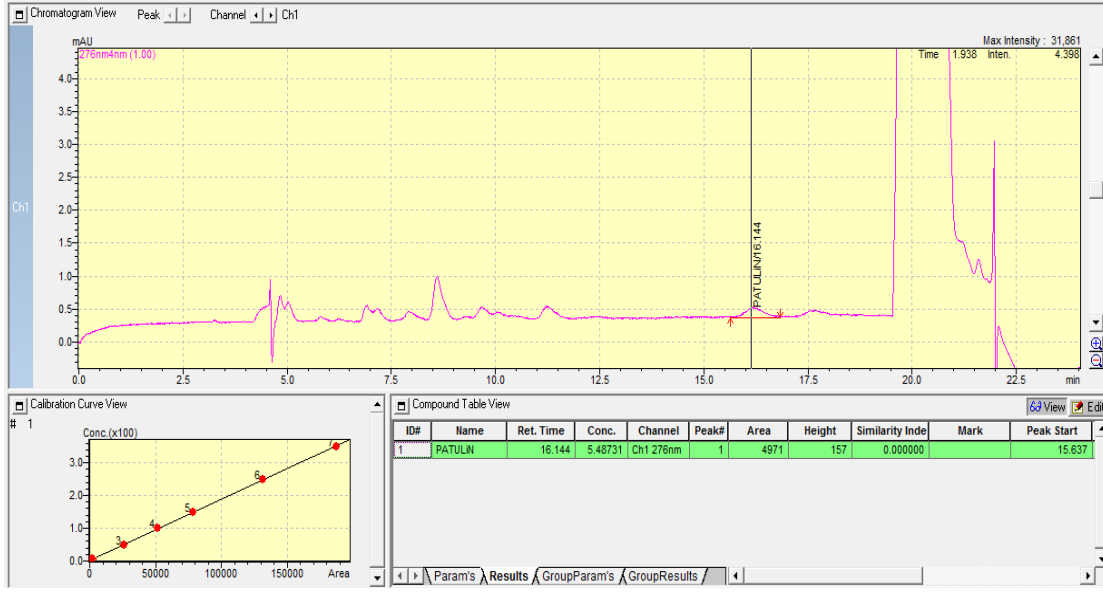
Şekil 6.16: 6,35 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-21) örneğine ait kromatogram.



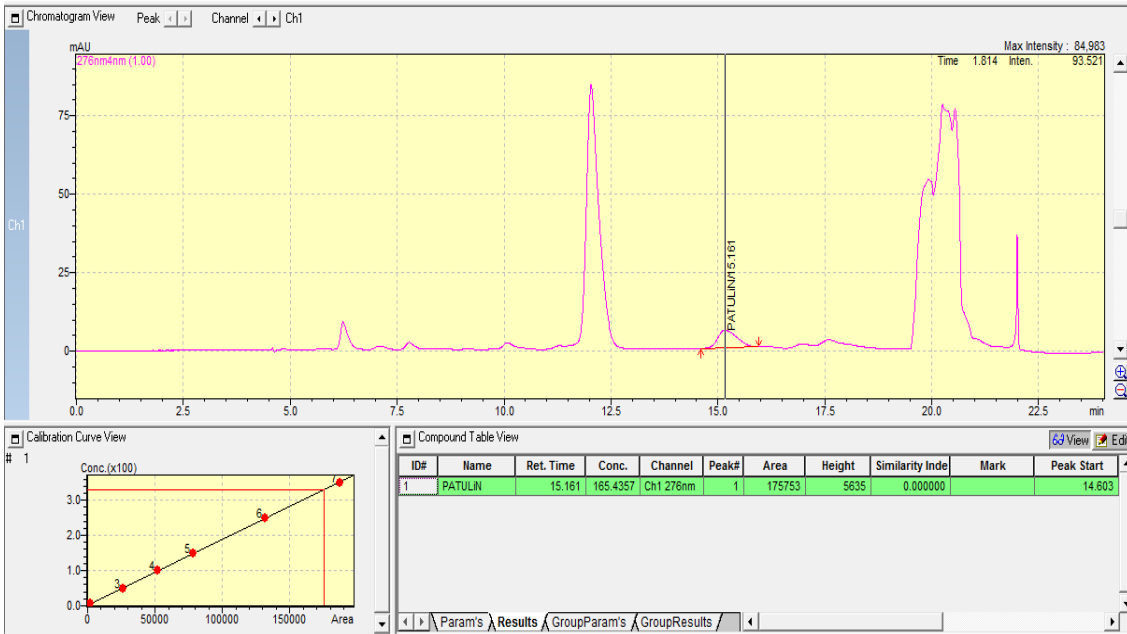
Şekil 6.17: 5,47 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-22) örneğine ait kromatogram.



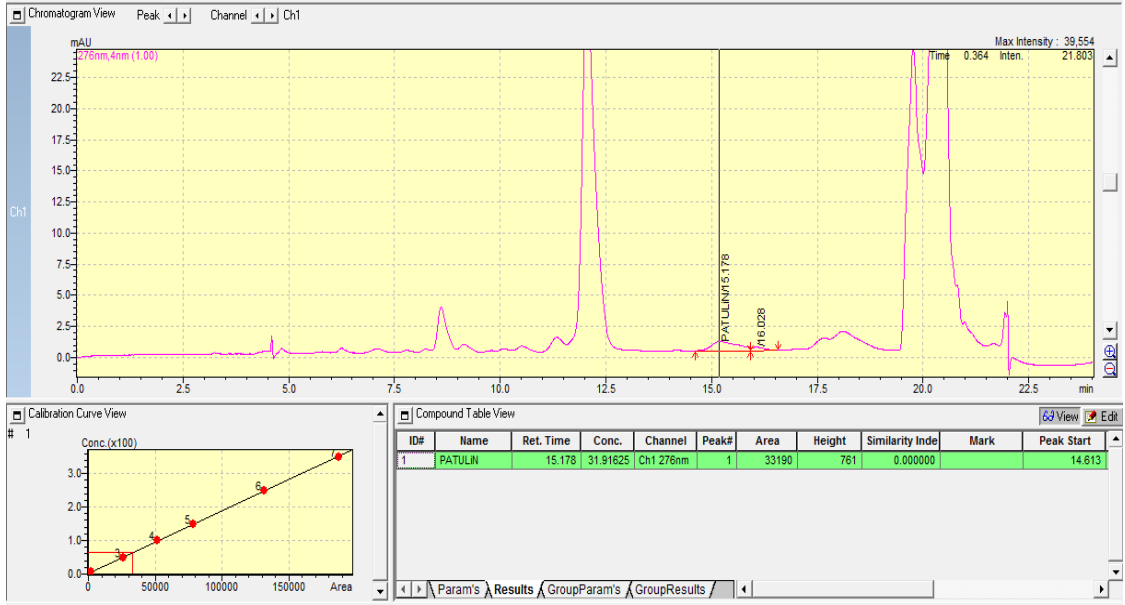
Şekil 6.18: 243,23 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-23) örneğine ait kromatogram.



Şekil 6.19: 5,48 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-24) örneğine ait kromatogram.



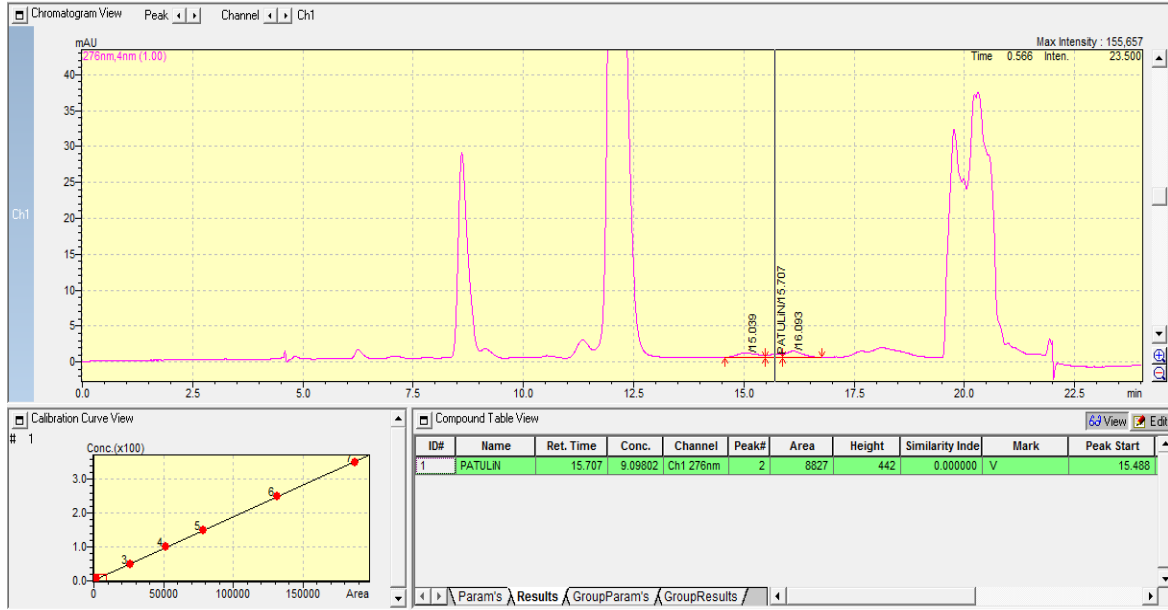
Şekil 6.20: 165,43 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-25) örneğine ait kromatogram.



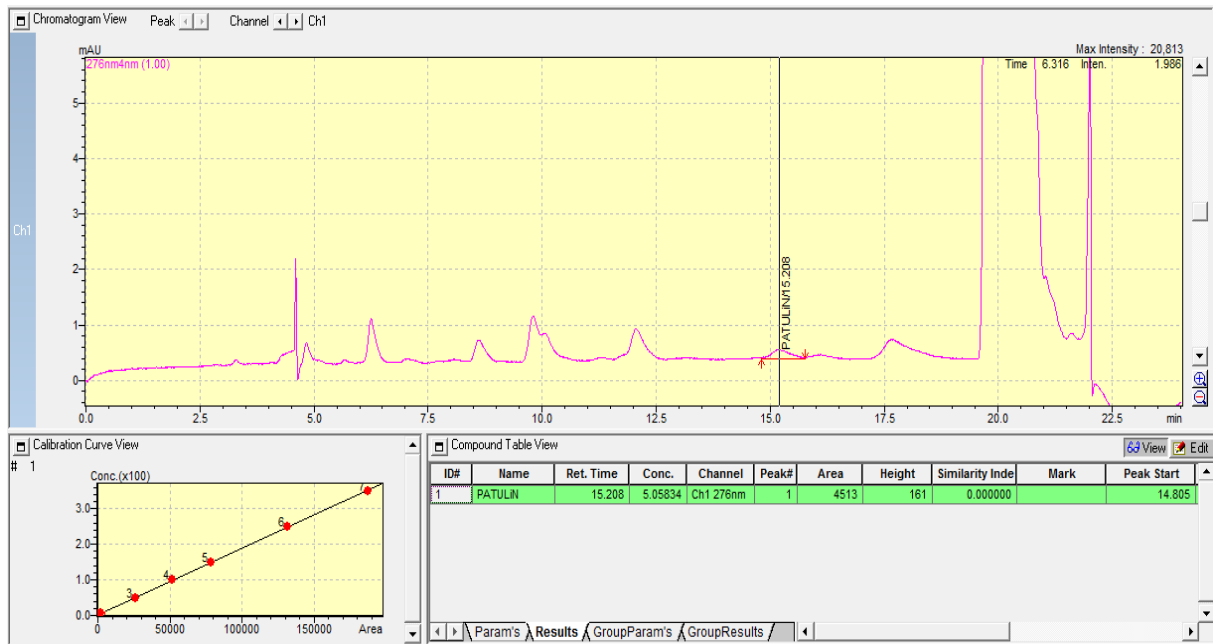
Şekil 6.21: 31,92 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-27) örneğine ait kromatogram



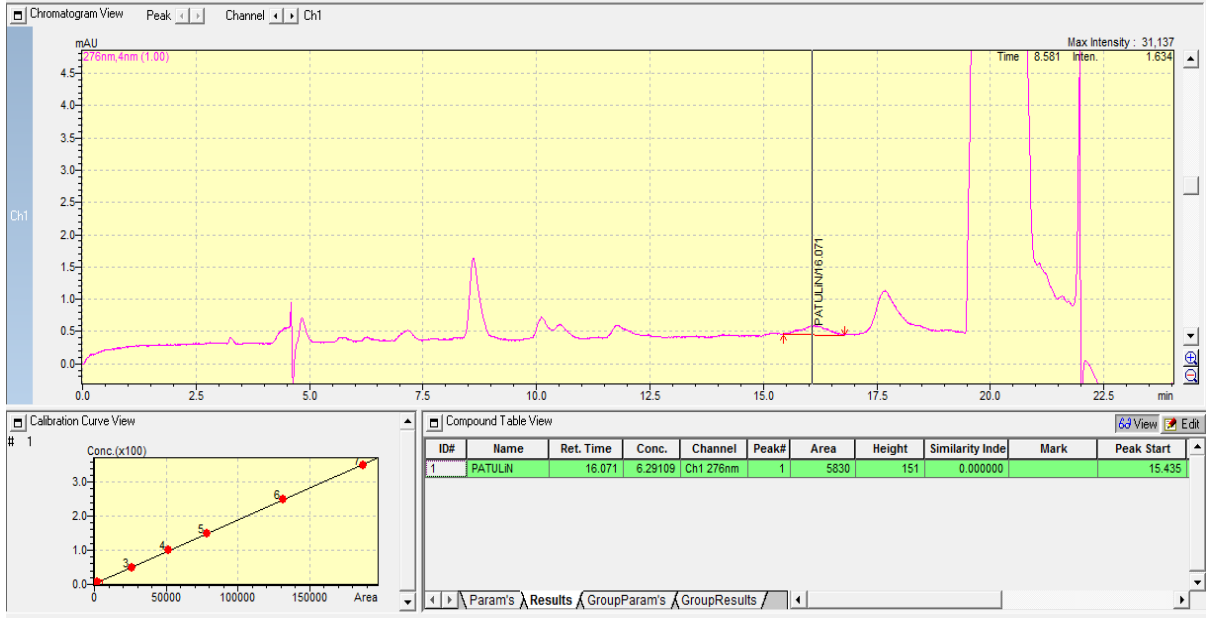
Şekil 6.22: 30,56 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-28) örneğine ait kromatogram



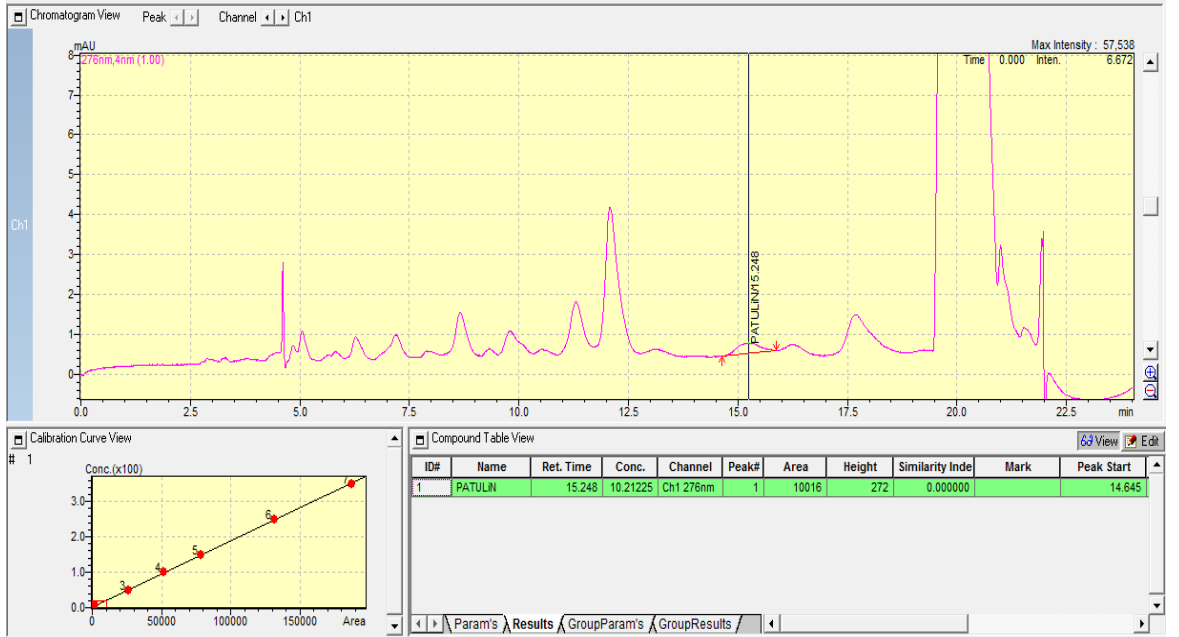
Şekil 6.23: 9,09 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-30) örneğine ait kromatogram



Şekil 6.24: 5,06 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-31) örneğine ait kromatogram



Şekil 6.25: 6,29 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-32) örneğine ait kromatogram



Şekil 6.26: 10,21 µg/L konsantrasyonda Patulin tespit edilmiş olan sirke (Örnek-33) örneğine ait kromatogram

Çizelge 6.1: Sirkelerde Okratoksin ve Patulin için LOD ve LOQ değerleri

(µg/l)	LOD	LOQ
OTA	0,09	0,11
PATULİN	3,97	4,7

Çizelge 6.2: Sirkelerde Okratoksin ve Patulin analiz sonuçları

Örnek No	Hammadde	Üretim yılı	Orijini	Temin edildiği yer	OTA (µg/l)	PATULİN (µg/l)
1	Elma, Mandalina	Eylül 2018	İzmir	Halk pazarı	0,05	1,02
2	Elma	Eylül 2018	İzmir	Halk pazarı	0,05	1,35
3	Üzüm	Eylül 2018	İzmir	Kendi bahçesi	0,05	5,31
4	Üzüm, mandalina, portakal, elma, limon	Ekim 2018	İzmir	Market	0,07	1,32
5	Elma	Ekim 2018	İzmir	Market	0,06	1,7
6	İncir, elma	Kasım 2018	İzmir	Kendi bahçesi	2,15	3,03
7	Alıç	Şubat 2018	Erzurum	Halk pazarı	0,05	0,84
8	Üzüm	Şubat 2018	Tokat	Halk pazarı	0,05	ND
9	Elma		Adana	Halk pazarı	0,07	ND
10	Elma	Ağustos 2018	Hatay	Kendi bahçesi	0,05	27,52
11	Elma	Ocak 2017	Gaziantep	Kendi bahçesi	0,05	1451,94
12	Elma	Kasım 2018	Eskişehir	Halk pazarı	0,05	3,18
13	Üzüm	Kasım 2018	Eskişehir	Halk pazarı	0,05	1,91
14	Elma	Aralık 2018	İstanbul	Halk pazarı	0,05	2,03
15	Elma	Eylül 2018	Kırklareli	Kendi bahçesi	0,05	4,31
16	Alıç	Ağustos 2018	Ege bölgesi	Halk pazarı	0,02	267,03
17	Hurma	Temmuz 2018	—	Halk pazarı	0,02	113,82
18	Elma	—	Ege bölgesi	Halk pazarı	0,05	48,45
19	Elma ve Dağ çileği	—	Ege bölgesi	Halk pazarı	0,02	52,15
20	Elma	—	Denizli	—	0,02	5,02
21	Kırmızı parmak üzüm	Aralık 2017	Antalya /Kaş	Kendi bahçesi	0,85	6,35
22	Beyaz ve kırmızı üzüm karışımı	Eylül 2018	Mersin	Kendi bahçesi	0,03	5,47
23	Elma	Temmuz 2018	Hatay	Kendi bahçesi	0,02	243,23
24	Elma (küçük sarı elma)	Kasım 2018	Hatay	Kendi bahçesi	0,02	5,49
25	Elma ve Kiraz	Temmuz 2018	Hatay	Kendi bahçesi	0,02	165,44
26	Üzüm (Tarsus beyazı)	Ağustos 2018	Mersin	Halk pazarı	0,14	1,87
27	Siyah üzüm	Eylül 2018	Mersin	Kendi bahçesi	0,02	31,92
28	Elma kabuğu ve alıç	Kasım 2018	Hatay	Halk pazarı	0,02	30,57
29	Elma	Ağustos 2018	—	Kendi bahçesi (dökülen elma)	0,12	1,67
30	Siyah üzüm	Ekim 2018	Ankara	Kendi bahçesi	0,02	9,1
31	Elma	Eylül 2018	Ankara	Kendi bahçesi	0,02	5,06
32	Elma	Kasım 2018	Ankara	Halk pazarı	0,02	6,29
33	Nar	—	Ankara	Halk pazarı	0,02	10,21

7. SONUÇ

Bu çalışmada Türkiye'nin belli yörelerinin farklı illerinden 33 adet ev yapımı sirke örneği temin edilmiştir. Bu çalışma kapsamında çeşitli ev yapımı sirke örneklerine Okratoksin A ve patulin analizleri yapılmıştır. Türk Gıda Kodeksi'nde sirke örneği için okratoksin A ve patulin toksinleri için yasal düzenleme bulunmamaktadır. Bu sebeple çalışma sonucunda elde ettiğimiz verileri: Okratoksin A için TGG Bulaşanlar yönetmeliği "2.2.6 Şarap ve meyve şarapları" limiti olan 2 µg/kg olan limit değere göre, Patulin için ise "2.3.2 Distile alkollü içkiler, elma şarabı ve elmadan üretilen veya elma suyu içeren diğer fermente içkiler" limiti olan 50 µg/kg olan limit değere göre değerlendirme yapılmıştır.

Çalışmadaki ev yapımı sirke örneklerinde Okratoksin A ve Patulin analizlerinin mevcudiyeti HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) metoduyla analiz edilerek yapılmıştır. Okratoksin A ve Patulin analizi öncesinde hazır duruma getirilen sirke örnekleri ekstraksiyon sonrası IA (Immunoaffinite) kolonla saflaştırılıp HPLC cihazında analiz edilmiştir. Ters faz kolonda OTA, FLD dedektörle, Patulin ise DAD dedektörle tayin ve tespit edilmiştir.

Okratoksin tespiti için çalışmanın içeriğinde de belirttiğimiz gibi incelenen 33 adet sirke örneğinin 4 tanesinde (%87,87) çıkan sonuçların <LOD ve <LOQ şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Analiz yapılan 33 adet sirke numunesinden 4 tanesinde (%12,12) çıkan değerler sırası ile örnek 6 için; 2,15 µg/L, örnek 21 için; 0,85 µg/L, örnek 26 için; 0,14 µg/L, örnek 29 için; 0,12 µg/L olup sirke numunesinde OTA 'nın alıkonma zamanı (dk) 8,058 'dir. Tespit edilen değerlerin sonuç kromatogramları sırası ile Şekil 6.1.2, 6.1.3, 6.1.4 ve 6.1.5' te

belirtilmiştir. Patulin varlığı için incelenen 33 adet sirke örneğinin 19 tanesinin (%57,57) LOQ değerinden büyük, 1 tanesinin (%3,03) LOD değerinden büyük, kalan 13 örneğin (%39,39) sonuçlarının ise <LOD ve <LOQ şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Sirke numunesinde Patulin 'in alıkonma zamanı (dk) 16,061'dir. Sirke örneklerinde çıkan değerler sırası ile örnek 3 için; 5,31 µg/L, örnek 10 için; 27,52 µg/L, örnek 11 için; 1451,94 µg/L, örnek 15 için; 4,31 µg/L, örnek 16 için; 267,03 µg/L, örnek 17 için; 113,82 µg/L, örnek 18 için; 48,45 µg/L, örnek 19 için; 52,15 µg/L, örnek 20 için; 5,02 µg/L, örnek 21 için; 6,35 µg/L, örnek 22 için; 5,47 µg/L, örnek 23 için; 243,23 µg/L, örnek 24 için; 5,49 µg/L, örnek 25 için; 165,4 µg/L, örnek 27 için; 31,92 µg/L, örnek 28 için; 30,57 µg/L, örnek 30 için; 9,10 µg/L, örnek 31 için; 5,06 µg/L, örnek 32 için; 6,29 µg/L ve örnek 33 için; 10,21 µg/L olarak bulunmuştur. Bu değer tespit edilen örnek-3,10,11,15, 16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,27,28,30,31,32 ve 33 numuneleri için sonuç kromatogramları sırası ile belirtilmiştir.

Bütün veriler göz önünde bulundurularak genel bir değerlendirme yapılırsa: Üzerinde inceleme yapılan ev yapımı sirkeler temin edilirken özellikle araştırma konusu OTA ve Patulin toksinlerinin oluşumuna sebebiyet veren küflerin gelişme faktörleri göz önünde bulundurulmuştur. Sıcaklık, nem oranı, su aktivitesi, depolama şartları gibi değişken koşullar küf oluşumuna etki etmektedir. Bu sebep ile Türkiye'nin farklı bölgelerde ki şehirlerinden 33 adet ev yapımı sirke numunesi temin edilmiştir. OTA bulunurluğu değerlendirildiğinde sadece İzmir'den temin edilen örnek 6'nın (incir-elma sirkesi) TGK 'ki '2.2.6 Şarap ve meyve şarapları'' limiti olan 2 µg/kg olan limit değere göre değerlendirme yapıldığı da 2,15 µg/kg pozitif sonuç verdiği bunun yanında örnek 21,26 ve 29'un LOQ değeri olan 0,11 µg/kg'dan büyük olduğu gözlenmiştir. Patulin bulunurluğu değerlendirildiğinde ise Gaziantep'ten temin edilen örnek 11 (elma sirkesi) TGK ya göre'2.3.2 Distile alkollü içkiler, elma şarabı ve elmadan üretilen veya elma suyu içeren diğer fermente içkiler'

limiti olan 50 µg/kg limit değere göre bakıldığında 1451,94 µg/kg, örnek 16,17,19,23 ve 25 kodlu sirkelerinde sırasıyla 267,03 µg/kg, 113,82 µg/kg, 52,15 µg/kg, 243,23 µg/kg ve 165,44 µg/kg olarak pozitif sonuçlar tespit edilmiştir. Pozitif sonuç veren sirke örneklerinin temin edildiği yerler ile iletişime geçilmiş olup numunelerine sahip kişilerin kendi bahçelerinden taze kullanıma uygun olmayan, ağaçtan düşmüş hammaddenin nemli toprak üzerinde ve sıcak iklim koşullarında bekletildikten sonra kullanıldığı bilgisine ulaşılmıştır. Okratoksin A ve Patulin toksinlerinin üremesi için gerekli ortamın sıcak, nemli ve kötü depo şartlarının uygun olmasını çıkan pozitif değerlerde sayısal verilerle desteklemektedir. Bunun yanında fermente ev yapımı sirkelerde pastörizasyon işlemi uygulanmadığı için hammadde olan meyvede oluşan toksinin sonrasında işlem görmüş son ürüneye geçmekte olup yok edilemediği bilinmektedir.

KAYNAKLAR

- Achaerandio, I., Guell, C., Medina, F., Lamuela-Raventos, R., Lopez, F.,** (2002). Note. Vinegar Decolorization by Re-Activated Carbon. *Food Science and Technology International*, 8(4), 239-242.
- Aksoy U., Eltem R., Meyvaci K. B., Altindisli A., Karabat S. ,**(2007), Five-year survey of ochratoxin A in processed sultanas from Turkey, *Food Addit.Contam.*, 24, 292-296.
- Aktan, N., Kalkan, H.,** (1998). *Sirke Teknolojisi*. Ege Üniversitesi Basımevi, II. Baskı, 82s. İzmir.
- Aktan, N., ve Kalkan, H.,** (1998). *Sirke Teknolojisi II*. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 82.
- Almela, L., Rabe, V, Sánchez, B., Torrella, F., López-Pérez, J. P., Gabaldón, J. A., Guardiola L.,** (2007), Ochratoxin A in red paprika: Relationship with the origin of the raw material, *Food Microbiology*, 24, 4, 319-327.
- Anlı E.ve Alkış M.İ.** (2010). Ochratoxin A and Brewing Technology: A Review, *J. Inst. Brew*, 116(1): p.27.
- Anonim,** (2000). Proposed Draft Revised Regional Standart for Vinegar, Codex Alimentarius Commission, FAO, WHO, Rome.
- Anonim,** (2003). *Sirke-Tanım Kökenli Sıvılardan Elde Edilen Ürün-Tarifler, Özellikler ve İşaretleme*, TSE, Türk Standardı TS 1880 EN 13188, Türk Standartları Enstitüsü Ankara.
- Anonim,** (2003). *Sirke-Tanım Kökenli Sıvılardan Elde Edilen Ürün-Tarifler, Özellikler ve İşaretleme*, TSE, Türk Standardı TS 1880 EN 13188, Türk Standartları Enstitüsü Necatibey Cad. 112, Ankara.
- Anonim,** (2004). TS 1880 EN 13188: 2003, T1: Nisan 2004, *Sirke – Tarım Kökenli Sıvılardan Elde Edilen Ürün – Tarifler, Özellikler, İşaretleme, Tadil ICS: 01.040.67; 67.220.20.*
- Arıcı, M.** (2005), Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Çoğalması Üzerine Patulinin Etkisi, *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi/ Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 2(1): 35:43.
- Artık, N.** (2007). Gıda Mikotoksinleri ve İnsan Sağlığı Açısından Önemi, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Yayın Dairesi Başkanlığı, Gıda Serisi No: 6, Ankara, s9- 57.
- Baert, K., Meulenaer, B., D., Kasase, C., Huyghebaert, A., Ooghe, W., Devlieghere, F.** (2007), Free and bound patulin in cloudy apple juice, *Food Chemistry*, 100: 1278–1282.
- Baert, K., Meulenaer, B.D., Kasase, C., Huyghebaert, A., Ooghe, W., Devlieghere, F.** (2007). Free and Bound Patulin in Cloudy Apple Juice. *Food Chemistry*,100, 1278- 1282.
- Bamforth, C.W.,** (2005). *Food, Fermentation and Microorganisms*. Blackwell Publishing Company, UK, pp:154-159.

- Barkai- Golan, R.** (2008). Penicillium Mycotoxins, Mycotoxins in Fruits and Vegetables (Barkai- Golan, R., Paster, N. Eds.), Academic Pres, UK, s153-185.
- Barreira, M. J., Alvito, P. C., Almeida, C., M., M.** (2010), Occurrence of patulin in apple-based-foods in Portugal, Food Chemistry 121: 653–658.
- Battilani, P., Magan, N., Logrieco A.,** (2006), European research on ochratoxin A in grapes and wine, International Journal of Food Microbiology, 111, 2–4.
- Bayman P, Baker JL, Doster M, et al.** (2002). Ochratoxin production by the Aspergillus ochraceus group and Aspergillus alliaceus. Appl. Environ. Microbiol. 68, 2326–2329.
- Bucheli P, Taniwaki MH.** (2002). Research on the origin, and on the impact of post-harvest handling and manufacturing on the presence of ochratoxin A in coffee. Food Addit. Contam. 19, 655–665.
- Casale, M., Abajo, M-J. S., Saiz, J-M. G., Pizarro, C., Forina, M.,** (2006). Study of the Aging and Oxidation Processes of Vinegar Samples from Different Origins during Storage by Near-Infrared Spectroscopy. Analytica Chimica Acta, 557, 360-366.
- Chang, J., Fang, T.J.,** (2007). Survival of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against E. coli O157:H7. Food Microbiology, 24, 745–751.
- De Ory, I., Romero, L. E., and Cantero, D.,**(2002). Optimum starting-up protocol of a pilot plant scale acetifier for vinegar production. Journal of Food Engineering, 52(1),31-37.
- Delage, N., d’Harlingue, A., Ceccaldi, C. B., Bompeix, G.** (2003). Occurance of Mycotoxins in Fruit Juices and Wine. Food Control, 14, 225- 227.
- Desphande, S.S.,** (2002). Handbook of Food Toxicology, Marcel Dekker, Inc. 270 Madison Avenue, New York, NY, USA, pp387-457.
- Dohar, J. E.,** (2003). Evolution of management approaches for otitis externa. The Pediatric Infectious Disease Journal, 22, 299–308.
- EC,** (2006). Setting Maximum Levels for Certain Contaminants in Foodstuffs, B Commission Regulation (EC), EC-1881/2006, pp. 17-18.
- Elgün, A.,** (2011). Şarabın Sirkeye Dönüşümü. 1. Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi, 19-20 Kasım, Ankara, 50-58.
- Garcia-Garcia, I., Cantero-Moreno, D., Jimenez-Ot, C., Baenaruano, S., Jimenez Hornero, J., Santos-Duenas, I., Bonillavenceslada, J., and Barja, F.** (2006). Estimating the mean acetification rate via on-line monitored changes in ethanol during a semi continuous vinegar production cycle. Journal of Food Engineering, 80(2), 460-464.
- Gülcü, M.,** (2012). Erişim tarihi: 22.10.2015. Sirke Üretim Tekniği <http://arastirma.tarim.gov.tr/bagcilik/Lists/KutuMenu/Attachments/3/SIRKE.pdf>
- Gümüş, T.** (2002). Arpa, Malt ve Birada Okratoksin A (OTA) Varlığı ve Bira Üretimi Sırasında OTA'nın Maya Tarafından Parçalanması. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trakya, ss. 7-11.
- He, J., Tsao, R., Yang, R., Zhou, T.** (2009), Purification of patulin from Penicillium expansum culture: high-speed counter-current chromatography (HSCCC) versus preparative high-performance liquid chromatography (prep-HPLC), Food Additives and Contaminants 26(1): 101–107.

- Iha, M., H., Sabino, M.** (2008), Incidence of patulin in Brazilian apple-based drinks, *Food Control* 19: 417–422.
- Jackson, L. S., Al-Taher, F.** (2008). Factors Affecting Mycotoxin Productions in Fruits, *Mycotoxins in Fruits and Vegetables* (Barkai- Golan, R., Paster, N. Eds.), Academic Pres, UK, pp75- 105.
- Janotová, L., Cizkova, H., Pivonka, J., Voldrich, M.** (2011). Effect of processing of apple puree on patulin content. *Food Control*, 22, 977-981.
- Jones JM**, (1993), *Food Safety*, Chapter 7, page 141-154, Eagan Press, Minnesota.
- Juan, C., Lino, C.M., Pena, A., Moltó, J.C., Mañes, J., Silveira., I.,** (2007), Determination of ochratoxin A in maize bread samples by LC with fluorescence detection, *Talanta*, 73, 2, 246-250.
- Juan, C., Moltó, J.C., Lino C.M., Mañes J.,** (2008) Determination of ochratoxin A in organic and non-organic cereals and cereal products from Spain and Portugal, *Food Chemistry*, Volume 107, Issue 1, 525-530.
- Kabak, B.;** Var, I. Ülkemiz Açısından Sorun Olan Mikotoksinler ve Riskli Gıda Maddeleri, In *Türkiye 9. Gıda Kongresi*; Bolu, 2006, 681–684 pp.
- Karaca, H.** (2005), Kuru incirlerin aflotoksin, patulin, ergosterol içeriği ve farklı koşullarda aflotoksinlerin parçalanma düzeyleri, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Khoury, A. ve Atoui, A.** (2010). Ochratoxin A: General Overview and Actual Molecular Status. *Toxins*, 2, 461-493.
- Larsen TO, Svendsen A, Smedsgaard J.** (2001). Biochemical characterization of ochratoxin A producing strains of the genus *Penicillium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 3630–3635.
- Lawley, R., Curtis, L., Davis, J.** (2008), Patulin, *The Food Safety Hazard Guidebook*. Royal Society of Chemistry Publishing, p. 213-216.
- Lim, S., Yoon, J.W., Choi, S.H., Choa, B.J., Kim, J.T., Chang, H.S., Park, H.S., Park, K.S., Lee, H.K., Kim, Y.B., Jang, H.J.,** (2009). Effect of ginsam, a vinegar extract from *Panax ginseng*, on body weight and glucose homeostasis in an obese insulin-resistant rat model. *Metabolism Clinical and Experimental*, 58, 8–15.
- Lund, F., Frisvad, J. C.** (2003), *Penicillium verrucosum* in wheat and barley indicates presence of ochratoxin A. *J. Appl. Microbiol.*, 95, 1117–1123.
- Lund, F., Frisvad, J. C.** (2003), *Penicillium verrucosum* in wheat and barley indicates presence of ochratoxin A. *J. Appl. Microbiol.*, 95, 1117–1123.
- Magnoli, C., Astoreca, A., Ponsone, M. L., Fernández-Juri, M. G., Barberis, C., Dalcero, A. M.,** (2007), Ochratoxin A and *Aspergillus* section *Nigri* in peanut seeds at different months of storage in Córdoba, Argentina., *Int J Food Microbiol.*, 7, 17854935
- Mateo, R., Medina, Á., Mateo, E. M., Mateo, F., Jiménez, M.,** (2007), An overview of ochratoxin A in beer and wine, *International Journal of Food Microbiology*, 119, I 1-2, 79-83.
- Meerdink, G.L.** (2002). Mycotoxins. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 1, 8993.
- Mejias, R. C., Marin, R. N., and Moreno, M. V. G.,** (2002). Optimisation of headspace solid-phase microextraction for analysis of aromatic compounds in vinegar. *Journal of Chromatography A*, 953:7-15.
- Meyvacı K. B., Altindisli A., Aksoy A., 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 Addit. Contam.*, 22, 1138-11.
- Moake, M., M. Padilla-Zakour, O., I., Worobo, R., W.,** (2005), Comprehensive Review of Patulin Control Methods in Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1: 8-21.
- Moake, M., M., Padilla-Zakour, O., I., Worobo, R., W.** (2005), Comprehensive Review of Patulin Control Methods in Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1: 8-21.
- Morales, H., Marin S., Ramos, A., J. Sanchis, V.,** (2010), Influence of postharvest technologies applied during cold storage of apples in *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation: A Review, *Food Control*, 21:953–962.
- Morales, H., Marin S., Ramos, A., J., Sanchis, V.** (2010), Influence of postharvest technologies applied during cold storage of apples in *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation: A Review, *Food Control*, 21:953–962.
- Morales, H., Marin, S., Rovira, A., Ramos, A. J., Sanchis, V.** (2006). Patulin Accumulation in Apples by *Penicillium expansum* During Postharvest Stages. *Letters in Applied Microbiology*, 44, 30-35.
- Morales, M.L., Benitez, B., Troncoso, A.M.,** (2004). Accelerated Aging of Wine Vinegars with Oak Chips: Evaluation of Wood Flavour Compounds. *Food Chemistry*, 88, 305-315.
- Morales, M.L., González, G.A., Casas, J. A., Troncoso, A.M.,** (2001) a. Multivariate analysis of commercial and laboratory produced Sherry wine vinegars: Influence of acetification and aging. *European Food Research and Technology*, 212, 676–682.
- Moss, M.O.** (2008). Fungi, Quality and Safety Issues in Fresh Fruits and Vegetables. *Journal of Applied Microbiology*, 104, 1239- 1243.
- Murillo-Arbizu, M., Gonzalez-Penas, E., Amezcua, S.** (2010), Comparison between Capillary Electrophoresis and High Performance Liquid Chromatography for the study of the occurrence of patulin in apple juice intended for infants, *Food and Chemical Toxicology* 48:2429-2434.
- Öztürk, İ., Çalışkan, Ö., Tornuk, F., Özcan, N., Yalçın, H., Başlar, M., Sağdıç, O.,** (2015). Antioxidant, Antimicrobial, Mineral, Volatile, Physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars. *LWT- Food Science and Technology*. 63, 144-151.
- Paterson, R., R., M., Archer, S., Kozakiewicz, Z., Lea, A., Locke, T., O’Grady, E.** (2000), A gene probe for the patulin metabolic pathway with potential for use in patulin and novel disease control, *Biocontrol Science and Technology* 10:509- 512.
- Peraica M, Radic B, Ludc A, Pavlovic M,** (1999), Toxic Effects Mycotoxins in. Human, *Bulletin of the Health Organization*, 77(9):754-766.
- Plessi, M.** (2003). Vinegar. In: *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, Caballero B, Trugo L.C, Finglas P. M. (eds), Academic Press, Oxford, pp. 5996– 6003.
- Prescott, S.C., and Dunn, C.G.,** (1959). *Industrial Microbiology*. McGraw-Hill Book Company, Inc., USA.
- Quintela, S., Villaran, C., Armentia, I.L. ve Elejalde, E.** (2013). Ochratoxin A removal in wine: A review. *Food Control*, 30, 439-445.
- Rhee, M.S., Lee, S.Y., Dougherty, R.H., Kang, D.H.,** (2003). Antimicrobial effects of mustard flour and acetic acid against *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria*

- monocytogenes, and Salmonella enterica Serovar Typhimurium. Applied and Environmental Microbiology, 69, 2959–2963.
- Rutala, W.A., Barbee, S.L., Agular, N.C., Sobsey, M.D., Weber, D.J.,** (2000). Antimicrobial activity of home disinfectants and natural products against potential human pathogens. Infection Control and Hospital Epidemiology, 21, 33-38.
- Sengun, I.Y., Karapinar, M.,** (2004). Effectiveness of lemon juice, vinegar and their mixture in the elimination of Salmonella typhimurium on carrots (Daucus carota L.). International Journal of Food Microbiology, 96, 301-305.
- Senyuva H.Z., Gilbert J., Ozcan S., Ulken U.,** (2005), Survey for Co-occurrence of Ochratoxin A and Aflatoxin B1 in Dried Figs in Turkey by Using a Single Laboratory-Validated Alkaline Extraction Method for Ochratoxin A. Journal of Food Protection, 68, 7, 1512–1515.
- Siegel, D. ve Babuscio, T.** (2011). Mycotoxin management in the European cereal trading sector. Food Control, 22, 1145-1153.
- Silva, S., J., N., Schuch, P., Z., Bernardi, C., R., Vainstein, M., H., Jablonski, A., Bender, R.** (2007), Patulin in Food: State-of-the-art and analytical trends, Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal- SP, 29 (2): 406-413.
- Soyöz M., Özçelik N.,** (2002), Okratoksin A'nın Toksik Etkileri ve Eliminasyonu, T Klin Tıp Bilimleri, 22, 421-427.
- Suarez-Quiroz M., Gonzales-Rios O., Barel M., Guyot, B., Schorr-Galindo, S., Guiraud, J.-P.,** (2004), Effect of chemical and environmental factors on Aspergillus ochraceus growth and toxigenesis in green coffee, Food microbiology, 21, 629-634
- Tan, S.C.,** (2005). Vinegar Fermentation, Master Thesis, University of Louisiana Department of Food Science, pp:120-125.
- Tan, S.C.,** 2005. Vinegar Fermentation. Louisiana, Yüksek lisans tezi, 101s. Lafayette.
- Tayfur M,** (1993), Besininlerdeki Küfler ve Mikotoksinler, Beslenme ve Diyet Dergisi, 22(1): 101-108.
- Tayfur M,** (1996), Mikotoksinler ve Önemi, Standart, 7, 87-90.
- Tesfaye W., Morales M.L., Garca-Parrilla M.C., Troncoso A.M.,** (2002). Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. Trends in Food Science and Technology, 13(1), 12-21.
- Topal R.S.,** (2004), The mycotoxin profiles and dominant mycoflora distribution in foods and agricultural products in Turkey, British Food Journal, 106, 7, 494–511.
- Trcek, J., and Raspor, P.,** (1999). Molecular characterization of acetic acid bacteria isolated from spirit vinegar. Food Technology and Biotechnology, 37(2), 113-116.
- Trcek, J., and Teuber, M.,** (2002). Genetic and restriction analysis of the 16S-23S rDNA internal transcribed spacer regions of the acetic acid bacteria. FEMS Microbiology Letters, 208, 69-75.
- Trcek, J., Ramus, J., and Raspor, P.** (1997). Phenotypic characterization and RAPDPCR profiling of Acetobacter sp. isolated from spirit vinegar production. Food Technology and Biotechnology, 35(1), 63-67.
- Tunail, N.** (2000). Mikrobiyel enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Genişletilmiş 2. baskı, Ankara.

- Türker, İ.** (1963), *Sirke Teknolojisi ve Teknikte Laktik Asit Fermantasyonları*, Ankara Üniversitesi Basımevi, 181s. Ankara.
- Türker, İ.**, (1974). *Fermantasyon Teknolojisi*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, Ankara Üniversitesi Basımevi, No:209, 231s. Ankara.
- Ünal, E.**, (2007). *Dimrit Üzümünden Değişik Yöntemlerle Sirke Üretimi Üzerinde Bir Araştırma*, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 60s, Adana.
- Valle-Algarra, F., M., Mateo, E., M., Gimeno-Adelantado, J., V., Mateo-Castro, R.** (2009), Optimization of clean-up procedure for patulin determination in apple juice and apple purees by liquid chromatography, *Talanta* 80:636–642.
- Varga J, Kozakiewicz Z.** (2006). Ochratoxin A in grapes and grape derived products. *Trends Food Sci.Technol.* 17, 72–81.
- Varga, J., Kozakiewicz, Z.** (2006), Ochratoxin A in grapes and grape derived products. *Trends in Food Sci. Technol.*, 17, 72-81.
- Wilson B.** (1984), Hazards of Mycotoxins to Public, *Journal of Food Protection, Health*, 41:375-384.
- Wu, R., Han, F., Shang, J., Hu, H., Han, L.** (2009), Analysis of patulin in apple products by liquid-liquid extraction, solid phase extraction and matrix solid-phase dispersion methods: a comparative study, *Eur Food Res Technol* 228:1009–1014.
- Yurdugül, S., Alpas, H., Bozoğlu, F.**, (2010). Bolu, Düzce ve Zonguldak Ormanlarında Yetiştirilen Böğürtlenlerden Üretilen Böğürtlen Sirkesinin Bazı Rutin Gıda Analiz Yöntemleri ile İncelenmesi. III. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi, 20-22 Mayıs 2010, 3, 1197-1200.

ÖZGEÇMİŞ



Ad, Soyad: Ece GÜNALAN İNCİ

Doğum Tarihi: 23.03.1990

Medeni Durum: Evli

Uyruk: Türkiye

Cep Tel: 05373350247

E-posta: ecegunalan90@gmail.com

Sürücü Belgesi: B sınıfı

Adres: Acıbadem Mah. Tekin Sk. No:11 Erdem Sitesi F/19
Kadıköy/İST

Eğitim Bilgileri

Yüksek Lisans: İstanbul Aydın Üniversitesi Gıda Mühendisliği
Bölümü

Lisans: Pamukkale Üniversitesi Kimya Bölümü

Staj Bilgileri

İbrahim Ethem Ulagay İlaç 08.2011-09.2011 Stajyer Kimyager

AKSA Jeneratör 07.2013-08.2013 Stajyer İş Güvenliği Uzmanı

İş Deneyimi:

Selçuk Mesleki Ve Teknik Anadolu Lisesi: Gıda Teknolojisi Bölümünde Gıda Kontrol Laboratuvarında; Gıdalarda Temel Kimyasal Analizler Ve Gıdalarda Mikrobiyolojik Analizler Uygulama Derslerine Laboratuvar Öğretmeni Olarak Görev Aldım. (09.2014-06.2015)

İntertek Test Hizmetleri Gıda Laboratuvarı: Kıdemli Analist Olarak İntertek Gıda Laboratuvarında FTIR, HPLC-PDA Ve HPLC-UV Dedektörlü Cihazlarla A Ve C Vitamin Analizleri, Primer Aromatik Amin (PAA) Analizi, GC-MS Cihazı İle Fitalat, PCB, PAH (Ambalaj/Gıda) Ve Melamin Analizleri, LC MS/MS Cihazında Multitoksin Analizleri, Histamin

Analizi Yapmaktayım. HPLC Cihazlarında Çeşitli Toksin Analizleri, UV Spektrofotometre İle Gıdalarda Nitrit, Nitrat Ve Melamin Analizleri Yapmaktayım. Mikotoksin Grubundan Aflatoksin, Okratoksin, Aflatoksin M1, Patulin, Fumonisin, Deoksinivalenol, Zearalenon Toksinlerinin Analizlerini HPLC Cihazlarında Yapmaktayım. 08.2015-

Kurs / Sertifika Bilgisi:

- **Sertifika Adı:** 4.Ulusal Laboratuvar Akreditasyonu Ve Güvenliği Sempozyumu Ve Sergisi

Alındığı Kurum: Tmmob Kimya Müh. Odası İstanbul Şubesi

Sertifika Tarihi: 04.2018

Açıklama: 4.Ulag 4.Ulusal Laboratuvar Akreditasyonu Ve Güvenliği Sempozyumu Ve Sergisi

- **Sertifika Adı:** 3.Ulusal Laboratuvar Akreditasyonu Ve Güvenliği Sempozyumu Ve Sergisi

Alındığı Kurum: Tmmob Kimya Mühendisleri Odası İstanbul Şubesi

Sertifika Tarihi: 05.2016

Açıklama: 3.ULAG

- **Sertifika Adı:** Tehlikeli Madde Güvenlik Danışmanlığı-ADR

Alındığı Kurum: Adrtürk Uluslararası Eğitim Ve Danışmanlık Tic. Ltd. Şti.

Sertifika Tarihi: 06.2015

- **Sertifika Adı:** İş Güvenliği-İş Güvenliği Uzmanlığı Sertifikası (C Sınıfı)-İş Güvenliği Uzmanlığı Sertifikası (C Sınıfı)

Alındığı Kurum: Zirve OSGB

Sertifika Tarihi: 01.2014

- **Sertifika Adı:** OHSAS 18001;2007 İş Sağlığı Ve Güvenliği Yönetim Sistemi

Alındığı Kurum: Çukurova

Sertifika Tarihi: 05.2011

- **Sertifika Adı:** İç Denetçi Eğitimi

Alındığı Kurum: Çukurova

Sertifika Tarihi: 05.2011

- **Sertifika Adı:** ISO 22000 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi

Alındığı Kurum: Çukurova

Sertifika Tarihi: 05.2011

- **Sertifika Adı:** ISO 9001;2008 kalite yönetim sistemi

Alındığı Kurum: Çukurova

Sertifika Tarihi: 05.2011

- **Sertifika Adı:** Toplam Kalite Yönetimi

Alındığı Kurum: Çukurova

Sertifika Tarihi: 05.2011

- **Sertifika Adı:** ISO 22000;2005 gıda güvenliği yönetim sistemi iç denetçi

Alındığı Kurum: Aktif Araştırma Danışmanlık Eğitim

Sertifika Tarihi: 03.2010

