

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OZONLAMA İŞLEMİNİN KONTAMİNE ÇİĞ FINDIKLARIN
AFLATOKSİN DETOKSİFİKASYONUNA VE FİZİKOKİMYASAL
ÖZELLİKLERİNE ETKİLERİ

Müzeyyen TUNÇ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN DOÇ. DR. AHMET ŞÜKRÜ DEMİRCİ

TEKİRDAĞ – 2019

Her hakkı saklıdır

Bu tez NKÜ BAP tarafından NKU BAP.03. GA. 17. 116 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Doç. Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ danışmanlığında, Müzeyyen Dor tarafından hazırlanan “Ozonlama İşleminin Kontamine Çiğ Fındıkların Aflatoksin Detoksifikasyonuna ve Fizikokimyasal Özelliklerine Etkileri” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Prof. Dr. Ömer ÖKSÜZ

İmza :

Üye : Doç. Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ

İmza :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ömer Said TOKER

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç. Dr. Bahar UYMAZ

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

OZONLAMA İŞLEMİNİN KONTAMİNE ÇİĞ FINDIKLARIN AFLATOKSİN DETOKSİFİKASYONUNA VE FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNE ETKİLERİ

Müzeyyen TUNÇ

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ

Çalışma kapsamında; aflatoksin ile kontamine edilen fındıkların, ozon uygulaması ile detoksifikasyonu ve fındıkların fizikokimyasal kalite parametrelerinin korunması için uygun ozon doz ve uygulama süresi araştırılmıştır. Bu amaçla; piyasadan alınan çiğ fındık örnekleri aflatoksin ($B_1+B_2+G_1+G_2$) karışımı ile kontamine edildikten sonra farklı dozlarda (200 ve 600 mg/sa) ve sürelerde (30, 60, 120 dk) ozon uygulamasına tabi tutularak, çiğ fındık örneklerindeki detoksifikasyon oranı belirlenmiştir. Aynı zamanda ozon uygulamasının fındığın bazı fizikokimyasal özelliklerine etkisi de araştırılmıştır. Çalışma bulguları, ozonlama işleminin fındıkta aflatoksini etkin bir şekilde degrade edebileceğini ve degrade oranının özellikle işlem süresinin artmasıyla yükseldiğini göstermektedir. Her iki ozon konsantrasyonunda 120 dk uygulama ile fındıktaki aflatoksinlerin tamamen parçalandığı belirlenmiştir. Aflatoksin B1 ve G1 daha yüksek oranlarda parçalanma sergilemiştir. Fındıkların yağ, serbest yağ asitliği, a_w , yağ asidi kompozisyonu ve renk değerlerinde ozonlama ile önemli farklılık olmadığı ($p>0.05$), toplam fenolik ve antioksidan kapasitesinin de düşük süre uygulamalarında önemli düzeyde değişmediği belirlenmiştir. Ozonlama sebebiyle fındık yağlarının oksidasyona uğramadığı ve yağ kalitesinin önemli oranda etkilenmediği gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Ozon gazının 200 mg/sa, 120 dk ve 600 mg/sa, 60 dk uygulanması ile fındık kalite ve besleyici özelliklerini kaybetmeden, toksin miktarını limit değerlerin altına düşürecek oranda azaltarak, insan sağlığı açısından risk oluşturmayacak bir

ürün haline getirilebilir. Böylece toksin kontaminasyonu nedeniyle imha edilmesi gereken fındıkların ekonomiye kazandırılabilmesi için umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Sonuç olarak; fındıklara 200 mg/sa, 120 dk ve 600 mg/sa, 60 dk ozon gazının uygulanması ile aflatoksin parçalanması önemli oranda sağlanabilirken fındıkların kalite özellikleri de korunabilir.

Anahtar Kelimeler: Fındık, Ozon, Aflatoksin, Mikotoksin, Detoksifikasyon.

2019, 67 Sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

EFFECT OF OZONE TREATMENT ON DETOXIFICATION OF AFLATOXIN AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF CONTAMINATED HAZELNUTS

Müzeyyen TUNÇ

Tekirdağ Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor Assoc. Prof. Dr. Ahmet Şükrü Demirci

In this study, detoxification of aflatoxin contaminated hazelnuts with ozone application and appropriate ozone dose and application time for maintain the physicochemical quality parameters of hazelnuts were investigated. For this purpose, the samples of raw hazelnuts obtained from the market after being artificially contaminated with a mixture of aflatoxin (B1 + B2 + G1 + G2) subject to ozone application at different doses (200 and 600 mg/h) and times (30, 60, 120 min), and detoxification rate in raw hazelnut samples was determined. At the same time, the effect of ozone application on some physicochemical properties of hazelnut was investigated. Findings of the present show that ozone can effectively degrade aflatoxin in the nut and that the degradation ratio increases with increasing processing time. It was determined that aflatoxins in the hazelnut were completely decomposed by 120 minutes application at both ozone concentrations. Aflatoxin B1 and G1 showed higher of decomposition rates. It was determined that there was no significant difference ($p > 0.05$) in fat, free fatty acid content, a_w , fatty acid composition and color values of hazelnuts between treated and untreated samples and also, total phenolic and antioxidant capacity did not change significantly in low time applications. It was concluded ($p < 0,05$) that hazelnut oils were not oxidized due to ozonation and the oil quality was not significantly affected. With the application of 200 mg/h, 120 min and 600 mg/h, 60 min ozone gas, the amount of toxin can be lowered below the limit values and the quality and nutritional properties of hazelnut can be preserved. Thus, promising results have been obtained for the

hazelnuts that have to be destroyed due to toxin contamination. As a result; with the application of ozone gas to hazelnuts, aflatoxin decomposition can be achieved significantly while the desired quality characteristics of hazelnuts can be maintained.

Keywords: Hazelnut, Ozone, Aflatoxin, Mycotoxin, Detoxification.

2019, 67 pages

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET -----	i
ABSTRACT -----	ii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ -----	v
ÇİZELGE DİZİNİ -----	vii
ŞEKİL DİZİNİ -----	viii
1. GİRİŞ -----	1
2. KURAMSAL TEMELLER -----	4
2.1. Fındığın Genel Özellikleri.....	4
2.2. Mikotoksinler	5
2.2.1. Fındıkta aflatoksin varlığı-	8
2.3. Mikotoksinlerin Detoksifikasyonu	10
2.3.1. Mikotoksinlerin ozon uygulaması ile detoksifikasyonu.....	11
2.4. Ozon	12
2.4.1.Ozon gazının yapısal özellikleri	13
2.4.2. Ozonun etki mekanizması	15
2.4.3. Ozon üretimi.....	17
2.4.4.Ozonun insan sağlığına etkileri	18
2.4.5. Gıda endüstrisinde ozon uygulamaları	20
3.MATERYAL VE YÖNTEM -----	25
3.1.Materyal.....	25
3.2.1.Fındık örneklerinin hazırlanması.....	25
3.2.2.Aflatoksin kontaminasyonu.....	25
3.2.3.Ozon uygulaması	25
3.2.4. Aflatoksin B1, B2, G1, G2 analizi	28
3.2.5. Su aktivitesi tayini	28
3.2.6. Nem tayini	28
3.2.7. Renk analizi	29

3.2.8. Tekstür analizi	29
3.2.9. Yağ tayini	30
3.2.10. Fındıktan yağ ekstraksiyonu	30
3.2.11. Fındık yağında yapılan analizler.....	30
3.2.11.1. Serbest yağ asitliği analizi	30
3.2.11.2. Peroksit analizi	30
3.2.11.3. Yağ asitleri kompozisyonunun belirlenmesi	31
3.2.11.4. Toplam fenolik madde tayini	32
3.2.11.5. Antioksidan kapasitesi tayini	32
3.2.11.6. İstatistiksel analiz	34
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA -----	35
4.1. Ozon Uygulamasının Fındıklardaki Aflatoksin Degradasyonuna Etkisi	36
4.2. Ozon Uygulamasının Fındıkların Fizikokimyasal Özelliklerine Etkisi	40
4.2.1. Ozonlama işleminin fındıkların su aktivitesine (a_w) etkisi	40
4.2.2. Ozonlama işleminin fındıkların nem (%) oranına etkisi	41
4.2.3. Ozonlama işleminin fındıkların yağ (%) oranına etkisi.....	42
4.2.4. Ozonlama işleminin fındıkların sertlik (g) değerine etkisi	43
4.2.5. Ozonlama işleminin fındıkların renk değerlerine (L, a, b) etkisi	44
4.3. Ozon Uygulamalarının Yağ Kalite Parametrelerine Etkisi	46
4.3.1. Ozonlama işleminin fındık yağlarının serbest yağ asitliği değerine etkisi.....	46
4.3.2. Ozonlama işleminin fındık yağlarının peroksit sayısına etkisi.....	47
4.3.3. Ozonlama işleminin fındık yağlarının toplam fenolik madde miktarına etkisi	49
4.3.4. Ozonlama işleminin fındık yağlarının antioksidan aktivitesine etkisi.....	50
4.3.5. Ozonlama işleminin fındık yağlarının yağ asitleri kompozisyonuna etkisi	53
Ozon uygulamasının fındık yağlarındaki yağ asidi kompozisyonuna etkisi Çizelge 4.4.'de gösterilmiştir.....	53
5. SONUÇ VE ÖNERİLER -----	54
6. KAYNAKLAR -----	56
TEŞEKKÜR -----	67

ÇİZELGE DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. Fındıklarda tekstür ölçümünde, tekstür analiz cihazının ayarlandığı koşullar	29
Çizelge 4.1. Fındık Numelerine Uygulanan İşlemler	35
Çizelge 4.1. Farklı Ozon Konsantrasyonu (600, 200 mg/sa) ve Uygulama Süresinin (30, 60, 120 dk) Kontamine Fındıkların Aflatoksin Miktarına Etkisi (ppb)	36
Çizelge 4.2. Farklı ozon konsantrasyonu (600, 200 mg/sa) ve uygulama süresinin (30, 60, 120 dk) fındıkların çeşitli fizikokimyasal özelliklerine etkisi.....	40
Çizelge 4.3. Farklı Ozon Konsantrasyonu (600, 200 mg/sa) ve Uygulama Süresinin (30, 60, 120 dk) Fındık Yağlarının Çeşitli Kalite Özelliklerine Etkisi.....	46
Çizelge 4.4. Farklı Ozon Konsantrasyonu (600, 200 mg/sa) ve Uygulama Süresinin (30, 60, 120 dk) Fındıkların Yağ Asidi Kompozisyonuna Etkisi	53

ŞEKİL DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Corona Deşarj Yöntemi ile Ozon Gazı Elde Edilişi.....	18
Şekil 3.2. Aflatoksin Bulaştırılmış Fındık Numuneleri.....	26
Şekil 3.3. Reaksiyon Tankında Ozon Gazı Uygulanan Fındık Numuneleri.....	27
Şekil 3.4. Ozon Gazı Uygulanmış Fındık Numuneleri.....	27

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler:

%	Yüzde
<	Küçüktür
>	Büyüktür
°C	Santigrat derece
a	Kırmızı/Yeşil Renk
b	Sarı/Mavi Renk
C8-C9	Karbon 8 - Karbon 9
L*	100= Beyaz Renk, 0=Siyah Renk Parlaklık,

Kısaltmalar:

A. Flavus	: Aspergillus flavus
A. Niger	: Aspergillus niger
AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ABTS	: 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)
AF	: Aspergillus Flavus
AFB1	: Aflatoksin B1
AFB2	: Aflatoksin B2
AFG1	: Aflatoksin G1
AFG2	: Aflatoksin G2
AFSSA	: Fransız Gıda Güvenliği Otoritesi
AFT	: Toplam Aflatoksin
AOAC	: Analitik Kimyagerler Derneği
AOAC	: Amerika Analitik Kimyacılar Organizasyonu (American Organization of Analytical Chemists)
AP	: Aspergillus Parasiticus
aw	: Su aktivitesi
BOİ	: Biyolojik Oksijen İhtiyacı
CAC	: Kodeks Alimentarius Komisyonu
CCCF	: Gıda Maddelerinde Bulunanlar Kodeks Komitesi
CL2	: Klor
CLO2	: Klordioksit
cm	: Santimetre
COD	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
D	: Mikroorganizmaların %90'ını azaltmak için gereken zaman
DC- FID	: Gaz Kromatografi- Alev İyonizasyon Dedektörü
DG SANCO	: Sağlık ve Tüketici Koruma Genel Müdürlüğü
dk	: Dakika
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
E. Coli	: Escherichia Coli
EC	: Avrupa Komisyonu
EC ₅₀	: DPPH Radikali %50'sini Yakalama için Kullanılan Kimyasal Konsantrasyonu
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Ofisi
EMS	: En Muhtemel Sayı
EPA	: Çevre Koruma Ajansı
ETU	: Ethylenethiourea

FAO	: Birlesmis Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri, Gıda ve İlaç Yönetimi Dairesi
Fs	: Fransız Sertlik Derecesi
g	: Gram
GA	: Gallik Asit
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
GE	: Gıda Enstitüsü
GMP	: İyi Üretim Uygulamaları
GRAS	: Genel Olarak Güvenilir
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HCL	: Hidroklorik Asit
HDL	
Kolesterol	: High Density Lipoprotein
HOCL	: Hipokloroz Asit
HPLC	: Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
ICMSF	: Gıdalarda Mikrobiyolojik Kriterler Uluslar arası Komisyonu
ISO	: Uluslararası Standardizasyon Teskilatı
K ₂ Cr ₂ O ₇	: Potasyum Dikromat
K ₂ S ₂ O ₈	: Potasyum Persülfat
Kg	: Kilogram
KOH	: Potasyum Hidroksit
kPa	: Kilopascal
L	: Litre
LDL	
Kolesterol	: Low Density Lipoprotein
LOD	: Minimum Tespit Limiti
log	: Logaritma 10'luk Taban
LOQ	: Ölçülebilirlik Sınırı
M	: Metre
M	: Molekül Ağırlığı
M	: Molar
m ³	: Metreküp
MAM	: Marmara Arastırma Merkezi
MeOH	: Metil Alkol
meq	: Miliekivalan
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mmHg	: Milimetre Civa
mmol	: Milimol

MTL	: Maximum Tolere Edilebilir Limiti
mV	: Milivolt
N	: Normalite
N	: Newton
NABİLTEM	: Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi
NAOH	: Sodyum Hidroksit
NIOSH	: The National Institute of Occupational Safety and Health
nm	: Nanometre
NO _x	: Nitrojen Oksidin
O ₃	: Ozon
OH	: Hidroksi
OSHA	: The Occupational Safety and Health Administration
PBS	: Tuzlu Fosfat Tamponu
pH	: Asitlik ve Bazlık Derecesi
ppb	: Milyarda Bir
ppm	: Milyonda Bir
RASFF	: Avrupa Birliği Gıda ve Yem için Hızlı Alarm Sistemi
RH	: Bağıl Nem
RNA	: Ribo Nükleik Asit
Rpm	: Sabit Eksende 1dk İçinde Gerçekleşen Devir Sayısı
sa	: Saat
SÇKM	: Suda Çözünür Kuru Madde
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SEM	: Scanning Electron Micrography
sn	: Saniye
T-2 toksin	: Trikotesenler
TAC	: Toplam Antioksidan Kapasitesi
TE	: Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit)
TEAC	: Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi
TEAC	: Troloks Eşiti Antioksidan Kapasite
TEAC ABTS	: Trolox equivalent antioksidan capacity
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
THM	: Trihalometan
TUBİTAK	: Türkiye Bilim ve Teknoloji Arastırma Kurumu
USD	: Amerikan doları
UV	: Ultra viyole
V	: Volt
V	: Hacim
W	: Watt

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
μmol	: Milimol
Ms/cm	: Milisiemens/ santimetre(iletkenlik birimi)

1. GİRİŞ

Mikotoksin, küfler tarafından üretilen toksik özellikteki ikincil bileşiklere verilen genel bir isimdir (Jinab ve ark. 2012). Mikotoksin kelimesi, Yunanca fungus anlamına gelen mykes ve Latince zehir anlamına gelen toxicum kelimelerinin birleştirilmesiyle oluşmuştur. Günümüzde kimyasal yapısı tanımlanmış 400 civarında mikotoksin bulunmaktadır Kimyasal yapı bakımından farklılık gösteren bu mikotoksinlerin biyolojik aktiviteleri de farklıdır (Kirilov ve ark. 2013). En yaygın olarak bulunan mikotoksin grubu aflatoksinlerdir. Aflatoksin türevleri içerisinde en tanınmış olanlar ise aflatoksin B1, B2, G1, G2 ve M1'dir. Memelilerde yemlerle alınan aflatoksin B1 ve B2, vücutta metabolize olarak M1 ve M2 (milk toxins)' ye dönüşmekte ve süt ile atılmaktadır (Tunail 2000).

Aflatoksinler *Aspergillus seciton Flavi* üyesi küf türlerinden özellikle *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* türlerine ait suşlar tarafından üretilen ve üründe oluşumu hasat öncesi, kurutma ve depolama aşamalarında olabilen bileşiklerdir (Manonmani ve ark. 2005). Mikotoksinler içerisinde en toksik bileşikler olan aflatoksinlerin varlığı üzerine çalışmalar yoğunlaşmış ve birçok üründe varlıkları belirlenmiştir (Bhatnagar ve Garcia 2001). Ancak bazı ürünlerin mikotoksin oluşumuna daha uygun olduğu bilinmektedir. Ülkemiz açısından önem arz eden bu ürünlerden birisi de fındıktır.

Fındık, *Corylus Avellana Laciniata (Corylus Avellana L)* ve *Corylus Maxima Mill (Corylus Maxima M.)* türlerine ait ve bunların hibritlerinden oluşan ve dünya üzerinde 36-41° kuzey enlemlerinde yetişebilen, özel bir iklime ihtiyaç duyan, uzun ömürlü, çalı formunda bir kültür bitkisidir (Sobutay 2006). Dünyada fındık üretimi için uygun hava koşullarına sahip bir kaç ülkeden biri olan Türkiye, toplam dünya üretiminin çok önemli bir bölümünü gerçekleştirmektedir. Türkiye'de 550-600 bin hektar alan üzerinde üretimi yapılan fındık ile dolaylı ve dolaysız olarak milyonlarca insan ilgilenmekte olup, bu durum fındığın sosyo-ekonomik önemini artırmaktadır. Türkiye, yüksek oranda ve üstün kaliteli fındık üretimi nedeniyle, Dünya'da üretim ve ihracatta liderliğini sürdürmeye devam etmektedir (Anonim 2017a). 2016 yılı verilerine göre, ihraç edilen fındık miktarı 234.000 ton olup bunun ekonomik değeri yaklaşık olarak 2 milyar dolardır (Anonim 2017b). Fındık, ekonomiye olan katkısı dışında, beslenme yönünden, içerdiği yağ, protein, vitamin ve mineral maddeler bakımından oldukça önemli bir gıda maddesidir. Ancak bu üründe aflatoksin miktarının yüksek olması nedeniyle ihraç edilen ürünlerde, zaman zaman iadelerin yaşandığı ve bu durumun ciddi ekonomik kayıplara yol açtığı bilinmektedir.

Fındıkta küf bulaşması özellikle uygun olmayan kurutma koşullarında başlamakta ve çevresel şartların da uygun olması durumunda aflatoksin oluşumu gerçekleşmektedir. Özellikle fındıkların file yerine, toprak üzerine serilerek kurutulması küf ve toksin oluşumunu arttırmaktadır. Kontamine fındıklar, hem ekonomik kayıplara sebep olmakta hem de insan sağlığını tehdit etmektedir (Özçakmak ve Dervişoğlu 2007). Bu gibi olumsuz etkileri ortadan kaldırmak amacıyla gıda muhafaza metodlarının uygulanması gerekmektedir.

Gıdaları korumak amacı ile ısı işlem, kurutma, radyasyon, ozon uygulamaları gibi farklı yöntemler geliştirilmiştir. Bu uygulamaların avantaj ve dezavantajları, ulusal düzenlemeleri ve en önemlisi tüketicinin kabullenmesi gibi faktörler göz önünde bulundurularak seçilmesi gerekmektedir (Ekici ve ark. 2006). Bu anlamda ozon uygulamasını cazip kılan özelliklerden biri yarılanma ömrünün kısa olması ve 20-50 dk gibi kısa bir süre içerisinde hiçbir kalıntı bırakmadan tekrar moleküler oksijene dönüşmesidir (Kells ve ark. 2001). Geleneksel dezenfektanlara iyi bir alternatif olan ozonun kalıntı bırakmaması, kanserojen ve mutajen olmaması gibi avantajları ile gıda endüstrisinde kullanılabilecek önemli bir dezenfektan olduğu düşünülmektedir (Ekici ve ark. 2006).

Kurutulmuş ürünlerde fiziksel detoksifikasyonun (ısı, ışın, adsorbsiyon vb.) yanında, son yıllarda üzerinde en çok durulan metotlardan birisi de ozon uygulamasıdır. Ozon uygulaması fungal, bakteriyel bozulmaları önleme, pestisit ve kimyasal ilaç kalıntılarını elimine etme ve mikotoksin konsantrasyonunu önemli ölçüde azaltmada da etkili bir şekilde kullanılabilir (Şen ve Nas 2010). Kuru gıdalardaki mikotoksinlerin parçalanmasında etkili olan ozonun uygulama dozunun belirlenmesinde mikotoksin tipinin etkili olduğu belirtilmektedir. Bazı mikotoksin çeşitleri degradasyon için yüksek dozlarda ozon kullanımı gerekmektedir (Kuşçu ve Pazır 2004).

Ozon, oksijenin üç atomlu bir allotropu olan güçlü antimikrobiyaller arasındadır. Diğer dezenfektanlardan farklı olarak, toksik olan parçalanma ürünleri oluşturmaz ve oksidasyon yolu ile antimikrobiyal aktivite gösteren bu kimyasal gıda sanayiinde çok çeşitli patojen ve saprofit mikroorganizmalar üzerine etkilidir (Patil ve ark. 2009).

Tüm bu bilgiler doğrultusunda, araştırmanın temel amacı; aflatoksin kontamine edilmiş fındıklarda farklı ozon konsantrasyonlarının ve uygulama süresinin detoksifikasyon üzerine etkisinin araştırılması ve ozonlama ile fındık örneklerindeki toplam aflatoksin ve aflatoksin B1 miktarının Türk Gıda Kodeksinde (TGK) belirtilen limit değerlerin altına çekilmesidir. Ayrıca, ozon uygulamasının, fındıkların bazı kalite ve fizikokimyasal

özelliklerine etkisinin araştırılması da amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, fındığın kalite ve besleyici özelliklerinde önemli bir kayba neden olmadan, insan sağlığı açısından risk oluşturmayacak bir ürün haline getirilmesi için uygun ozon konsantrasyonu ve süresi tespit edilmeye çalışılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Fındığın Genel Özellikleri

Fındık *Corylus Avellana L.* ve *Corylus Maxima M.* türlerine ait ve bunların hibritlerinden oluşan kültür bitkisidir; dünya üzerinde 36-41° kuzey enlemlerinde yetişebilen ve kendine özgü bir iklime ihtiyaç duyan, uzun ömürlü, çalı formunda bir kültür bitkisidir. (Sobutay 2006).

Kaliteli fındık üretimi için en uygun ekolojik şartları Karadeniz Bölgesi sağlamaktadır. Bu sebeple fındığın gen kaynağının bundan yaklaşık 2500 yıl öncesine dayandığı ve doğal kaynağının Anadolu olduğu bildirilmektedir. Ekonomik ve teknolojik açıdan en önemli fındık türleri Tombul, Palaz ve Foşa 'dır (Şahin ve ark. 1990). En fazla yetiştirilen alanlar Artvin, Rize, Trabzon, Giresun ve Ordu illeri olmakla birlikte, yetiştiricilik denetimsiz olarak çok geniş alanlara dağılmış bulunmaktadır. Bu durum, fındıkta kalite ve verim gibi çeşitli olumsuz etkilere sebep olmaktadır. Türkiye dünyanın en önemli fındık üretici ülkesi olup, dünya fındık üretiminin yaklaşık % 70' i ülkemiz tarafından gerçekleştirilmektedir. Ülkemiz dışında İtalya, İspanya, ABD, İran ve Çin Halk Cumhuriyeti diğer önemli fındık üreticisi ülkeler olup İtalya dışında diğer ülkeler dünya ihracatında ülkemiz için önemli bir rakip olarak görülmemektedir. Ülkemizde fındık hasatı yörelere göre değişmekte olup genellikle ağustos-eylül aylarında yapılmakta ve güneş enerjisi ile doğal koşullarda kurutulmaktadır (Babadoğan 2009).

Fındığın besleyici ve sağlığa yararlı etkileri içerdiği yağ asidi kompozisyonu (genel olarak oleik asit), protein, lif, vitaminler (vitamin E), mineraller, fitosteroller (β -sitosterol), çeşitli fenolik ve antioksidan bileşiklerinden kaynaklanmaktadır (Savage ve ark. 1997). Fındık, kendine has tat, aroması ve besleyici özelliği sebebiyle fonksiyonel bileşik olarak birçok gıda ürününe ilave edilmektedir (Labell 1983). Fındık içerdiği yüksek orandaki (% 60) yağdan dolayı, diğer kabuklu yemişler gibi iyi bir enerji kaynağıdır.

Kabuklu yemiş tüketiminin sağlık açısından önemi bir çok araştırmacı tarafından vurgulanmıştır (Fraser 1992). Özellikle fındık yağı, tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri bakımından önemli bir kaynaktır. Doymuş yağ asidi miktarı düşük ve tekli doymamış yağ asidi miktarı yüksek olan yiyeceklerin kolesterol düzeylerini düşürdükleri ve dengeledikleri

bu sebepten dolayı da fındığın kalp ve damar hastalıkları riskini azalttığı belirtilmiştir (Nydahl ve ark. 1994).

Fındık, aynı zamanda çok önemli bir vitamin E kaynağı ve antioksidan madde içeriğine sahip olup bunlar vücutta serbest radikallerin oluşmasını önlemektedir (Knekt ve ark. 1991). Vitamin E'nin antioksidan özelliğine sahip olmasından ve bunun kalp-damar hastalıkları ve kansere karşı yararlı etkileri nedeniyle, fındık tüketici ve sağlık kuruluşları tarafından büyük bir ilgiyle takip edilmektedir. Yaklaşık 40 g fındık, günlük tavsiye edilen vitamin E ihtiyacını karşılamaktadır (Alaşalvar ve ark. 2003). Ayrıca, fındık iyi bir mineral kaynağı olup, özellikle yüksek miktarda magnezyum, kalsiyum, fosfor, selenyum ve potasyum içermektedir. İçerdiği minerallerin kemik gelişiminde ve sağlık üzerine etkileri net bir şekilde ortaya konulmuştur. Fındık tüm elzem aminoasitlerle beraber çoğu gerekli mineralleri içermektedir (Özdemir ve Devres 1999). Fındık, iyi bir protein kaynağı olarak süt ve et ürünleri yerine alternatif olarak kullanılabilir. Ancak üretim, hasat, depolama gibi aşamalarda fındıklar küf sorunuyla karşılaşmış, zarar görmekte. Küfler uygun şartları bulduğunda çoğalıp, sekonder metabolitleri olan kimyasal yapıdaki mikotoksinleri üretmektedirler.

2.2. Mikotoksinler

Mikotoksinler, gıda maddelerinde bulunan ve sağlığımızı tehdit eden önemli kimyasal tehlikelerden birisidir. Tarımsal ürünler hasat edildikten sonra çeşitli aşamalardan geçirilerek mamul haline dönüşmektedir. Mikotoksin oluşumu aşamasında uygulanan yöntemler bitkisel ürünlerin üretimi sırasında ortaya çıkan bir problemdir. Ürünün kurutulması mikotoksin oluşumunu teşvik eden en önemli aşamadır. Kurutulmuş ürünün depolanması dahil, hasat ve sonrasında tüm uygulamalar sırasındaki hatalar, toksin oluşumuna yol açmakta veya miktarını artırıcı etki yapmaktadır. Dünya'da tarım ürünlerinin %5-10'u insan ve hayvanlar tarafından tüketilmeden, küfler tarafından bozulmaya uğramaktadır. Küf gelişimi tarımsal ürünlerin gıda kalitesini düşürmekle birlikte, mikotoksin oluşumu insan sağlığı açısından ciddi sorunları beraberinde getirmektedir (Jalili ve Jinab 2012).

Mikotoksinler bütün toksikolojik sendromlar gibi akut veya kronik olarak karakterize edilebilir. Akut toksisite hızlı bir şekilde ortaya çıkarak belirgin toksik cevaplar oluştururken, kronik toksisite uzun süreçlerde etki gösteren düşük dozlar ve kanser gibi geri dönüşü

olmayan etkilerle karakterize edilir. İnsan ve hayvanlarda ortaya çıkan mikotoksin kaynaklı sağlık sorunlarının neredeyse tamamı kronik olarak nitelendirilmektedir (Bennett ve Klich 2003). Sonuç olarak; mikotoksinler tümör ve kanser oluşumu, gen yapının bozulması, bağışıklık sisteminin zayıflaması, sakat doğumlar gibi çok sayıda hastalığa sebep olmaktadır (Akpınar 2006).

Aflatoksin (AF) grubu, toksik ve karsinojenik ikincil metabolitlerdir ve *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus nomius* ve *Aspergillus pseudotamarii* suşları tarafından üretilmektedir (Dini ve ark 2013, Cheraghali ve ark 2007). Aflatoksinler dünyada ilk defa 1960 yılında İngiltere’de 100.000’den fazla hindi ve ördek yavrusunun ölümüne yol açan bir hastalık ile ortaya çıkmıştır. Turkey X Disease olarak isimlendirilen bu salgının kaynağının, Güney Amerika ve Afrika’dan ithal edilen ve yem olarak kullanılan yerfıstığı kuspesi olduğu tespit edilmiştir. Bu kimyasalın başlıca üreticisi olarak *A. flavus* küfü tanımlanmış ve adını da bu küf türünden alarak aflatoksin olarak isimlendirilmiştir.

Aflatoksinler, akut ve kronik toksisite göstermekte; çok çeşitli organizmalarda mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkiler sergilemektedir (Heperkan ve ark 2012, Cheraghali ve ark 2007). Aflatoksin riski yüksek olan ürünler arasında mısır, yer fıstığı, pamuk tohumu, fındık, Antep fıstığı, incir ve baharatlar yer almaktadır (El Tawila ve ark 2013, Cheraghali ve ark 2007).

Son yıllarda, insan sağlığını korumak, aynı zamanda üreticilerin ekonomik çıkarlarını kollamak amacıyla birçok ülkede gıda ve yemlerdeki mikotoksinlerin maksimum tolere edilebilir seviyeleri (MTL) belirlenmiştir (Cheraghali ve ark 2007). Bu hedef doğrultusunda birçok ülkede aflatoksin limitleri belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi (TGK) Bulaşanlar Yönetmeliğine (29.12.2011-28157) göre doğrudan tüketime yönelik fındıklarda limit değerler aflatoksin B₁ için 8 ppm, toplam aflatoksin için ise 15 ppm olarak belirlenmiştir.

Sargeant ve ark. (1961), kloroform- metanol kullanarak ince tabaka kromatografisi ile silika jel üzerinde Ultraviyole (UV) ışığı altında, aflatoksinin 4 temel bileşiğe ayrıldığı ve UV ışığı altında bu bileşenlerden ikisinin mavi, diğer ikisin yeşil floresan verdiğini saptamışlardır. Yapılan araştırmalar sonucunda, aflatoksinler B₁, B₂, G₁ ve G₂ olarak isimlendirilmişlerdir. Aflatoksinler UV ışığı altında gösterdikleri floresan özelliklerine göre, mavi floresan veren aflatoksinler olan B₁ (C₁₇H₁₂O₆) ve B₂ (C₁₇H₁₄O₆), yeşil floresan veren aflatoksinler olan G₁ (C₁₇H₁₂O₇), G₂ (C₁₇H₁₄O₇) esas bileşenlerini içermektedirler. Nesbitt ve ark. (1962), aflatoksin B₁ ve G₁’in moleküler formülünün sırasıyla C₁₇H₁₂O₆ ve C₁₇H₁₂O₇

olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar bu sonuçları elementlerin analizi ve kütle spektral (mass-spektral) verilerden elde etmişlerdir. Asao ve ark. (1965), B2 ve G2'nin aflatoksin B1 ve G1'lerin dihidro türevi olduklarını göstermişlerdir. Aflatoksin B1 ve G1' e su bağlanması ile aflatoksin B2a ve G2a'ya dönüşüm olmaktadır (Coomes ve ark.1966). Aflatoksin M1 ve M2, B1 ve B2' nin metabolitleridir (Dutton ve Heathcote 1966). Bu altı ana mikotoksini içeren aflatoksinlerin sayıları metabolitleriyle birlikte (B2a, G2a, P, Q1 ve R0) 11'i bulmaktadır (Jasenska 1993).

A.flavus tarafından yalnız aflatoksin B1 ve B2 üretilmesine karşın, *A.parasiticus* tarafından aflatoksin B1 ve B2'nin yanısıra G1 ve G2 bileşikleri de üretilmektedir. Aflatoksinler süt veren hayvanların bünyesinde değişikliğe uğrayarak süt toksini denilen M1 ve M2'ye dönüşmektedir.

Aynı durum et, yumurta gibi hayvansal ürünler için de geçerlidir. Böylece bu hayvansal ürünler küf ihtiva etmediği halde mikotoksin ihtiva etmiş olur. En güçlü mikotoksin olan aflatoksin B1'in inek tarafından, sütte görülen 4-hidroksi türevi aflatoksin M1'e dönüştüğünün bulunmasından beri süt ürünlerinin kontaminasyonuna büyük bilimsel dikkat harcanmıştır. İneklerle yapılan deneyler göstermiştir ki aldıkları aflatoksinin yaklaşık %1-4'ü sütte aflatoksin M1 olarak görülmektedir (Meral ve Boyacıoğlu 1985). Sütlerde bulunan aflatoksin M1 ve M2, aflatoksin B1 ve B2'nin 4-OH(4- hidroksi) türevleridir. Bu konuda Mısır'da yapılan bir araştırmada 24 saat süreyle aflatoksinli yemle beslenmiş süt veren keçilerin feces, süt ve plazmalarında B1, B2, G1 ve G2 bulunmuştur. Beslenme periyodunda, vücut ağırlığı ve süt verimi önemli oranda azalmıştır. Aflatoksin kontaminasyonu sütün besleyici değerini düşürmüş, yoğunlaştırmış ve ayrıca süt tozu üretimi ve peynir işleme için uygunluğunu etkilemiştir. Aflatoksin kontaminasyonu protein sentezinde kalitatif ve kantitatif değişimlere de sebep olmuş; çiftlik hayvanlarının et ve sütlerinin protein içeriklerinde azalma olmuş, kümes hayvanlarının kas dokuları ve ciğerlerinde protein sentezi düşmüştür (Selim ve ark. 1996).

En önemli aflatoksinlerden B1 ortamda çoğunlukla yüksek konsantrasyonda bulunmakta olup B2, G1 ve G2 düşük konsantrasyonlardadır. Bilinen aflatoksinlerden en toksik olanı B1'dir (Taydaş1993). Potansiyel toksik etkisi en fazla olan 6 aflatoksinin etkileri çoktan aza doğru B1> M1> G1 >B2 > M2 = G2 şeklinde sıralanmaktadır (Jay 1992).

Aflatoksinler, ısıya son derece dayanıklı maddeler olup, ancak 300 °C'nin üzerindeki ısılarda tümüyle parçalanabilirler. Bu sebeple sütte ve diğer gıdalarda bulunan aflatoksinler,

sütün pastörizasyonu, süttten süt tozu elde edilmesi veya gıdaların diğere pişirme ısılarında herhangi bir değışikliğe uğramadan kimyasal yapılarını muhafaza ederler. Aflatoksinler özellikle bu yönleriyle insan sağılığı açısından büyük risk oluştururlar (Tuncer 1987).

Aflatoksinler metanol, kloroform ve asetonunda çözünür, ışıktan kolayca etkilenir, buna karşın su ve petrol eterde çözünmezler. Sodyum hipoklorit, amonyak ve potasyum permanganat gibi kuvvetli alkali ve oksitleyici maddeler ile süratle parçalanırlar (Scott 1984). Ekonomik ve besleyici değeri yüksek olan önemli tarım ürünümüz fındıkta küfler ve metabolitleri; çoğalıp, gelişerek besin değeri kayıplarına, ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Fındık için tehlike arz eden küflerin başında *Aspergillus Flavus* gelmekte olup bu küfün üretmiş olduğı aflatoksinler ciddi zararlara neden olmaktadır.

2.2.1. Fındıkta aflatoksin varlığı

Aflatoksinler, *A. flavus*, *A. parasiticus* ve *A. nomius*'un bazı suşları tarafından üretilen ikincil metabolizma ürünleri olup en önemli mikotoksinlerdendir (Jaimez ve ark. 2000). Bu ve bunun gibi birçok küf mikotoksin ürettiğı için fındıklarda sağılık problemlerine yol açmaktadır.

Fındıkta küf kontaminasyonu, insan ve hayvan sağılığı için önemli bir risk oluşturmaktadır. Küfler sağılam gıdanın içine de girebildiklerinden bakterilerden daha fazla zarar vermektedirler. Küf gelişimi tarlada başlamakta, hasat ve uygun olmayan kurutma koşulları nedeniyle gelişebilmekte, depolama ve nakliye sırasında da bulaşma miktarı artabilmektedir (Özdemir 1997).

Sert kabuklu meyvelerde kabuk küflere ve diğere mikroorganizmalara karşı iyi bir bariyer olmakla birlikte (Bayman ve ark. 2002) kabuğun böcek veya diğere faktörlere bağılı olarak zarar görmesi, toprak ile teması, depo koşulları, kurutma sırasında sıcaklık ve bağılı nem gibi faktörlere bağılı olarak aflatoksin oluşumu ve bulaşma düzeyi artabilmektedir. Aflatoksin riskini azaltmak için gıdaların toksijenik küflerle bulaşmasının ve küflerin toksin üreteceğı ortam oluşumunun engellenmesi gerekmektedir (Magan ve Olsen 2004, Barung ve ark. 2006). Bulaşmanın olduğı gıda maddesinin bileşimi, depolama süresi, böceklerden kaynaklanan hasarlar, kabuğun zarar görmesi küf gelişimini ve toksin oluşumunu etkileyen diğere faktörlerdir (Campbell ve ark. 2003).

Fındıkta küf gelişimi iki açıdan önem taşımaktadır. Birincisi; küf gelişmesine bağlı olarak fındıkta serbest yağ asitlerinin oluşumu, ikincisi mikotoksin özellikle de aflatoksin oluşumudur (Sipahioğlu ve Heperkan 2000). Aflatoksin oluşumu hasat öncesi, hasat, kurutma, nakliye ve depolama sırasında olabilmektedir (Smith 2001). Kabuklu fındıkta *A. flavus* ve *A. Parasiticus* gelişmesi kabuk yüzeyinde ağaçta başlamakta, ürünün toprakla teması doğrultusunda ve hasat işlemleri boyunca da artabilmektedir. Eğer dış kabukta zedelenme varsa iç fındıkta da küf gelişmesi görülmektedir (Heperkan 2003).

Kurutma yöntemi ve kurutma sırasındaki koşullar bir taraftan toksijenik küf bulaşmasında neden olmakta, diğer taraftan küfün toksin oluşturmasını etkilemektedir. Kurutma aynı zamanda strese yol açarak bitkinin savunma mekanizmasını zayıflatmaktadır. Kurutma sırasında ürünün toprakla teması; kabuğun, bitkinin veya meyvenin zedelenmesi; böcek ve benzeri zararlıların yol açtığı hasarlar, küflerin bulaşmasına ve mikotoksin oluşumuna yol açmaktadır (Akpınar 2008, Şen ve Nas 2010). Fındığın serme yerine filede kurutulması ile daha az hasar, kısa sürede kuruma, yüksek randıman, düşük oranda küf bulaşması ve mikotoksin oluşumu belirlenmiştir (Heperkan 2014).

Ülkemizde üretilen fındıkların %75'i ihraç edilmekte, fakat zaman zaman fındıkların aflatoksin içermesi sebebiyle ihracatta sıkıntılar meydana gelmekte, fındıklar iade edilmekte veya fiyatının düşürülmesi yoluna gidilmektedir. Tüketici ülkeler ve dünya piyasaları kanserojen olan aflatoksin açısından riskli ürünlerde aflatoksin limitinin sıfıra indirilmesini hedeflemektedir. Türkiye açısından aflatoksin sorunu 1967 yılında Kanada'ya ihraç edilen 10 ton iç fındığın ve 1971'de ABD'ye ihraç edilen Antep fıstığının aflatoksin içerdiği gerekçesiyle geri çevrilmesi sonucunda gündeme gelmiştir. 2008 yılı kabuklu fındık ve işlenmiş fındık ürünleri için Avrupa Birliği Gıda ve Yem için Hızlı Alarm Sistemi (RASFF)'nin kayıtlarına göre "Hızlı Alarm" sayısı 68 olarak belirlenmiştir. 2009 Yılı içerisinde ise verilen 85 uyarının 74 adedi Türkiye menşeli fındık ve fındık mamulleri içindir. 2011 yılında fındık için uyarı sayısı 17 olurken, 2012 yılında uyarı sayısı 4'e düşmüştür (Heperkan 2014).

1987-2003 yılları arasında Karadeniz ve Akçakoca bölgesinden toplam 1303 fındık örneğinde aflatoksin aranmış ve limitin üstündeki oran %3.8 olarak saptanmıştır. Bu değerlendirmede limit değer olarak toplam aflatoksin için 4 ppb, B₁ için ise 2 ppb alınmıştır. Bu örneklerin bazılarında hiç aflatoksine rastlanmazken, bazı örneklerde 135 ppb gibi oldukça yüksek değerler belirlenmiştir (Aluç ve Aluç 2003).

Fındıkta aflatoksinlerin varlığı ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda; toplam aflatoksin limitini geçen örnek yüzdesi sırasıyla %0, %2 (Ayçiçek ve ark. 2005), %15 (Bacaloni ve ark. 2008), %3.9 (Ozay ve ark. 2008) ve %1.25 (Bircan ve ark. 2008) bulunurken aflatoksin B₁ limitini geçen örnek yüzdeleri %0 (Blesa ve ark. 2004), %2 (Ayçiçek ve ark. 2005), %0 (Gürse 2006), %10 (Bacaloni ve ark. 2008), %1.25 (Bircan ve ark. 2008) ve %5.55 (Başaran ve Özcan 2009) olarak belirlenmiştir.

2.3. Mikotoksinlerin Detoksifikasyonu

400'den fazla mikotoksin bilinmesine rağmen, gıda ve yemlerde bulunan, insan ve hayvanların sağlığı için risk oluşturan başlıca mikotoksinler; aflatoksinler, okratoksinler, zearalenon, fumonisinler, trikotesenler (T-2 toksin, deoksinivalenol) ve ergot alkaloidleridir.

Gıdalarda ve metabolizmada mikotoksin üç aşamada kontrol altına alınabilmektedir:

- I. Küf kontaminasyonunun ve bu kontaminasyonun yayılmasının önlenmesi
- II. Kontamine olmuş ürünlerin detoksifikasyonu
- III. Toksin içeren gıda tüketildiğinde sindirim sisteminde mikotoksin absorpsiyonunun engellenmesidir.

Gıdalarda bulunan mikotoksinlerin sağlığa zararlı etkilerini inhibe etmek ve bu metabolitlerin uzaklaştırılması için etkili detoksifikasyon yöntemleri uygulanmaktadır.

Detoksifikasyon yöntemlerinin kabul görebilmesi için; toksini inaktif etmeli, parçalamalı veya uzaklaştırmalı, ortama yeni toksik maddeler bırakmamalı, ürünün besin değerini korumalı ve uygulanan ürünle ilgili teknolojik prosesleri değiştirmemelidir. En uygun mikotoksin detoksifikasyon yöntemleri, toksinleri karbondioksit ve suya kadar tamamen parçalayabilen yöntemlerdir (Omak ve ark. 2016).

Mikotoksinlerle mücadele etmenin çeşitli yolları vardır. Fiziksel yöntemler, kimyasal yöntemler ve biyolojik yöntemler olarak çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin olumlu ve olumsuz yanları vardır. Ürün çeşidine göre uygun yöntem seçilebilir.

Kimyasal yöntemler olarak amonyak, ozon ve adsorbanların uygulanması sayılırken, biyolojik yöntemler olarak mikrobiyal inaktivasyon işlemleri ve fiziksel inaktivasyon olarak

mekanik işlemler, dansite ayırımı, ısı uygulaması ve ışın uygulaması sayılabilir (Keser ve Kutay 2009).

2.3.1. Mikotoksinlerin ozon uygulaması ile detoksifikasyonu

Aflatoksin üzerine ozon uygulanmasıyla ilgili olarak; McKenzie (1997) aflatoksin içeren mısır ve pirinç ununda yaptığı denemede ağırlıkça %2 ozon solüsyonunda aflatoksin B1 ve aflatoksin G1'in hızla yıkımlandığını ve aflatoksin B2 ile aflatoksin G2'nin parçalanması için daha yüksek miktarda ozona gereksinim duyulduğunu bildirmiş ve tamamen parçalanmasının 15 sn. süreyle ağırlıkça %20 ozon kullanarak gerçekleştiğini belirtmiştir. Aynı araştırmacının 1998'de yaptığı bir çalışmada 92 saat süresince ağırlıkça % 14 ozon ile 200 mg/dk. akış oranında ozon ile muamele edilmiş mısırlarda aflatoksinin % 95 oranında azaltılabildiğini ve ozonla muamele edilmiş mısırla beslenen hindilerde herhangi bir zararlı etkinin oluşmadığını rapor etmiştir (McKenzie 1998).

İnan ve ark. (2007)'nin yaptıkları çalışmada; 33 mg/l dozda 60 dk ozon uygulamasının kırmızı pul biberdeki aflatoksin B1 miktarını %80 oranında azalttığını belirlemişlerdir.

Yer fıstığı üzerine yapılan çalışmada; sıcaklık ve ozonlama süresinin aflatoksin seviyesinin azalmasında önemli etkisinin olduğu ve maksimum parçalanmanın 75 °C ve 10 dk'lık muamele sonucunda %77 oranında gerçekleştiği belirtilmiştir (Proctor ve ark. 2004).

Zorlugenç ve ark. (2008); gaz ve sulu formdaki ozonun aflatoksin B1 kontamine edilmiş kuru incirlerin detoksifikasyonunda önemli etkisinin olduğunu belirlemişlerdir. 30, 60 ve 180 dk gaz ozon uygulamasının sırasıyla %48.77, 72.39 ve 95.21'lik azalmaya sebep olduğu; 180 dk sulu formda ozon uygulaması ile de aflatoksin B1 seviyesinin 21 µg/kg'dan 1.01µg/kg'a düştüğü tespit edilmiştir.

Bir diğer çalışmada; yerfıstığındaki toplam aflatoksin ve aflatoksin B1 oranının 6.0 mg/l doz ve 30 dk ozonlama ile sırasıyla %65.8 ve %65.9 azaldığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada yerfıstığı örneklerinin kalite özellikleri de incelenmiş ve polifenol, resveratrol, asit değeri ve peroksit değerinde ozonun önemli (p>0.05) bir etki göstermediği bulunmuştur (Chen ve ark. 2014).

Alencar ve ark. (2012) yerfıstığı örneklerini 96 saat boyunca 21 mg/l 'lik ozon gazına

maruz bırakarak, toplam aflatoksin ve aflatoksin B1 miktarında sırasıyla %30 ve %25 oranlarında detoksifikasyon elde etmişlerdir.

Antepfısıtığına 9.0 mg/L ve 90 dk ozonlama ile aflatoksin B1 ve toplam aflatoksin seviyelerinin sırasıyla %23 ve %24 oranında azaldığı, pH, renk, nem, serbest yağ asitliği değerlerinde ve yağ asidi kompozisyonunda önemli değişiklik olmadığı belirlenmiştir (Akbaş ve Özdemir 2006).

Maeba ve ark. (1988)'nin aflatoksin B1, G1, B2 ve G2' nin ozonla detoksifikasyonu ile ilgili araştırmasında aflatoksin B1 ve G1'in oda sıcaklığında 1.1 mg/l gibi düşük dozdaki ozon ile 5 dk. içerisinde kolayca yıkımlandığını aflatoksin B2 ve G2'nin ise ozona karşı daha dayanıklı olduğunu belirtmiş ve bu aflatoksinlerin ancak 34.4 mg/l dozdaki ozonla 50-60 dk. içerisinde tamamen yıkımlanabildiğini bildirmiştir. Bu araştırmacılar ayrıca bu toksinlerin ozonla mutajenik aktivitelerinin de önlendiğini ve ozonla muamele edilmiş aflatoksin B2'nin ratlarda akut bir etki yaratmadığını göstermişlerdir. Aflatoksinlerden başka ozonun siklapiyazonik asit, fumonisin B1, okratoksin A, patulin, sekalonik asit D ve zearalenon üzerine yıkımlayıcı etkisi de araştırılmıştır. Bu mikotoksinlerin sulu çözeltilerinin ağırlıkça % 10 ozon ile muamele edilmesi 15 sn. içerisinde mikotoksin konsantrasyonunu 32 M'den HPLC ile tespit edilemeyecek seviyeye düşürmüştür (Keser ve Kutay 2009).

2.4. Ozon

Gıdalardaki mikrobiyolojik ve kimyasal bozulmalar nedeniyle gıdaların kalitesini, muhafazasını ve güvenilirliğini arttırmak amacıyla çeşitli uygulamalar denenmekte ve endüstriye entegre edilmektedir. Bu yöntemlerden birisi olan ozon uygulamasının alternatif bir çözüm olabileceği belirtilmiştir (Bott 1991; Graham 1997). Ozon gazı yapısı gereği depolanamaz veya taşınamaz. Bu sebepten dolayı ozon işlem sırasında üretilip direk uygulamaya geçilmelidir. Ozon yapay olarak 188 nm'de Ultraviyole Radyasyon ve corona desarj yöntemiyle üretilmektedir (Kim ve ark. 1999a). Bunun yanı sıra termal, kimyasal ve elektrolitik metotlarla ozon üreten sistemler de mevcuttur. Meyve, sebzelerde ve çeşitli gıdalarda kısacası gıda endüstrisinde; ozon uygulamaları çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilebilmektedir. Bu uygulamalar; su ile yıkama, ozon atmosferinde depolama ve belirli bir süre ozon gazı ile muamele etme şeklinde yapılmaktadır.

Uzun yıllardır kullanılan dezenfeksiyon yöntemleri günümüz şartlarında değişen mikrobiyel çeşitlilikten dolayı ve zararlı bileşikler ya da parçalanma ürünlerine sebep oldukları için güvenli görülmemektedir (Khadre ve ark. 2001). Dezenfektan uygulaması ile ilgili yürütülen araştırmalarda, dezenfektanın çevre dostu ve gıda prosesine olumsuz etkide bulunmayacak, kullanımı sırasında sağlık açısından zararlı kalıntı bırakmayan, mikrobiyal yönden patojenler, sporlar da dahil geniş bir etki spektrumuna sahip olan etkin maddelere yönelmiştir (Karaca ve Velioğlu 2007).

Çok az işlem aşamasından geçen gıdaların dokularında hasar meydana geldiği için raf ömrü; işlem görmemiş gıdalara kıyasla çok daha kısa olmaktadır (Barriga ve ark.1991). Bu sebepten dolayı minimal işlem görmüş gıdaların raf ömrünü arttırabilmek için depolama öncesi çeşitli çözeltilere daldırma ve yıkama teknikleri üzerine bir çok çalışma yapılmaktadır (Simons ve Sanguasri 1997). Bu teknikler uygulanırken dezenfektan maddelerden yararlanılmaktadır (Martinez-Sanchez ve ark. 2006). Dezenfektan madde olarak ozon, klor ve hidrojen peroksit üzerinde birçok araştırma yapılmaktadır. Klora alternatif olarak ozon gazının en önemli avantajı klorun oluşturduğu zararlı bileşikleri oluşturmamasıdır (Skog ve Chu 2001, Grass ve ark.2003).

2.4.1.Ozon gazının yapısal özellikleri

Ozon, 1840 yılında Schonbein tarafından keşfedilmiş olup ilk olarak antimikrobiyal etkisi nedeniyle içilebilir sularda kullanılmaya başlanmıştır. Klor ve diğer dezenfektanlara göre %52 daha etkili ve daha geniş bir spektrumda mikroorganizma gelişimini etkilemesi sebebiyle gıda sanayinde kullanılmaya başlanmıştır. 1997 yılında Amerikan Gıda ve İlaç dairesi (FDA) tarafında GRAS statüsü kazanan ozon, 2001 yılından itibaren “gıdalarla doğrudan temasında sakınca olmadığı” yönündeki kararlarla gıda endüstrisinde kullanım alanı bulmuş alternatif bir koruma yöntemidir. Önceleri sadece içme sularının dezenfeksiyonu için kullanılmakta olan ozon (O₃) bu tarihten itibaren gıda sanayinde farklı proses aşamalarında koruyucu olarak kullanılmaktadır (Çatal ve İbanoğlu 2010).

Ozon (O₃), atmosferde doğal olarak bulunan ve kimyasal yapısı oksijenin üç atoma sahip şekli olarak ifade edilmektedir. Ozon tabakası, canlıları güneşin zararlı ışınlarına karşı koruyan bir kalkan görevi görmektedir. Güneşten gelen radyasyonunun yeryüzüne ulaşarak canlılar üzerinde genetik zararlara yol açabileceği ifade edilmektedir. Gökyüzüne mavi rengi

ozon gazı vermektedir (Ersoy ve Sanver 1994). Doğada, ozon güneşin ultraviyole ışınları ya da yıldırım vasıtasıyla havadan ayrışmasıyla oluşmaktadır. Yağmur esnasında yıldırımlarla oluşan doğal bir temizleyici olan ozon, güvenlik açısından kullanılan en güçlü oksitleyici, geleneksel kimyasallara göre yan etkisi olmayan alternatif su ve hava temizleyicisi olarak kabul edilmektedir. Ozon, kararsız yapıda olduğu için depolanamaz, yerinde üretilmeli ve hemen kullanılmalıdır (Pascual ve ark. 2007).

Ozon, oda sıcaklığında gaz formundadır. Ozonun oksidasyon yeteneği diğer oksidan ajanların potansiyellerinden oldukça yüksektir. Yüksek oksidasyon gücü sayesinde, mikroorganizmaların yok edilmesinde oldukça etkindir (Kuşçu ve Pazır 2004).

Ozon gazı ticari olarak üretilen, doğal tek dezenfektandır. Ozon görevini tamamladıktan sonra kısa sürede yarılanarak hammaddesi olan oksijene dönüşmektedir. Böylece çevreye hiçbir zararı yoktur (Jacqueline 1981, Meunier ve ark. 2006).

Ozon gazı, 0.02-0.05 ppm gibi çok düşük konsantrasyonlarında bile fark edilebilir karakteristik, keskin bir kokuya sahiptir. 0.1 ppm konsantrasyonlarda gaz ve solunum yolunu tahriş edebilmekte ve yüksek konsantrasyonları ölümcül olabilmektedir (Leh 1973).

Ozon gazı, kararsız yapıda olduğu için suda kendiliğinden ayrışarak çözünmüş halde oksijen ve oksitleyici radikaller oluşturur. Reaksiyon sonucu oldukça reaktif oksitleyici ajanlar olan serbest hidroksil radikalleri oluşur, fakat bu radikallerin yarı ömürleri oldukça kısadır. Bu yüzden ozon gazı çevreye dost bir dezenfektan olarak düşünülmektedir. Suda çözünmüş halde bulunan ozon; ortamdaki bileşiklerin direkt oksidasyonu yoluyla reaksiyona girebilir ya da ozonun ayrışması sırasında açığa çıkan serbest hidroksil radikalleri yoluyla çeşitli bileşikler oksitleyebilir (USEPA 1999). Ozonun ayrışması sırasında, suda bulunan maddelerle etkileşime girerek çeşitli yan ürünlerin oluşması söz konusu olabilmektedir. Eğer suda bromür iyonları varsa, son ürün olarak bromlanmış yan ürünler ortaya çıkabilmektedir. Yine ozon dezenfeksiyonunun bir sonucu olarak aldehit ve formik asit oluşumu görülebilmektedir (Liberti ve Notarnicola 1999). Ozonla dezenfeksiyon sırasında ortamda bulunan iyodur, iyodata dönüşür fakat iyodat sindirim sisteminde hızla metabolize olup tekrar iyota dönüştüğü için zararsız yan ürün olarak kabul edilir. Ortamda bulunan bromat için aynı masumiyet söz konusu değildir; potansiyel karsinojen etkisi ve çoğu diğer organik yan ürünlerden farklı olarak ozonlama basamağını takiben biyolojik filtrelerden geçirilme işleminde ayrıştırılmadığından dolayı halen en çok ilgilenilen, endişe uyandıran yan üründür

ve ozonlama işleminin optimizasyonunda bromat oluşumunun minimize edilmesi gerekmektedir. Bromat oluşuktan sonra ortadan kaldırılması ekonomik olmadığı için ve en iyi bromat minimizasyon stratejisinin pH'nin düşürülmesi ya da amonyak ilavesi olduğu araştırmalarda yer almaktadır (Von Gunten 2003). Dezenfektan yan ürünlerinden bazıları toksik ya da karsinojenik olabilir, ancak biyolojik deneysel tarama çalışmaları, ozonlanmış suların klorlanmış sulara göre çok daha düşük mutajenik özellikte olduğunu göstermiştir (Victorin 1992). Dezenfektan olarak ozon, klordan daha güçlü olup, klorla dezenfeksiyon sırasında son derece toksik ve karsinojen olan trihalometan (THM) olarak adlandırılan ve böbrek, mesane, kolon kanseri gelişiminde rol oynayan maddelerin oluşumu ozonla dezenfeksiyonda gözlenmemektedir. Klorlama işlemi; THM yanında kloroform, karbon tetraklorit, klorometan oluşmasına da neden olur. Ozonlama işleminde ise; işlenmemiş suda bromur iyonları olmadığı sürece, sudaki doğal organik maddelerle tepkimeye girdiğinde THM gibi halojenlenmiş yüksek karsinojen yan ürünler oluşturmaz (USEPA 1999).

2.4.2. Ozonun etki mekanizması

Doğadaki ozonun %90' ı strotosfer tabakası içinde yer alırken %10'u troposfer tabakası içerisinde yer alır. Strotosfer tabakasında bulunan ozon güneşten gelen ultraviyole ışınlarını engelleyerek yarar sağlarken; troposferde bulunan ozon canlıların solunum sistemlerini olumsuz etkilerken hava kirliliğine de sebep olmaktadır. Akciğer ve gözler kolaylıkla oksitlendiği için ozon gazından en çok bu organlar etkilenir. Ozon gazının zararlı etkisi ortamdaki yoğunluğuna, ortamın sıcaklığına, nemine ve etkilenme süresine göre değişir. Direkt maruziyette canlıları olumsuz etkilerken, doğada güneşin zararlı etkilerinden koruyucu olarak, sanayi de ise gıda, veterinerlik, tıp, tekstil alanlarında insanların hizmetindedir (Babucçu 2011).

Ozon mikroorganizmaların hücrelerini ve membranlarını parçalayarak, enzim sistemini okside edip hücre solunumunu sonlandırarak mikroorganizma faaliyetini sonlandırmaktadır (Alparslan ve ark. 2012). Ozon Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler üzerinde etkili olurken virüs ve protozoonlar için de oldukça etkilidir (Greene ve ark. 1993). Ozon, proteinleri lipidlerden daha kolay ve hızlı okside etmektedir (Komanapalli ve Lau 1998). Ozonun bu etkisi gram pozitif bakterilerin, gram negatif bakterilere göre daha hızlı okside olduğunu ortaya koymaktadır (Pryor ve ark. 1992).

Yapılan bir çalışmada (Thanomsub ve ark. 2002); SEM (Scanning Electron Micrography) morfolojik paternlerine göre ozona maruz kalan bakterilerde meydana gelen değişikliklerin şiddeti 3 gruba ayrılarak incelenmiştir. Birinci grupta 30 dk ozona maruz kalan bakteriler gözlemlenmiştir. Bu aşamada; hem Gram (-) hem de Gram (+) grupta ozonla muamele edilen bakterilerin yüzey yapılarında hasar ve deformasyon gözlemlenirken, kontrol gruptaki bakteri yüzey yapılarının sağlam olarak korunduğu gözlenmiştir. Ozmotik basınç altında yapılan ozon uygulaması, hücre bütünlüğünü geniş ölçüde etkilerken, düşük konsantrasyonlarda bakteri hücreleri canlılıklarını tamamen yitirmektedir. İkinci grupta 60 dk ozona maruz kalan bakteriler bu aşamada bakteriyel canlılığın kritik noktası olarak tanımlanmıştır. Çünkü çoğu bakteri hücresi benzer şekilde düzensiz hasar ve deformasyon paterni göstermiş olup, SEM fotoğraflarında da hücre tahribat sonucu oluşan hücre kalıntıları açıkça görülmektedir. Bu uygulamada bakteri hücrelerinin sitoplazması patlayarak ortama dağıldığı ve bakteri hücresi etrafında pürüzlü partiküllerin oluştuğu gözlemlenmektedir. Bu durum bakteri ölümünün göstergesidir. Üçüncü grupta ozonla 90-120 dakika muamele edilmiş bakteri grubu gözlemlenmiştir. Bu uygulamada bakteri hücrelerinde şiddetli bir şekilde tahribat oluşmuş, Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin her ikisinde de hemen hemen tüm hücre yapılarının parçalandığı ve bakteri hücre kalıntılarının kümeleşmiş bir şekilde ortama dağıldığı gözlenmiştir. Ancak yüksek konsantrasyonlardaki bakteri grubunda, 150 dakikalık maruziyet sonrasında bile bakteriler hala canlılıklarını sürdürebildiği gözlenmiştir. Bunun nedeni bol miktardaki hücre kalıntıları ve intraselüler bileşenlerin ozonun bakteriler üzerine nüfuz etmesini engellemesi ve böylece yeterli oranda inaktivasyon sağlamasını engellemesi olabilir (Thanomsub ve ark. 2002).

Beuchat ve ark. (1999) çalışmalarında ozon uygulamasının *A. Flavus* ve *A. Parasiticus* küf türleri üzerine etkisini incelemişlerdir. 1.74 ppm ozona maruz bırakılan *A. flavus* sporlarının D değeri pH 5.5 ve 7.0'de sırasıyla 1.72 ve 1.54 dk olarak bulunurken, *A. parasiticus* sporları için bu değer sırasıyla 2.08 ve 1.71 dk olarak belirlenmiştir.

Ozon dezenfeksiyonuna Koliformlar ve *Salmonella* gibi patojenler oldukça duyarlıdır. *Streptococci*, *Shigella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumonia* ve *Escherichia coli* gibi mikroorganizmaların diğer bakteriler de ozon dezenfeksiyonuna duyarlıdır (Chang ve Sheldon 1989).

Mikroorganizmaların çoğunluğu ozona karşı hassasiyet gösterirken çevresel faktörler (sıcaklık, pH, nem, katkı maddeleri vb.) ve fizyolojik şartlar ozon uygulaması sonucunda

gerçekleşen inhibisyonda son derece önemlidir (Kim ve ark. 1999b). Örneğin; çevre sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda ozonun antimikrobiyal gücü artmaktadır (Herbold ve ark. 1989). Ozon yüksek nem içeren (%60) ortamlarda oldukça aktif olup çok az uygulamalarda bile patojenleri yok ettiği yapılan araştırmalar sonucunda tespit edilmiştir (İleri ve Sezen 2003).

Bakteriophage λ, *Candida albicans*, *E. coli* üzerine 600 ppm yoğunlukta oda sıcaklığında ozonun etkisi incelenmiş olup; *Bakteriophage λ*'nın, 10 dakikada tamamen inaktive olduğu gözlemlenirken, *E. coli* ve *Candida albicans* 'da 40 dakikada 10^5 ve 10^4 oranında azalma gözlenmiştir (Komanapalli ve Lau 1998).

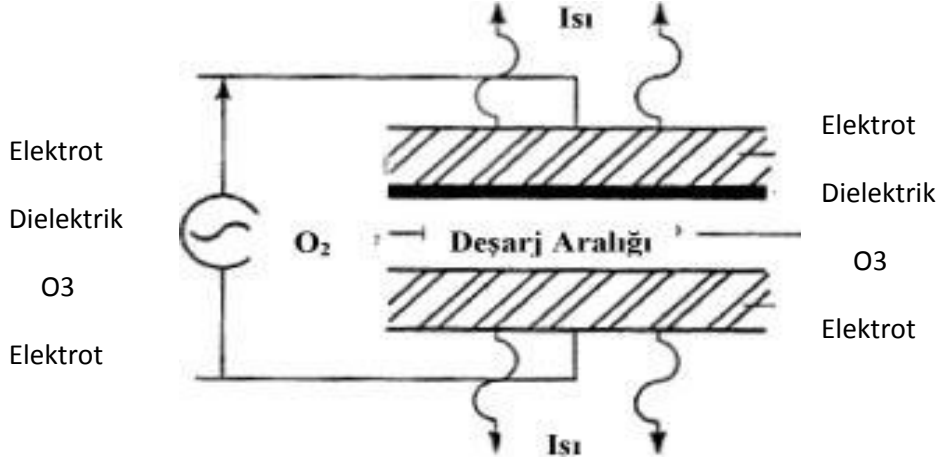
Ozonun arpa yüzeyindeki küf sporları ve miselleri üzerinde oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir (Allen ve ark. 2003).

2.4.3. Ozon üretimi

Ozon; doğada doğal olarak atmosferin üst katmanlarında (stratosferde) güneş kaynaklı ultra viyole (UV) ışınlarının oksijenle fotoreaksiyonu sonucu ayrıca atmosferin alt katmanlarında da kirleticilerin fotokimyasal oksidasyonu aracılığıyla oluşmaktadır. Doğada endotermik bir reaksiyon sonucu; bir oksijen atomu ve bir oksijen molekülünün birleşmesi ile oluşur (Andersen ve Sarma 2002). Diğer yandan ozon fotokimyasal sistemlerde nitrojen oksidin (NO_x) ve endüstriyel işlemler, taşıtlar ve diğer kaynaklardan yayılan uçucu organik bileşiklerin fotoreaksiyonuyla da oluşup hava kirliliğine sebep olmaktadır (Isaksen 1998).

Yapay olarak, laboratuvar ortamında oksijen içeren gazlara UV radyasyon ya da elektrik akım uygulanarak ozon gazı üretilebilmektedir. Ozon gazı oldukça reaktif bir gaz olduğu için depolanamaz ve taşınamaz bu yüzden kullanılacak alanda bulunması gerekir (De Fabo 2000). Ozon gazı endüstride corona discharge (elektrik boşalması) yöntemi uygulanarak üretilmektedir. Bu yöntemde oksijen bakımından zengin bir gaz; bir yalıtkan ve bir boşalma aralığı ile ayrılmış iki elektrot arasından geçirilmekte ve elektrotlara elektrik akımı verilip yüksek enerji sayesinde oksijen molekülleri parçalanır ve kararsız hale geçer ve ortamda bulunan oksijen molekülleri ile birleşip 3 oksijen atomlu ozon oluşur, böylece oksijen moleküllerinin birleşmesi için gerekli enerjiyi sağlamış olur (USEPA 1999). Ozon üreten bir sistem genellikle dört bileşenden oluşur; güç kaynağı ya da ozon üreten jeneratör, gaz kaynağı, ozon dağıtma sistemi ve bir de istenmeyen gazlar yok eden bir sistemden

oluşmaktadır. Corona deşarj yöntemi ile ozon gazı elde edilişi şekil 2.6.3.1.1. de gösterilmiştir. Gaz kaynağı; hava ya da yüksek saflıkta oksijen sağlar. Kullanılacak hava temiz ve kuru olmalı, kontaminantlardan uzak olmalı ve jeneratörün hasarını önlemek için -60 °C lik maksimum bir yoğunlaşma noktasına sahip olmalıdır (USEPA 1999). Corona Deşarj metodunun dışında kimyasal, termal, kemonükleer ve elektrolitik metotlarla da ozon elde edilebilmektedir (Kim ve ark. 1999a).



Şekil 2.1. Corona Deşarj Yöntemi ile Ozon Gazı Elde Edilişi

Ozon konsantrasyonu genelde fotometre ile ölçülmektedir. Bunun için mor ötesi dalga boyuna yakın 254 nm bandı kullanılır. Ozon terapide genellikle “gama” birimi kullanılır. Bu 1 mL ozon/oksijen karışımında 1 µg ozon demektir (Babucçu 2011).

2.4.4.Ozonun insan sağlığına etkileri

Yer seviyesindeki ozon, USEPA (United States Environmental Protection Agency) tarafından önemli bir hava kirletici olarak düşünülmüş ve ortalama 8 saatlik bir periyotta havadaki ozon konsantrasyonu 0.08 ppm olarak belirlenmiştir. NIOSH (The National Institute of Occupational Safety and Health) üst sınır olarak 0.1 ppm (0.1 mg/L=0.2 mg/m³)’ i tavsiye etmiş ve hiçbir zaman bu sınırın aşılması gerektiğini vurgulamıştır. FDA (The Food and Drug Administration) kapalı tıbbi cihazlarda 0.05 ppm den daha yüksek ozon çıkışına müsaade etmemektedir. OSHA (The Occupational Safety and Health Administration)’ nın ozon için müsaade ettiği maksimum maruziyet seviyesi ortalama 8 saatlik bir periyotta 0.1 mg/L (ppm)’ dir (USEPA 1999).

Ozon; güçlü bir oksidan ve doğal olarak biyoreaktif (Klaasen 2001) olduğu için insanlar için toksiktir ve 0.2 ppm üstündeki seviyelerinin geçici respiratuvar semptomlar, solunum fonksiyonlarında zayıflama ve inflamatuvar değişikliklere neden olduğu kontrollü deneylerle tespit edilmiştir (Krishna ve ark.1995). Özellikle ağır işlerde çalışanlarda olmak üzere göğüs kafesinde ağrı ve öksürük gibi az sayıda vaka yanı sıra, insanların çoğunun semptomatik olarak ozonlamadan etkilenmediği deneysel olarak kanıtlanmıştır. Ancak uzun süren ozon maruziyetinde özellikle potansiyel genotoksik etkisi söz konusu olabilmektedir (Victorin 1992). Ozon gazına solunum yoluyla maruziyet sonucu ve deri, göz ve müköz membranlarla temas durumunda, doku tahribatına neden olabileceği deneysel olarak tespit edilmiştir. Yüksek maruziyet ile bağırsak, mide bulantısı, kusma ve göğüs ağrısı ve nefes darlığı gibi etkiler görülebilmektedir. Ayrıca akciğerleri tahrip edebilmekte, öksürük ve/veya solunum güçlüğüne neden olabilmekte ve pulmoner ödeme yol açabilmektedir. Erimiş haldeki ozonun, deri ve temas ettiği yüzeylerde yanıklara neden olabilmektedir. Hayvanlarda ise kansere neden olduğuna dair sınırlı bulgular vardır. Akciğer kanserine neden olabildiği ve fetüs gelişimini hasara uğratabildiği bildirilmiştir (Leh 1973). Aynı zamanda merkezi sinir sistemini etkileyip, mutasyonlara neden olabileceği belirtilmiştir (Pryor ve ark. 1992).

Akut etki olarak en az 1 saat 20 ppm in üzerindeki konsantrasyonlarının inhalasyonu sonucu ölümcül olabileceği belirtilmiştir. Kronik etki olarak ise akciğerler üzerine toksik etkilidir ve solunum hastalıklarına neden olabilmektedir (USEPA 1999). Akciğerde mukus tabakasının daha ince olduğu bölgelerde, hücreler direkt olarak ozonla hasara uğrattılırken daha yukarı bölgelerde ise, mukus tabakasında bulunan lipid katmanında ozon reaksiyonu sonucu aldehit ve peroksitler doku hasarına neden olabilmektedir (Pryor ve ark. 1992).

Sonuç olarak, ozon toksik bir gazdır, malzeme ve ekipman dezenfeksiyonunda kullanıldığında, uygulandığı ortamda mutlaka takip edilmelidir. Günümüzde, çalışılan ortamdaki ozon düzeyini izlemek için birçok ozon sensörü bulunmaktadır. Bu sensörler genellikle 0.1-100 mg/kg (v/v) konsantrasyonlarını ölçen bir hücreye sahip UV analizörlerdir. Ozon konsantrasyonu 0.1 mg/kg'ın üzerine çıktığında hemen alarm verirler (Pascual ve ark. 2007).

2.4.5. Gıda endüstrisinde ozon uygulamaları

Minimal prosese uğramış taze olarak tüketilen gıdalar, ABD gibi gelişmiş ülkelerde dahi gıda zehirlenmesine sebep olmaktadır. Meyve ve sebze yüzeylerinde mikroorganizmalar çoğalarak biofilm oluşturdukları için çevresel etmenlerden ve dezenfektanlardan da birbirlerini korumuş olurlar. Kullanılan dezenfektanların etkisi ortam koşullarına ve mikroorganizmanın yapısına bağlı olarak değişmektedir. Mikroorganizmalarla mücadelede en çok; asitler, klor bazlı bileşikler, H₂O₂ (hidrojen peroksit) ve ozon kullanılmaktadır. Bu dezenfektanlardan antimikrobiyal güç bakımından ve kalıntı bırakmaması nedeniyle en avantajlıları H₂O₂ ve ozondur (Cherry 1999, Soliva ve ark. 2003).

Kabul gören dezenfektanlar mikrobiyal olarak 3 log azalma sağlamaktadır. Bu durum FDA'nın öngörmüş olduğu 5 log birimlik azalmayı karşılayamadığı için yeni dezenfektanların araştırılıp geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur (Cherry 1999). Bunun yanı sıra mevcut dezenfektanlar patojenleri elimine edemeyip gıdanın doğal olarak yapısında bulunan rekabetçi mikroorganizmalara zarar vermesi durumunda gıda, patojenlere karşı savunmasız kalıp güvenlik açısından riskli hal alabilir (Francis ve ark. 1999). Bu nedenlerden dolayı birçok dezenfektan arayışı yoluna gidilmiştir. Bu araştırmalardan biri olan ozonla ilgili yapılan çalışmada ozon ve hidrojen peroksitin besin kaynaklı *Bacillus* türleri üzerindeki sporisit etkileri karşılaştırılmış ve yaklaşık 10.000 kat daha yüksek konsantrasyondaki hidrojen peroksitin, *Bacillus* sporlarına ozondan daha az etki ettiği görülmüştür. Ozona karşı spor direnci *B. stearothermophilus*' ta en yüksek ve *B. cereusta* ise en düşük seviyede bulunmuştur. Bu nedenle *B. stearothermophilus* sporlar, ozon sanitizasyon testlerinde indikatör olarak kullanılabilir (Khadre ve Yousef 2001).

Son yıllarda ozon, bir çok ülkenin gıda sanayinde kullanılmakta ve GRAS olarak kabul edilmektedir. Şişe sularının dezenfeksiyonunda ozonun kullanımına resmi olarak izin verilmesi, gıdaların muhafazasında da kullanılabilmesinin yolunu açmıştır (Yıldız ve Yangılar 2014). Gıda sanayinde ozonun klora tercih edilmesinin temelinde; klora göre %52 daha güçlü olması, geniş mikroorganizma spektrumunu inhibe etmesi ve kalıntı madde bırakmaması vardır (Trevor 2004, Erdem 2007).

Ozonun gıda sanayinde; direkt olarak gıda ile muamele edilmesi, depo atmosferine gaz halde ozon verilmesi ve yahut ürünlerin ozonlu su ile yıkanması şeklinde

kullanılmaktadır. Gıda sanayinde gaz ve su fazında uygulanan ozon; patojenler, spor formları, mikotoksinler ve pestisitler üzerine etkilidir (Güzel-Seydim ve ark. 2004).

İçme suyuna ozon uygulaması ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada; suda 2 mg/L ozon bulunduğunda birkaç dakika içinde canlı mikroorganizma sayısının %99 oranında azaldığı ve virüsler üzerinde de öldürücü etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Calderon 2000).

Kartal ve ark. (2009), Çorum ilinde yaptıkları bir çalışmada içme ve kullanma suyuna ozon uygulayarak etkisini incelemişlerdir. Araştırmada zamanla değişen hava koşullarına bağlı olarak suyun kirlilik seviyesinin değiştiği ve suyun kimyasal özelliklerindeki ani değişimlerin tesis kaynaklı olduğunu göz önünde bulundurarak aldıkları numunelerde toplam klor ve serbest klor miktarlarının ozonlama sonrası klorun oksitlenmesinden dolayı oldukça düşük olduğunu, nitritin ise giderek azaldığını tespit etmişlerdir (Kartal ve ark. 2009).

Ozon gazının taneli ürünlerde kullanım alanları, ziraatinden depolamaya kadar oldukça geniştir (Tiwari ve ark. 2010). Troposferik ozonun yazlık buğdayların topraktan azot ve mineral emilimini araştıran bir çalışmada, atmosferdeki ozon miktarının buğdayın topraktan azot ve mineral madde alma hızını etkilemediği sonucuna varılmıştır (Fangmeier ve ark. 1997). Bazı araştırmacılar, ozon gazı ile modifiye edilmiş atmosferlerde buğday yetiştirmişler ve ürünün kalite kriterlerini incelemişlerdir. Modifiye atmosferdeki ozon miktarı arttıkça buğdayda protein miktarları artmış buna karşılık fırıncılık kalite kriterleri düşme eğilimine girmiştir (Mulchi ve ark. 1986, Slaughter 1988, Slaughter ve ark. 1989). Modifiye atmosferde yetiştirilen yumuşak kışlık kırmızı buğdayın değirmencilik ve fırıncılık değerleri değişmezken, elde edilen unun protein miktarının ozon miktarıyla doğru orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir. Üretilen bisküvilerin yayılma oranları, ozon uygulamasıyla önemli bir değişikliğe uğramamıştır (Rudorff ve ark. 1996). Modifiye atmosferde yetiştirilen yazlık buğdaylarda ozon miktarı artıkça azot miktarının da arttığı bulunmuştur (Pleijel ve ark. 1995). Bu çalışmalar, atmosferik ozon uygulamasının tanede azot miktarını artırırken kaliteyi etkilemediğini göstermektedir. Ozonla muamele edilmiş buğday ve buğday ürünleri kullanılarak fareler üzerinde yapılan toksisite deneylerinde; klinik, hematolojik, kanda biyokimyasal, idrar ve histopatolojik bulgulara rastlanmamıştır. Ozonun sağlığa zararsız olmasının tespit edilmesi üzerine, buğdayların ozonla muamelesine AFSSA (Fransız Gıda Güvenliği Otoritesi) tarafından da izin verilmiştir.

Buğdayın depolanması sırasında birçok faktör bozulmaya sebep olur. Bu faktörlerin başında sıcaklık, nem, mikrobiyal, kimyasal veya ambar zararlıları gelmektedir. Bu etkilerin bazılarında korunmak için kullanılan fungusitler ve insektisitler kalıntı bıraktığından insan sağlığını tehdit edici unsur oluşturmaktadır (Elgün ve Ergutay 1995). Bu nedenle tahılın depolanmasında depoya ozon gazı uygulanarak böceklerin sebep olduğu zararlıların önüne geçilebilmektedir. Yapılan çalışmada 50 ppm düzeyinde ozonun 3 gün süresince depo ortamına verilmesiyle mısır zararlılarının % 92-100 oranında öldürüldüğü bildirilmiştir (Kells ve ark. 2001). Bir başka çalışmada ise 50 ppm ozona maruz bırakılan mısırların (popcorn) patlama hacminin olumsuz etkilenmediği; soya fasülyesi, buğday ve mısırın amino asit ve yağ asidi kompozisyonunun değişmediği belirtilmektedir. Bu uygulama ile buğday ve mısırın öğütme karakteristiklerini, buğdayın pişirme özelliklerini etkilemediği ve dolayısıyla tüketiciye ulaşacak son ürün kalitesinin sorun teşkil etmediği belirlenmiştir (Mendez ve ark. 2003). Ozon tane halindeki tahıl, baharat ve baklagillerde, öğütülmüş formlarına göre daha yüksek antimikrobiyal etkide bulunmaktadır. Ozonun etkinliği ortam sıcaklığı düşürülerek ve uygulama süresi artırılarak ozonlamanın antimikrobiyal etkisi yükseltilebilir (Naito ve ark. 1987). Buğday ununa uygulanan, 0.5-50 ppm ozon ile 6 saat süre ile muamele edilmiştir. Sonrasında Japon ham noodle ürününe işlenip paketlenip mikrobiyolojik açıdan raf ömrünün 2 ile 5 kat kadar arttığı tespit edilmiştir. Muhtemelen oksidasyon sonucu, önemsiz düzeyde tiamin kaybı olmuş, pişmiş ürünün kalitatif özelliklerinde değişiklik görülmemiştir (Naito ve ark. 1989). İbanoğlu (2001) tarafından yürütülen bir araştırmada, 1.5 ve 11.5 mg/litre ozonlu su ile tavlanan yumuşak ve sert buğday örnekleri, öğütüldüğünde unun fiziksel, kimyasal ve teknolojik özelliklerinin önemli düzeyde etkilenmediği, özellikle 11.5 mg/litre dozunda toplam bakteri ve maya-küf yükünde önemli düzeyde ($p<0.05$) düşme görüldüğü tespit edilmiştir (İbanoğlu 2001).

Demir ve ark. (2011), farklı randımandaki un örneklerinin ozon gazı ile muamelesi sonucu oluşacak etkiyi ortaya koymak üzere, piyasadan temin edilen ticari unları kullanmışlardır. Sonuç olarak ozonlama işlemi, düşük randımanlı unlarda, unda gluten miktarında artışa, renkte ağarmaya sebep olurken, ekmek içi renginde önemli düzeyde ağarmaya, ekmek hacmi ve kalitesinde önemli düzeyde artışa sebep olmuştur. Unun öğütme sonrasında ihtiyaç duyduğu en az 21 günlük olgunlaşma periyodunun, böylece sıfırlanabileceği sonucuna varılmıştır. Ancak gluten miktarı düşük yüksek randımanlı unda bir olumsuz etkinin gözlemlendiği, bazı hamur ve ekmek özelliklerinin bozulduğu belirtilmiştir.

Pestisit kalıntıları çok düşük konsantrasyonlarda bile toksik ve kanserojenik (karsinojenik) etkiye sahiptirler. Bu nedenle ülkemizde dahil olmak üzere birçok ülkede pestisit yükünün azaltılması için sıkı düzenlemeler yapılmaktadır (Lafi ve Al-Qodah 2006). Günümüzde kimyasal kalıntıların azaltılması için kullanılan en yaygın metot sodyumhipoklorit veya potasyum permanganat ile yıkamadır. Ancak, bu teknik pahalı ve etkinliği sınırlı olduğu için ayrıca kimyasal kirliliğe yol açtığı için ozon uygulaması yapılmaktadır. Gıda maddelerinin yüzeyinde bulunabilen pestisit kalıntıları su ile yıkama ile giderilebilmektedir. Ancak zamanla yıkama suyu sirkülasyonlu olarak değişmediği takdirde yıkama suyunda pestisit birikmesi olmakta ve doğal olarak gıdadan pestisit etkin olarak uzaklaştırılamamaktadır. Ayrıca gıdanın içerisine nüfuz eden pestisit yıkama ile uzaklaştırılamamaktadır. Bu nedenle ozonlu su uygulaması yapılan gıdalarda pestisitler fiziksel olarak uzaklaşmakta, yıkama suyunda biriken pestisit okside olmakta ve ozon gıdanın içerisine de nüfuz ederek pestisit kalıntısını yok edebilmektedir (Ruan ve ark. 2004). Ozonlu suyla gerçekleştirilen yıkama veya daldırma uygulamaları çeşitli ürünlerdeki diazinon, parathion, methyl-parathion, cypermethrin, azinphos-methyl, captan, formetanate hydrochloric acid, mancozeb ve ethylene-thiourea kalıntılarını önemli ölçüde azaltmaktadır (Ong ark. 1996, Hwang ark. 2001, Wu ark. 2007a, Wu ark. 2007b).

Suda çözülmüş ozon uygulamalarına oranla gaz ozon uygulamaları ile pestisit giderimi çalışmaları son derece az sayıdadır. Metzger ve ark. (2007), vakslanmış portakalların ozon atmosferinde (0.18–0.20 mg/kg) 35 gün depolanmasının ardından imazalil, malathion ve chlorpyrifos düzeyinin kontrol örneklerine göre daha düşük çıktığını belirlemişlerdir. Hangi metotla olursa olsun pestisit kalıntılarının gideriminde kilit nokta, degradasyon ürünlerinin niteliği ve toksik özellikleridir. Ozonlama ile organik bileşikler tamamen mineralize edilemezler. Daha düşük molekül ağırlığındaki ara ürünlere dönüşürler.

Wu ark. (2007a ve 2007b), methyl parathion, parathion, diazinon ve cypermethrinin şalgam (*Brassica rapa*) yüzeyinden uzaklaştırılmasında düşük miktarda çözünen ozon konsantrasyonundaki (1.4 ve 2.0 mg/L) sulu çözeltinin etkinliğini incelemişlerdir. Sıcaklığın ve sürenin proses üzerine etkisini gözlemlemek amacıyla da ozonlu suyla yıkama işlemlerini iki farklı sıcaklık (14 ve 24 °C) ve sürede (15 ve 30 dakika) gerçekleştirmişlerdir. Pestisitlerin uzaklaştırma etkinliğinin çözünen ozon konsantrasyonuna ve sıcaklığa bağlı olduğunu, ozonun inceledikleri pestisitler arasında en fazla cypermethrinin uzaklaştırılmasında etkili olduğunu saptamışlardır.

Başka bir çalışmada farklı yıkama işlemlerinin taze ve işlenmiş elmalardan mancozeb ve ETU (Ethylenethiourea)'nun uzaklaştırılması üzerine etkisi araştırılmış. 3 mg/kg ozon ve 500 mg/kg klor konsantrasyonlarındaki yıkamaların en etkili uygulamalar olduğu belirtilmiştir (Hwang ark. 2002). Klor, klordioksit, ozon ve hidrojen peroksiasetik asit uygulamalarının taze elmalardan mancozeb ve ETU'nun uzaklaştırılmasındaki etkinliğinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise taze elmalar 1 ve 10 mg/kg düzeyinde mancozeb ile ilaçlanmıştır. Mancozeb kalıntılarının ozon uygulaması ile %56-97 arasında azaldığı, 1 ve 3 mg/kg ozon uygulaması ile de ETU'nun tamamen uzaklaştırıldığı belirtilmiştir (Hwang ark. 2001).

Sofralık üzüm bağlarında, bağ küfünü önlemek için sıklıkla kullanılan bazı fungusit kalıntılarının miktarları belirli bir süre soğuk hava deposunda ve 0.3 µl/L konsantrasyonunda ozonla zenginleştirilmiş soğuk hava deposunda bekletilerek izlenmiştir. Çalışmada üzüm taneleri boscalid, iprodione, fenhexamid, cyprodinil ve pyrimethanil içeren çözeltilerle spreylenmiş, karışımın kuruması için 24 saat beklendikten sonra plastik konteynırlarda polistren kutularda paketlenmişlerdir. Kutular ozon ve ortam havasında (2 °C, %95 RH) 36 gün bekletilmiştir. 12 gün sonunda pestisit analizleri yapılmıştır. Ortam havasında bekletilen örneklerde boscalid, iprodione, fenhexamid, ve pyrimethanil kalıntılarının miktarı azalırken cyprodinilin kalıntı miktarı 36 gün sonunda önemli bir düşüş göstermemiştir. Ozon atmosferinde depolama ise özellikle fenhexamid, cyprodinil, ve pyrimethanil miktarını azaltırken boscalid ve iprodione miktarında aynı etkiyi göstermemiştir. Depolama süresi sonunda, fenhexamid, cyprodinil ve pyrimethanilin ozon atmosferindeki azalma hızları, normal hava atmosferindeki azalma hızının sırasıyla 1.6, 2.8 ve 3.6 katı düzeyinde olmuştur. Yapısal benzerliklerine rağmen ozon atmosferinde pyrimethanil, cyprodinile göre daha çabuk azalmıştır. Fenhexamid ise hem hava hem de ozon atmosferinde diğer fungusitlere göre daha hızla parçalanmıştır (Karaca ve ark. 2012).

Gıda endüstrisinde şimdiye kadar bu çalışmalar yapılmış olup, bu çalışmada; ozon dezenfeksiyonunun fındıklarda aflatoksin seviyesinin TGK' de belirtilen limitlerin altına düşürülmesi ve bunun yanı sıra fizikokimyasal özelliklerinde meydana getireceği değişikliklerin araştırılması amaçlanmıştır.

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1.Materyal

Çalışmada fındık üreticilerden çiğ olarak dış sert kabuğundan ayrılmış ve iç zarı üzerinde olarak homojen irilikte temin edilmiştir. Gaz ozon üretimi için 220 volt (V) Pcs Ozon Jeneratörü ve ozon gazı uygulaması için kapalı bir sistem elde etmek amacıyla 60 litre (L) hacminde paslanmaz çelik kabin kullanılmıştır. Analizler için aşağıda belirtilen cihaz ve sarf malzemeler kullanılmıştır;

3.2.Yöntem

3.2.1.Fındık örneklerinin hazırlanması

Üreticilerden temin edilen çiğ kabuksuz ve iç zarı bulunan fındık örnekleri 200 gramlık(g)'lık paketler halinde ozon uygulaması için hazırlanmıştır.

3.2.2.Aflatoksin kontaminasyonu

Standart toplam Aflatoksin solüsyonu 200 ml, 200 ppb Aflatoksin çözeltisi 40 ml 100 ng/ml Aflatoksin mix 160 ml methanolle (% 98 methanol, % 2 su) ile karıştırılarak hazırlandı. Aflatoksin karışımı eşit konsantrasyonda B1, B2, G1 ve G2 toksinlerini içermektedir. 200 gramlık çiğ fındık örnekleri 50 ppb 200 mililitre (ml) toplam aflatoksin konsantrasyonuna sahip solüsyonlar ile kontamine edilmiştir. Kontrol amaçlı, çiğ fındıkta ve toksinle kontamine edilmiş fındıklarda, su aktivitesi ve aflatoksin analizleri gerçekleştirilmiştir. Kontaminasyon sonrası fındıklar ozon uygulamasına tabii tutulmuştur.

3.2.3.Ozon uygulaması

Ozon gazı temin edilmesi için şekil 3.2.3.1.' de ki PCS marka ozon jeneratörü kullanılmıştır. Ozon üretimi için kaynak olarak ortam havası temin edilmiştir.



Şekil 3.1. Ozon Jeneratörü

Aflatoksinle kontamine edilmiş örnekler şekil 3.2.3.2. de görüldüğü gibi 200 g'lık paketler halinde hazırlanmış çiğ fındık örnekleri iki farklı konsantrasyonda 200 mg/sa ve 600 mg/sa ozon gazına 30, 60 ve 120 dakika (dk) boyunca örnekler şekil 3.2.2.3. de görülen 60 L lik kapalı paslanmaz çelik kabin içerisinde (reaksiyon tankı), paslanmaz çelikten elde edilen delikli ince tel levha üzerine koyulup, 3 lt/ dk hızla ozon gazına maruz bırakılmıştır. Ozon doz ve süreleri temin edilen ozon cihazının maksimum ve minimum kapasitelerine göre dozlar belirlenmiş olup, yapılan ön denemeler sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda zaman parametreleri belirlendi.



Şekil 3.2. Aflatoksin Bulaştırılmış Fındık Numuneleri



Şekil 3.3. Reaksiyon Tankında Ozon Gazı Uygulanan Fındık Numuneleri

Örnekler öncelikle 600 mg/sa ozon gazı 30, 60 ve 120 dk boyunca 600mg/sa konsantrasyonda ozon gazına maruz bırakılmıştır. Paslanmaz ince tel levha, her örnek değişiminden sonra kontaminasyon riskini düşürmek amacıyla alkol ile dezenfekte edilip ısıtılmış işlem uygulanmıştır. Daha sonra diğer örnekler 30, 60, 120 dk süresince 200mg/sa ozonla muamele edilmiştir. Uygulama sonucunda örnekler şekil 3.2.2.4.'de görüldüğü gibi steril numune kaplarına koyularak muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.4. Ozon Gazı Uygulanmış Fındık Numuneleri

3.2.4. Aflatoksin B1, B2, G1, G2 analizi

Aflatoksin analizi, AOAC 991.31 metoduna göre Edirne Gıda Kontrol Laboratuvarında yaptırılmıştır. Örneklerden Aflatoksin ekstraksiyonu Aflatest kolonları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 25 g blender ile homojenize hale getirilen fındık örneğine 5 g tuz ilave edilip 125 ml metanol:su (70:30) ekstraksiyon çözeltilisi ile 2 dakika karıştırılmıştır. Filtre kağıdından geçirilerek filtre edildikten sonra ve 15 ml filtrat, 30 ml distile su ile karıştırılmıştır. Tekrar filtre edilip ve elde edilen filtrat Aflatest immunoaffinity kolondan geçirilerek HPLCye enjekte edilmiştir. Toplam Aflatoksin karışımı ile standart eğrisi çizilerek miktar tayini yapılmıştır. % Recovery, LOD ve LOQ değerleri belirlenmiştir (AOAC 1994).

Aflatoksin analizi için tespit edilebilir limit (LOQ: 0,99 ppb) ve ölçüm belirsizliği $\pm 0,29$ olarak hesaplanmıştır. Geri kazanım çalışmaları sonucu B1: %89, B2: %89, G1: %92, G2: %77 olarak hesaplanmıştır.

3.2.5. Su aktivitesi tayini

Ozon uygulaması yapılan ve kontrol olarak uygulama yapılmayan bütün örneklerin, su aktivitesi tayini, 25 °C'de su aktivitesi (a_w) ölçüm cihazı (AQUA LAB 4 TE Decagon Device, Pullman WA, ABD) ile yapılmıştır (Jaworska ve ark. 2014). Cihazın özel ölçüm kabı içerisine küçük parçalar halinde parçalanmış fındık örnekleri koyulduktan sonra 25 °C sıcaklıktaki bir inkübatörde 30 dk bekletilmesini takiben cihazdaki ilgili kısma yerleştirilip okuma düğmesine basılması neticesinde su aktivitesi değerleri elde edilmiştir. Analiz 3 tekrerrür ve 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.6. Nem tayini

Nem tayini için sabit ağırlığa getirilen alüminyum kurutma kaplarına 10 g civarında örnek mümkün olduğunca yayılarak vakumlu etüve konulmuştur (Nüve EV 018, Türkiye) 70 °C'de 13.3 kilopascal (kPa) (100 mmHg) basınç altında kap sabit ağırlığa ulaşmaya kadar kurutulmuştur. Ağırlık kaybı kurutmayla uzaklaşan nem yüzdesi olarak verilmiştir (Gökalp ve ark. 1995).

3.2.7. Renk analizi

Fındıkların renk analizi Namık Kemal Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarındaki renk çözümleri cihazı (Konica Minolta CR-5) kullanılarak yapılmıştır, sonuçlar L*, a* ve b* değerleri olarak verilmiştir (Aktaş ve ark 2013). Fındıkların hem uygulama öncesi hem de ozonlama işlemi uygulanan 8 farklı fındık örneğinin renk değerlerine bakılmıştır. Renk değerleri belirlenecek olan örnekler cam petri kaplarına, yukarıdan bakıldığında boşluk kalmamasına dikkat ederek dizildikten sonra kolorimetrenin ilgili kabının içerisine yerleştirilerek analiz gerçekleştirilmiştir. Analizler 3 tekerrür ve 3 paralel olacak şekilde yapılmıştır.

3.2.8. Tekstür analizi

Fındıkların tekstür özelliklerinin belirlenmesi, Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (NABİLTEM) bulunan tekstür analiz cihazı (TA. HD. PLUS, Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, İngiltere) ve cihazın P 36/R kodlu probu kullanılarak yapılmıştır. Tekstür analiz cihazının HDP/90 çalışma platformunun üzerine yerleştirilen örneklere, Kilcast (2013) tarafından bildirilen prosedürlere göre ezme testi uygulanmıştır. Analizler 250 kg'lık yük hücresi (load cell) kullanılarak yapılmıştır. Tüm tekstür analiz denemeleri 22 °C kontrollü oda sıcaklığında, 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Örneklerin güç/deformasyon eğrisinden yola çıkarak yaptığı hesaplamalarla; sertlik (hardness) parametresi belirlenmiştir (Bourne 2002).

Çizelge 3.1. Fındıklarda tekstür ölçümünde, tekstür analiz cihazının ayarlandığı koşullar

Parametreler	Uygulanan yöntem	
	Ezme	
Load cell	250 kg	
Ön test hızı*	1 mm/s	
Test hızı**	2 mm/s	
Test sonrası hız***	10 m/s	
Tetikleme kuvveti	5 g	

*: Proben analizi yapılacak ürüne doğru yaklaşırken ilerleme hızı

** : Proben ürüne temas edip tetikleme kuvvetini de aştıktan sonraki ilerleme hızı (ölçüm hızı)

***: Proben ürüne doğru yaptığı tüm ilerlemeyi bitirdikten sonra geri yükselme hızı

3.2.9. Yağ tayini

Yağ tayini için 10 g civarında fındık örneği tartılarak seüloz kartuş içinde Sokselet cihazına yerleştirilmiştir. Hekzan kullanılarak gerçekleştirilen Sokselet ekstraksiyonu ile yağ oranları belirlenmiştir (Gökalp ve ark. 1995).

3.2.10. Fındıktan yağ ekstraksiyonu

Yağ ekstraksiyonu Savage ve ark. (1997)'nin bahsettiği şekilde bazı modifikasyonlar ile yapılmıştır. 5 g homojenize edilmiş fındık örneği 15 ml hekzan/isopropanol (3:3, v/v) ile karıştırılarak 1 saat boyunca çalkalı inkübatörde oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra filtre edilmiş ve kalıntılar iki kere 10 ml hekzan/izopropanol karışımıyla yıkanmıştır. Elde edilen filtrata 17.5 ml %6.7 Sodyum Sülfat (w/v) çözeltisi ilave edilmiş ve 30 sn vorteksle karıştırılmıştır. Örnekler 2000 rpm de 10 dakika santrifüjlenmiş ve solvent azot gazı altında uçurulmuştur. Elde edilen yağlar analizlere kadar 4 °C de saklanmıştır.

3.2.11. Fındık yağında yapılan analizler

3.2.11.1. Serbest yağ asitliği analizi

Çiğ fındık örneklerinden elde edilen yağda direk titrasyon yöntemiyle serbest yağ asitliği belirlenmiştir. Fındık yağı 0.1N NaOH ile fenolfitaleyn renk indikatörü kullanılarak titre edilmiştir. AOAC (940.28) metoduna göre; ham yağlarda; 0.1N NaOH ile 3-4 damla fenolfitaleyn konularak sabit pembe renge kadar titre edilmiştir. Serbest yağ asitliği aşağıdaki formüle göre Oleik asit cinsinden hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Oleik Asit} = V * 0.05 \quad (3.1)$$

Formülde;

V= NaOH Hacmi (N)

3.2.11.2. Peroksit analizi

Peroksit sayısı, yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının ölçüsü olup 1 kg yağda bulunan peroksit oksijenin mili eşdeğer gram olarak miktarıdır. Peroksit sayısının belirlenmesinde IUPAC 2.501 sayılı metot uygulanmıştır (IUPAC 1992).

1–1.5 g örnek üzerine 10 mL asetik asit-kloroform çözeltisi (300mL asit + 150 mL kloroform) ilave edilerek çözündürülmüştür. 1g toz KI eklenip hemen karanlık bir ortama alınmıştır. 5dk beklemeden sonra çözelti üzerine 50 mL saf su ilave edilmiş, 0.002N sodyum tiyosülfat ile %1 'lik nişasta çözeltisiyle renk açılımına kadar titre edilmiştir.

Hesaplama için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$\text{Peroksit sayısı (miliekivalen O}_2 \text{ /kg yağ)} = (a - b) \times N \times 1000 / m \quad (3.2)$$

Formülde,

a= titrasyonda örnek için harcanan tiyosülfat miktarı, ml

b=titrasyonda şahit için harcanan tiyosülfat miktarı, ml

N= tiyosülfatın normalitesi, N

m= alınan örnek miktarı, g

3.2.11.3. Yağ asitleri kompozisyonunun belirlenmesi

Metil Esterlerinin Elde Edilmesi

Yağ asitlerinin GC-FID (gaz kromatografi- alev iyonizasyon dedektörü) ile tanımlanabilmeleri için, serbest yağ asidi hallerinden uçucu türevleri haline getirilmeleri gerekmektedir. Bu nedenle yağ ekstraktları transesterifikasyon işlemi ile metil esterlerine çevrilir. Türevlendirme işlemi için, 100 mg yağ ekstraktı 10 ml hekzanda tamamen çözünene kadar oda sıcaklığında vortekslenmiştir. Sonra çözeltinin üzerine 0.5 ml 2 N KOH (MeOH' de) ilave edilir ve 30 sn boyunca vorteks cihazı ile karıştırılmıştır. Üst faz berraklaşana kadar karanlıkta 1-2 saat beklenir. Bekleme sonrasında oluşan ikili fazdan; üst faz (hekzan) ayrılarak gaz kromatografisi (GC) vialine aktarılmıştır.

GC-FID Analizi

Yağ asitlerinin uçucu türevlerinin analizi, SHIMADZU 2010 Gaz Kromatografisi (GC) cihazı ile gerçekleştirilir. Analiz için Gaz kromatografisi cihazı alev iyonizasyon detektörü (FID) ile birlikte kullanılmıştır. Yağ asitlerinin analizinde, TR-CN 100 (0.25mm x100m x0,2mm) kapiler kolon kullanılmıştır.

İnlet sıcaklığı 250 °C' ye ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak Helyum kullanılmış, akış hızı (He) 30 ml/dk olarak belirlenmiştir. Fırın sıcaklık programı 100 °C' den başlayarak 240 °C' ye 3 °C/dk hızla çıkarılmış, 10 dk 240 °C' de bekletilmek üzere toplam 60 dk olarak uygulanır.

3.2.11.4. Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde tayini, Waterhouse (2005) tarafından bildirildiği şekilde, fındık örneğinin metanolik ekstraktının Folin-Coicalteau ayırıcı ile yaptığı reaksiyon sonucu oluşan rengin spektrofotometrede kolorimetrik olarak okunup değerlendirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Buna göre, öncelikle ekstraktları elde etmek için, fındık örnekleri katı parçalayıcıda (Waring Blender 7009L, Winsted, ABD) parçalanmıştır. Parçalanmış örnekler hassas terazide 1/10000 hassasiyette 2 ± 0.0010 g olacak şekilde tartılıp 50 mL'lik kapaklı polipropilen tüplere alınıp üzerlerine 12 mL %80'lik metanol (Merck, Almanya) ilave edilerek tüp karıştırıcıda (Heidolph Instruments, Schwabach, Almanya) karıştırılmıştır. Sonrasında tüpler 70 devir/dk hızda 1 saat (sa) boyunca rotatörde (Dragon Laboratory Instruments, Pekin, Çin) çalkalanmış, çalkalamanın ardından, 20 °C'de 4500 devir/dk hızda 10 dk boyunca santrifüjlenen (Hettich Universal 320, Tuttlingen, Almanya) tüplerden santrifüj sonrası üstte kalan berrak kısım amber kaplara doldurularak +4°C'de analiz yapılana kadar (24 s) bekletilmiştir.

Toplam fenolik madde tayini için, ekstraktan 200 µl alınarak 15 ml saf su eklenmiş 1 ml Folin-Ciocalteu ayırıcı eklendikten sonra iyice çalkalanmıştır. 3 dk beklendikten sonra 25 ml doymuş Na_2CO_3 çözeltisinden 2 ml ilave edilerek saf suyla 20 ml'ye tamamlanmıştır. 60 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede (UV-Mini 1240, Shimadzu, Kyoto, Japonya) 720 nm dalga boyunda, ekstrakt yerine saf su kullanılarak hazırlanan şahite karşı absorbans değerleri okunmuştur (Waterhouse 2005). Ekstraksiyon işlemi iki tekerrür, analizler 2 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Gallik asitin farklı konsantrasyonlarından (mg/L) yapılan okumalar sonucu elde edilen absorbanslar grafiğe aktarılarak gallik asit standart eğrisi elde edilmiştir. Yapılan analiz sonunda okunan absorbans değerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri (GAE) olan fenolik bileşik miktarı, kalibrasyon eğrisi yardımıyla, mgGAE/100g olarak bulunmuştur. Yapılan tüm seyreltmeler dikkate alınarak üründeki toplam fenolik bileşik miktarı hesaplanmıştır (Cemeroğlu 2007).

3.2.11.5. Antioksidan kapasitesi tayini

Fındıkların antioksidan aktivitesi iki farklı metotla belirlenmiştir. Bu amaçla, DPPH serbest radikal yakalama kapasitesi ve ABTS radikal yakalama kapasitesi yöntemlerinin ikisi de kullanılmıştır.

DPPH serbest radikal yakalama kapasitesi analizi için, Garzón ve Wrolstad (2009)'ın bildirdiği yöntemden yararlanılmıştır. Buna göre, farklı hacimlerde (50-100-150 µL) ekstrakt üzerine 0.1 mM DPPH (1,1-difenil 2-pikril hidrazil) (Sigma-Aldrich, St. Louis, ABD) metanolik çözeltisinden 1.9 mL eklenmiş ve karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dk boyunca bekletildikten sonra absorbans değeri 517 nanometre (nm) dalga boyunda, spektrofotometrede (UV-Mini 1240, Shimadzu, Kyoto, Japonya) okunmuş ve kaydedilmiştir. Değişik hacimlere karşılık, Eşitlik 1 kullanılarak, elde edilen yüzde inhibisyon değerlerine linear regrasyon analizi uygulanmak suretiyle, örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Örneğe ilişkin eğrinin eğimi, daha önce standart Troloks solüsyonları (50–1000 µM) ile hazırlanan eğrinin eğimine oranlanarak, örneğin TEACDPPH (Troloxequivalentantioksidancapacity) değeri hesaplanmıştır. Analizler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\% \text{İnhibisyon oranı} = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100 \quad (3.3)$$

Formülde; A_0 : Kontrolün (ekstrakt yerine metanol) absorbansı

A_1 : Analizi yapılan ekstraktın absorbansı

ABTS+ (2,2-azino-bis-3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit) radikal yakalama kapasitesi analizi için, Re ve ark. (1999)'nın bildirdiği yönteme dayanarak, potasyum persülfatla ($K_2S_2O_8$) (Sigma-Aldrich, St. Louis, ABD) kimyasal olarak okside edilerek hazırlanan koyu mavi renkli ABTS+ (Sigma-Aldrich, St. Louis, ABD) serbest radikali kullanılmıştır. Yöntem, örneklerin ABTS+ serbest radikalini nötralize ederek renksiz forma indirgeme oranının spektrofotometrik olarak belirlenerek hesaplanması ve sonuçların standart bir antioksidan olan troloks'un eşdeğeri olarak ifade edilmesi esasına dayanmaktadır. Bu amaçla ABTS+ radikal katyon çözeltisi 7 milimol (mM) ABTS+ ile 2.45mM potasyum persülfat karıştırılıp 12-16 s karanlıkta tutulmuştur. Analize başlamadan önce radikal çözeltisinden 2 mL alınıp 600 mL'lik beher içerisinde PBS (tuzlu fosfat tamponu, phosphate buffered saline) ile 734 nm'de 0.7 absorbans değeri verecek şekilde seyreltilip spektrometrede absorbans değeri kaydedilmiştir. Çalışmalarda fenolik madde analizinde kullanılan ekstraktlar kullanılmıştır. Örneğin antioksidan kapasitesine göre ön denemeler yapıldıktan sonra 10 µl örnek ekstraktı üzerine 1 mL ABTS+ (0.700'e ayarlanmış) radikali eklenerek derhal kronometre çalıştırılmış ve 6 dk sonunda 734 nm'de absorbans değerleri spektrofotometrede

(UV-Mini 1240, Shimadzu, Kyoto, Japonya) okunarak kaydedilmiştir. Başlangıç değere göre yüzde azalma “inhibisyon oranı” Eşitlik 2 yardımıyla hesaplanmıştır. Daha sonra, örnek hacmi değiştirilip (5 - 20 µl) aynı işlemler uygulanarak ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek miktarlarına karşı bir grafiğe aktarılıp, lineerregrasyon analizi uygulanmak suretiyle örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Örneğe ilişkin eğrinin eğimi, Troloks için hazırlanan standart eğrinin eğimine oranlanarak, örneğin TEACABTS (Trolox equivalent antioksidan capacity) değeri hesaplanmıştır. Analizler 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\% \text{İnhibisyon oranı} = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100 \quad (3.4)$$

Formülde; A_0 : Kontrol örneğinin (ekstraksız) absorbansı

A_1 : Analizi yapılan ekstraktın absorbansı

3.2.11.6. İstatistiksel analiz

Analizler her örnek için üç tekrar olarak yapıldı. Tekrarlanan aritmetik ortalamaları ve standart hataları (+/-) hesaplandı. Elde edilen verilere tesadüfi blokları deneme desenine göre SPSS paket programı kullanılarak varyans analizleri uygulandı. Önemli bulunan varyasyon kaynaklarına Duncan çoklu karşılaştırma testi $P < 0,05$ güven aralığında uygulandı (Soysal 1998). Çizelgelerde ortalama veriler arasındaki farkın önem durumu harflendirme sistemi ile gösterildi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Ozonun suda çözünürlüğünün düşük olması, mikrobiyal inaktivasyonda sulu ozonun etkinliğini sınırlamaktadır. Ozon moleküllerinin gaz halindeyken sulu maddelere göre daha uzun yarı ömre ve daha yüksek difüzyon oranına sahip oldukları da bilinmektedir (Kim ve ark. 1999a). Bu nedenle, sulu durumda değil, dezenfektan olarak gaz halinde kullanılması önerilir (Vurma ve ark. 2009). Çalışmamızda da bu nedenlerden dolayı gaz halinde ozon kullanılmıştır. Fındık örneklerine uygulanan işlemler ve örnek numaraları Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Fındık Numelerine Uygulanan İşlemler

Örnek No	Uygulama
0 (Kontrol)	Toksin Kontamine edilmemiş, ozon uygulanmamış
1 (Kontrol)	Toksin kontamine edilmiş, ozon uygulanmamış
2	600 mg/sa ozon, 30 dk ozon uygulaması
3	600 mg/sa ozon, 60 dk ozon uygulaması
4	600 mg/sa ozon, 120 dk ozon uygulaması
5	200 mg/sa ozon, 30 dk ozon uygulaması
6	200 mg/sa ozon, 60 dk ozon uygulaması
7	200 mg/sa ozon, 120 dk ozon uygulaması

Çizelge 4.1.' de belirtilen 0 (sıfır) numaralı örnek, piyasadan tedarik etmiş olduğumuz naturel kabuksuz çiğ fındık örnek grubu olup, hiçbir muameleye tabi tutulmamıştır. Diğer kontrol örneğimiz olan 1 numaralı fındık numunesine toksin bulaştırılmış olup, ozon gazı uygulanmamıştır. Diğer kontamine 6 adet fındık numunelerine çeşitli doz ve zamanlarda ozon gazı uygulanmıştır. 200 gramlık (g) fındık numunelerine Krona Deşarj yöntemiyle havadan ozon gazı üreten; 3g/sa ozon üreticisiyle havadan 600 miligram/saat (mg/sa) ozon gazı elde edilerek ve 1 g/sa ozon üreticiyle havadan 200 mg/sa ozon gazı elde edilerek 60 L' lik paslanmaz çelik kabin içerisine 3 lt/ dk hızla ozon gazı verilmiştir. (Cihaz 220V, 50 hertz)

4.1.Ozon Uygulamasının Fındıklardaki Aflatoksin Degradasyonuna Etkisi

Çizelge 4.1.'de fındık örneklerindeki aflatoksin'e karşı ozon gazının detoksifiye etkisi gösterilmiştir. 0 numaralı örnek piyasadan tedarik etmiş olduğumuz naturel kabuksuz çiğ fındık örnek grubu olup, hiçbir muameleye tabi tutulmamıştır. Yapılan aflatoksin analiz sonucunda da bu örnekte aflatoksin varlığı tespit edilmemiştir. 1 numaralı fındık örneklerine 50 ppb 200 ml metanol ile hazırlanmış mix aflatoksin solisyonu uygulanmış olup, ozon gazına tabi tutulmamıştır. Aflatoksin analizi yapıldığında toplam aflatoksin içeriği 28.471 ppb olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı Ozon Konsantrasyonu (600, 200 mg/sa) ve Uygulama Süresinin (30, 60, 120 dk) Kontamine Fındıkların Aflatoksin Miktarına Etkisi (ppb)

Aflatoksin	Kontrol (0)	Kontrol (1)	Ozon Uygulaması					
			600 mg/sa			200 mg/sa		
			30 dk (2)	60 dk (3)	120 dk (4)	30 dk (5)	60 dk (6)	120 dk (7)
G1	<Ölçüm ^c Limiti	7.640 ^a	4.150 ^b	<Ölçüm ^c Limiti	<Ölçüm ^c Limiti	7.320 ^a	6.820 ^a	<Ölçüm ^c Limiti
G2	<Ölçüm ^c Limiti	7.491 ^a	6.748 ^a	1.608 ^b	<Ölçüm ^c Limiti	6.290 ^a	6.670 ^a	<Ölçüm ^c Limiti
B1	<Ölçüm ^c Limiti	7.100 ^a	3.855 ^b	<Ölçüm ^c Limiti	<Ölçüm ^c Limiti	6.808 ^a	4.566 ^b	<Ölçüm ^c Limiti
B2	<Ölçüm ^c Limiti	6.240 ^a	5.947 ^a	2.254 ^b	<Ölçüm ^c Limiti	5.936 ^a	3.950 ^b	<Ölçüm ^c Limiti
Toplam	<Ölçüm ^c Limiti	28.471 ^a	20.700 ^a	3.862 ^b	<Ölçüm ^c Limiti	26.354 ^a	22.006 ^a	<Ölçüm ^c Limiti

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p < 0,05$)

Tüm fındık örnekleri 200 gramlık olup; 50 ppb 200 ml mix aflatoksin solisyonu uygulanmıştır. Aflatoksinli fındık numelerine 600 mg/sa ve 200 mg/sa ozon gazı 30, 60 ve 120'şer dk boyunca uygulanmıştır. Çizelge 4.1.'den de görüldüğü gibi; 600 mg/sa ozon gazı 30 dakika boyunca uygulanmış 2 numaralı örnekte toplam aflatoksin oranında % 27.3

oranında degradasyon belirlenmiştir. Bu durum ozonun oksitleyici gücünün etkisiyle toksinlerin parçalanmasına sebep olduğunu fakat yarım saat içerisinde yok olmadığını göstermektedir.

600 mg/sa ozon gazı 1 saat boyunca uygulanmış 3 numaralı fındık örneklerinin aflatoksin G₂ oranında %78.5 lik, B₂ oranında ise % 63.8'lik önemli düzeyde azalma ($p<0.05$) tespit edilirken; B1 ve G1 tamamen degrade olmuştur. Toplam aflotoksin oranına baktığımızda; bu uygulama ile %86 lık önemli düzeyde azalma ($p<0.05$) görülmektedir. Ozon gazının 1 saatlik etkisi sonucunda B1 ve G1 kısa zamanda kolay şekilde degrade olurken B2 ve G2'nin direnç gösterdiği görülmektedir. B1 ve G1 aflatoksinlerinin yapısında bulunan C8-C9 arasındaki çift bağın ozona karşı duyarlılığı fazla iken, B2 ve G2'nin yapısında bu çift bağın olmaması degradasyon için çok daha yüksek dozlarda ya da uzun sürelerde ozon kullanımını gerektirmektedir (Kuşçu ve Pazır 2004).

Sonuçlara bakıldığında bu dozda uygulanan 1 saatlik işlemin toksinlerin tamamını elimine etmek için yeterli olmadığı gözlemlenmiştir. 4 numaralı fındık örneklerine 600mg/sa ozon gazı 2 saat boyunca uygulanmıştır. Yapılan aflatoksin analizi sonucunda fındık numunelerinde aflotoksin miktarı belirlenebilir limitin altında kalmıştır.

Fındık örneklerine 200 mg/sa ozon gazı 30 dakika uygulandığında (5 numaralı); başlangıçtaki toplam aflatoksin miktarına göre %7.43 oranında azalma olduğu belirlenmiştir. Başlangıçtaki değerlerle karşılaştırıldığında; Aflatoksin G2 %16, G1 %4, B2 %4.87 ve B1 %4.11 oranında, istatistiksel olarak önemsiz düzeyde ($p>0.05$) azalma olduğu tespit edilmiştir. Düşük konsantrasyon ve kısa süreli ozonlama detoksifikasyon için yeterli olmamıştır. 200 mg/sa ozon gazı 1 saat boyunca (6 numaralı) fındık örneklerine uygulandığında ise aflatoksin G1, G2 ve toplam aflatoksin değerlerinde önemsiz düzeyde değişiklik olurken ($p>0.05$), aflatoksini B1 ve B2 sırasıyla %35.77 ve %36.70 oranında önemli oranda ($p<0.05$) degrade olmuştur.

Fındıkların toplam aflatoksin miktarında 200 mg/sa'da 30 ve 60 dakika sonunda istatistiksel olarak önemli düzeyde değişiklik olmazken 120 dk sonunda aflatoksinlerin detoksifikasyon limiti altına kadar degrade olduğu belirlenmiştir. 600 mg/sa ozon gazı, 30 dk uygulama toplam aflatoksin miktarını önemli düzeyde azaltmaya yeterli olmaz iken 60 dk'lık uygulama %86 oranda azaltmıştır. 120 dk'lık uygulama sonunda toplam Aflatoksin miktarı belirlenebilir limitin altına düşmüştür. ($p<0.05$).

Yapılan bu çalışma sonucunda; Çizelge 4.1.'de görüldüğü üzere aflatoksinler 200 mg/sa ozon gazı 2 saat uygulama sonucunda belirlenebilir limitin altına düşerken, 600 mg/sa ozon gazı 1 saat uygulandığında B1 ve G1 tespit edilebilir seviyenin altına düşmüştür.

Kuru incir üzerine yapılan bir çalışmada; yapay olarak aflatoksin inoküle edilen kuru incir örneklerine sırasıyla 30, 60 ve 180 dak. ozon gazı ve ozonlu su uygulanmış olup, ozonlama süresinin artmasıyla gaz ozon ve sulu ozon uygulamaları ile aflatoksin parçalanması da paralel olarak arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışma sonucunda ozonlu su uygulaması ozon gazına göre aflatoksin azaltılmasında daha etkili olduğu gözlemlenmiştir (Zorlugenç ve ark. 2008).

Türkiye'deki kırmızıbiberlerde aflatoksin önemli bir sorundur. Kırmızı biberde aflatoksin dekontaminasyonu için ozon uygulaması yapılan bir çalışmada; 3 farklı konsantrasyonlarda (16, 33 ve 66 mg/L) ve 4 farklı sürelerde (7.5, 15, 30 ve 60 dk.) ozon uygulanmıştır. Kırmızıbiber örneklerine sırasıyla 33 mg/L ve 66 mg/L konsantrasyonlarında 60 dk. süreyle ozon gazı uygulanmış ve sonuç olarak sırasıyla %80 ve %93 oranında aflatoksin miktarının azaldığı belirtilmiştir (İnan ve ark. 2007).

Yer fıstığı ve unda ısı ile ozon etkinliği değerlendirilmiş olup; düşük ısı işlem uygulanarak ozon uygulaması yapılmış ve uygulama yapılmamış kontrol örnekleriyle karşılaştırılmalar yapılmıştır. Yer fıstığı örnekleri önceden belirlenmiş konsantrasyonlarda toplam aflatoksin ile inoküle edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; ozonun etkinliğinin yüksek sıcaklıklarda (25, 50 ve 75 °C) ve uzun sürede (5, 10 ve 15 dk.) arttığı tespit edilmiştir. Yer fıstığı ve unda toksinlerin yüksek oranda azaldığı gözlemlenmiştir (Proctor ve ark. 2004).

Yapılan bir başka çalışmada ise yer fıstığındaki toplam aflatoksin miktarına ozon gazının etkisi incelenmiştir. 13 mg/l ve 21 mg/l konsantrasyonunda 96 saat ozon uygulaması sonucunda aflatoksin miktarında %25, aflatoksin B1 miktarında %30 oranında azalma sağlanmıştır (Alencar ve ark. 2012).

Akbaş ve Özdemir (2006), ozon uygulamasının, antep fıstığının fizikokimyasal özellikleri ve aflatoksin degradasyonu üzerindeki etkinliğini incelemiş olup; antep fıstığı numuneleri 20 °C' de %70 bağıl nemde 140 ve 420 dk sürelerde 5, 7, 9 mg/l ozon gazı konsantrasyonu ile muamele edilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda aflatoksin degradasyonunun artan süre ve ozon konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir. Aflatoksin kontamine edilmiş antep fıstığı numuneleri, 5, 7 ve 9 mg/L ozon konsantrasyonlarında bir odadaki gaz halindeki ozona maruz bırakıldığında aflatoksin miktarında azalma gözlemlenirken, fizikokimyasal özelliklerinden olan pH, renk, nem, fenolik madde içeriklerinde önemli bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Ancak organoleptik özelliklerinden olan tatlılık, lezzet, görünüm gibi özelliklerinde değişim olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda aflatoksinleri azaltmak için

9 mg/L ozon gazı konsantrasyonunun 420 dk boyunca uygulanması ile olumlu sonuçların elde edilebileceği ortaya çıkmıştır.

Yapay olarak 10 µg/kg aflatoksin B1 bulaştırılmış buğday örneklerine 20 ve 40 ppm ozon gazı farklı sürelerde uygulanmıştır. 20 dakika boyunca ozon uygulamasına tabi tutulan örneklerde sırasıyla %84.1 ve %86.7 oranında azalma gözlemlenmiştir. 20 µg/kg aflatoksin B1 bulaştırılmış buğday örneklerine 20 ppm konsantrasyonda 5 ve 20 dakika süresince ozonlama işlemi sonucunda % 46.4- 87.8 arasında azalma belirlenmiştir (El-Desouky 2012).

Yapılan çalışmalar sonucunda fıstıklarda 31.5 mg/l ozon konsantrasyonunun fungusları elimine ettiği tespit edilmiştir. Fıstıkların raf ömrünün; depolama sırasında ozon uygulaması ile toksin detoksifikasyonu sağlayarak uzatabileceği yapılan çalışmalar sonucunda bulunmuştur (Giordano ve ark. 2012).

Yer fıstıklarına 6.0 mg/l ozon 30 dakika boyunca uygulanmış olup; toplam aflatoksin ve aflatoksin B1 miktarı sırayla %65.8 ve %65.9 oranında azalma göstermiştir. Bunun yanı sıra yer fıstığı örneklerinin kalitesi de değerlendirilmiş olup, anlamlı bir farklılığa rastlanılmamıştır ($p>0.05$). Elde edilen sonuçlara göre aflatoksin degradasyonu için ozon uygulaması umut vericidir (Chen ve ark. 2014).

Çalışmamızda fındık örneklerinde uygulanan ozon gazı, aflatoksin düzeyinde azalmaya neden olmuştur. Yapılan çalışmalarla paralellik gösteren bu çalışmada, ozon uygulaması sonucunda detoksifikasyon istenilen düzeyde sağlanmıştır. Gıda endüstrisinde uygulamada yer alan antimikrobiyal ajanlar arasında hızla yükselen ozon uygulamaları sonucunda fındık örneklerimizde başarıyla detoksifikasyon sağlanmıştır. Fındık örneklerinde özellikle ozon dozundan çok sürenin tamamen detoksifikasyonda daha öne çıktığı ve her iki dozda da 120 dakikalık uygulamanın belirlenebilir limitin altına düşürdüğü görülmüştür. Toplanan fındık örneklerindeki aflatoksin oluşumlarını tamamen indirgemek mümkün değildir. Fakat yasal sınırın altına düşürmek insan sağlığına belli bir oranda da olsa bu teknolojiyi kullanarak katkı sağlamak, doğal bir antimikrobiyal ajan ile yaşam kalitesini arttırmak sağlanabilir.

4.2. Ozon Uygulamasının Fındıkların Fizikokimyasal Özelliklerine Etkisi

Farklı doz ve sürelerde ozonlama işlemine tabi tutulan aflatoksin kontamine fındık ve kontrol örneklerinin fizikokimyasal özelliklerindeki değişim Çizelge 4.2’ de gösterilmiş ve her parametre alt başlıklar altında yorumlanmıştır.

Çizelge 4.2. Farklı ozon konsantrasyonu (600, 200 mg/sa) ve uygulama süresinin (30, 60, 120 dk) fındıkların çeşitli fizikokimyasal özelliklerine etkisi

Parametreler	Ozon Uygulaması							
	Kontrol (0)	Kontrol (1)	600 mg/sa			200 mg/sa		
			30 dk (2)	60 dk (3)	120 dk (4)	30 dk (5)	60 dk (6)	120 dk (7)
a_w	0.479 ^c	0.788 ^b	0.794 ^b	0.768 ^b	0.798 ^b	0.799 ^b	0.838 ^a	0.835 ^a
Nem (%)	2.76 ^d	5.45 ^{ab}	5.17 ^b	4.78 ^{bc}	5.12 ^b	4.56 ^c	6.41 ^a	6.22 ^a
Yağ (%)	72.51 ^a	69.44 ^a	69.82 ^a	70.75 ^a	69.78 ^a	70.27 ^a	71.96 ^a	68.30 ^a
Tekstür:								
Sertlik (g)	27030.4 ^f	34355.5 ^e	43130.4 ^d	49120.3 ^c	56451.3 ^b	48723.4 ^c	58354.4 ^b	61859.5 ^a
Renk:								
L	43.35 ^a	43.15 ^a	42.14 ^a	42.19 ^a	45.91 ^a	44.71 ^a	42.62 ^a	43.92 ^a
a	13.88 ^a	15.22 ^a	15.31 ^a	15.80 ^a	14.41 ^a	15.02 ^a	14.48 ^a	15.22 ^a
b	21.89 ^a	21.59 ^a	21.31 ^a	22.47 ^a	24.43 ^a	23.29 ^a	21.47 ^a	23.01 ^a

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p < 0.05$)

4.2.1. Ozonlama işleminin fındıkların su aktivitesine (a_w) etkisi

Farklı ozon konsantrasyonu ve süre uygulanmış toksin kontamine edilmiş fındık örnekleri ile herhangi bir işlem yapılmamış ve sadece toksin kontamine edilmiş kontrol örneklerinin (Kontrol 0 ve 1) bazı fizikokimyasal analiz sonuçları Çizelge 4.2.’de verilmiştir.

Su aktivitesi fındıklar için önemli bir kalite parametresi olup, yağın oksidasyonunu etkileyen en önemli faktörlerdendir (Labuza 1971). Su aktivitesi 0.479 olan ön işlem uygulanmamış 0 numaralı kontrol örneğinin aflatoksin solisyonu uygulandıktan sonra su aktivitesi değerinde %64.50 (1 numaralı kontrol örneği) oranında önemli artış olmuştur. Örnekler karşılaştırıldığında başlangıçtaki fındık örneğinin su aktivitesi kabul edilebilir değerde iken, aflatoksin solisyonu bulaştırıldıktan sonra doğal olarak tüm örneklerdeki su aktivitesinde ortalama %68 lik bir artış gözlemlenmiştir. 200 mg/sa ozon uygulanmış

örneklerin a_w değerindeki artış 600 mg/sa uygulama görenlere göre daha fazla olmuştur. Matematiksel olarak, toksin kontamine örneklerin tamamında (3 nolu örnek hariç) ozonlama işlemine tabi tutulduktan sonra a_w değerlerinde artış görülmesine rağmen sadece 200 mg/sa 60 ve 120 dk uygulamalardaki artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Fındıkların sorpsiyon izotermeleri konusunda sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Gıdalarda kalitenin korunması için işleme ve depolama sırasında en uygun koşulların belirlenmesi ve uygulanması gerekmektedir. Fındıkların sorpsiyon eş-sıcaklık eğrisine bakıldığı zaman yüksek su aktivitesinde 20 °C’de aflatoksin üremesinin kontrolü açısından çalışmalar yapılmış ve 0.87’nin üzerinde *A. flavus*’un geliştiği ve 0.88’de aflatoksin oluştuğu gözlenmiştir. 0.86’nın altında daha çok rekabetçi kseroofilik küflerin üremesi ile aflatoksin oluşumu engellendiği yapılan araştırma sonucunda bulunmuştur (Denizel 1976). Literatürdeki bu bilgiye dayanarak çalışmamızdaki fındıkların su aktivitesindeki artış, fındıklarda küf gelişimi ve toksin oluşumunu tetiklemeyecek seviyededir.

Yapılan çalışmalar sonucunda oksidasyon hızı 0.3-0.5 su aktivitesi aralığında en düşük olduğu tespit edilmiştir (Troller 1989). Yapılan bir çalışmada çeşitli iç fındıklarda %3.8- 4.8 nem içeriği 0.3- 0.5 su aktivitesine karşılık geldiği ve bu aralıkta yağ oksidasyon hızının düşük olduğu bildirilmiştir (Lopez ve ark. 1997). Kabuklu fındıklarda ise bu nem içeriğine karşılık gelen su aktivitesi daha yüksek olduğundan oksidasyonun daha hızlı olduğu bulunmuştur (Lopez ve ark. 1997). Fındıklar depolanırken kalitenin korunması için nem düzeyinin %5’ ten düşük olması gerektiği bildirilmiştir (Keme ve ark. 1983). Nem içeriği fındık çeşitlerine göre değişmekle birlikte ortalama olarak %70-75 bağıl neme karşılık gelmektedir. Bağıl nem oranı %60-70 ve üzerinde olduğunda enzimlerin etkin olacağı, bağıl nem %70’ten fazla olduğunda ise küf gelişimi olacağı bildirilmiştir (Hadorn ve ark. 1977).

4.2.2. Ozonlama işleminin fındıkların nem (%) oranına etkisi

Şekil 4.2.’den görülebileceği gibi fındık örneklerinin nem içerikleri %2.76-6.41 olarak belirlenmiştir. Çiğ fındıkta nem içeriğinin en yüksek %4.5 olması önerilmektedir (Çetin ve ark. 2000). Bu bakımdan toksin kontamine edilmemiş kontrol örneğimizin nem oranının uygun olduğu görülmekte olup, toksin solüsyonu uygulanmış örneklerin ise bu öneri çerçevesinde değerlendirilmemesi gerekmektedir.

0 ve 1 numaralı fındık numuneleri nem oranları açısından karşılaştırıldığında; su aktivitesi değerindeki artışa uyumlu şekilde, toksin solüsyonunun inoküle edilmesinden dolayı nem miktarında %97.46 oranında önemli bir artış olduğu görülmektedir ($p<0.05$).

Matematiksel olarak değerlendirildiğinde; ozonlanmış kontamine fındık numunelerine bakıldığında; ozonlama ile nem değerlerinde, 2 numaralı örnekte %5.13, 3 numaralı örnekte %12.29 ve 4 numaralı örnekte %6.05 oranında azalma olduğu gözlemlenirken, düşük doz ozon uygulanmış fındık numunelerinde; yarım saatlik uygulama yapılan 5 numaralı örnekte %16.33 oranında azalma, 6 ve 7 numaralı örneklerin nem miktarında ise sırasıyla %17.61 ve 14.12 oranında artış tespit edilmiştir. Bu artış aynı örneklerin a_w değerlerindeki artışla paralellik göstermiştir (Çizelge 4.2.).

Elde edilen sonuçlara göre; fındık örneklerinin kuru madde oranına ozon gazı genel olarak önemli bir etki etmemiştir. Kuru madde ve nem miktarlarındaki küçük değişikliklerin toksin solüsyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte; ozon gazı uygulamasının fındığın yapısında herhangi bir reaksiyona sebebiyet vermeyerek fındığın bileşenlerine ve ağırlığı üzerine etki etmediği tespit edilmiştir. Akbaş ve Özdemir (2006), farklı ozon uygulamalarının antep fıstığında aflatoksin degradasyon ve fizikokimyasal özellikleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmada, ozon uygulaması ile örneklerin nem oranındaki değişikliğin önemsiz ($p>0.05$) olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada, domates meyvesine, 0.005 ve 1 $\mu\text{mol/mol}$ arasında değişen konsantrasyonlarda ozon uygulanarak, ürünün kalitesi ve duyuşal özellikleri incelenmiş olup, ürünün bileşenlerine ve ağırlığı üzerine ozonun etki etmediği tespit edilmiştir (Tzortzakakis ve ark. 2007).

4.2.3. Ozonlama işleminin fındıkların yağ (%) oranına etkisi

Ön işlem görmemiş çiğ fındık örneklerine (0 nolu) toksin solüsyonunun uygulanması yağ oranında %0.096 gibi çok düşük bir oranda değişime (1 nolu) sebebiyet vermiştir (Çizelge 4.2.). Bu değişim toksin solüsyonu ile nem oranının artmış olması ile açıklanabilir. Ozonlama dozu ve süresine bağlı olarak fındıkların yağ oranlarındaki değişim önemli farklılık göstermemiştir ($p>0.05$). Bu durum uygulanan doz ve sürelerde ozon gazının sert fındık içerisine etkisinin yağ oranını etkileyecek kadar nüfuz etmediğini göstermektedir.

2-3-4 numaralı yüksek doz ozonlanmış örnekler toksin uygulanmış 1 numaralı örnekle karşılaştırıldığında; sırasıyla %0.38'lik artış, %2.69'lik azalış ve %16.34'lük artış olduğu tespit edilmiştir. 5-6-7 numaralı düşük doz uygulanmış fındık örnekleri toksin bulaştırılmış ozon muamelesine tabi tutulmamış 1 numaralı örnekle karşılaştırıldığında; sırasıyla %4.83 oranında artış, %0.48 oranında azalma ve % 30.86 oranında artış gözlemlenmiştir ($p>0.05$) (Çizelge 4.2.). Örneklerin yağ içeriği farklı ozonlama dozuna ve süresinden etkilenmeksizin yaklaşık %70 oranında kalmış ve örneklerin yağ oranları arasında

önemli düzeyde fark belirlenmemiştir ($p>0.005$). Bu durumun anlamı, ozon gazının fındığın kimyasal bileşimini etkilememesidir.

Mendez ve ark. (2003), mısır, soya fasulyesi ve buğday tanelerini 30 gün boyunca 50 ppm konsantrasyonunda ozonlamışlar ve ozonlanmış tanelerin kimyasal yapılarında bir değişiklik olmadığını ve amino asitlerin ve lipid içeriğinde herhangi bir değişiklik olmadığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Alencar ve ark. (2012) yer fıstığını 13 ve 21 mg L⁻¹ dozlarda 0, 24, 48, 72 ve 96 saat periyotlarda ozonladıkları çalışmalarında, yarfıstıklarının yağ içeriklerinde istatistiksel olarak bir değişim olmadığını belirtmişlerdir. Çalışmamızdaki sonuçlarda bu çalışma sonuçları ile uyumluluk göstermektedir.

4.2.4. Ozonlama işleminin fındıkların sertlik (g) değerine etkisi

Ozonlama yapılan fındık örnekleri ve kontrol gruplarının tekstürel olarak sertlik değerleri belirlenmiş olup Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Naturel kabuksuz çiğ fındık örneklerinin (0 nolu) sertliği 27030.44 g olarak ölçülürken, aflatoksin bulaştırılması sonucunda %27.09 oranında önemli bir artış olduğu gözlemlenmiştir (1 nolu örnek). 600 mg/sa ozon gazının yarım saat uygulanması sonucunda 1 numaralı kontrol grubuna göre %25.54'lük artış gözlemlenirken, 1 ve 2 saat uygulama sonucunda sırasıyla %42.97 ve %64.31 oranında sertlik değerinde artış olmuştur. Bu artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). 200 mg/sa ozon gazı uygulaması ile de süre artışına paralel olarak sırasıyla %41.82, 69.85 ve 80.05 oranında istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) artış tespit edilmiştir. Genel olarak uygulanan her iki dozda da sürenin artışı ile sertlik değerlerinde önemli artış belirlenmiştir ($p<0.05$). Fındık örneklerinin sertlik değerlerindeki artış düşük doz uygulamada daha fazla olmuştur. Bu durum; fındığın ozon uygulamasına bağlı olarak nemlenmesi ile fındık yapısında kırılabilirliğin azalması ile açıklanabilir.

Salatalık örnekleri üzerine yapılan bir çalışmada; örneklere 0.05 ppm ve 0.3 ppm ozon gazı uygulanmış ve kontrol grubu örnekleri için sertlik değeri sırası ile 34.0, 33.8, 35.2 N olarak ölçülmüştür. Her üç grup için sertlik değerinde meydana gelen bu değişim günlere göre istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0.05$), 0.05 ppm, 0.3 ppm ve kontrol grubu örnekleri karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p>0.05$) (Çavuşoğlu 2014). Sonuç olarak ozon uygulamasının salatalık örneklerinin tekstürel özelliklerini etkilemediği tespit edilmiştir. Bu çalışmaya benzer olarak kivi örnekleri 0 °C de depolanması sonucunda ozon gazı uygulanmış ve ozonun kivinin tekstürel özelliklerini etkilemediği görülmüştür (Barboni ve ark. 2010).

4.2.5. Ozonlama işleminin fındıkların renk değerlerine (*L*, *a*, *b*) etkisi

Renk ölçümlerindeki *L** değeri (100= beyaz rengi, 0=siyah rengi) parlaklık, +*a* değeri kırmızı rengi,-*a* değeri yeşil rengi, +*b* değeri sarı rengi, -*b* değeri mavi rengi temsil etmektedir. *L**, *a**, *b** değerlerinin yüksekliği parlak-koyu, düşük olması ise mat-açık renk tonlarını göstermektedir (Özcan 1990). Meyvelerde renk, görünüm algısını oluşturan parametrelerin en önemlisi ve tüketicilerin ürün konusunda karar verme süreçlerindeki en önemli kalite kriteridir. Renk pigmentleri, Maillard reaksiyonu ve enzimatik kararma reaksiyonları meyve-sebzelerin işlem aşamasında yaşanan renk değişimlerinde rol oynayan başlıca etmenlerdir (Marty-Audouin ve Rocha-Mier 1999).

Farklı doz ve sürelerde ozon gazına tabi tutulan fındık numunelerinin *L*, *a*, *b* renk değerleri Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Fındık örneklerine toksin solüsyonu uygulanması sonucunda *L*, *a* ve *b* değerlerinde önemli bir değişiklik olmamıştır ($p>0.05$). Aynı şekilde, ozon uygulama doz ve süresi de *L*, *a* ve *b* renk değerlerinde önemli bir değişikliğe sebep olmamıştır ($p>0.05$).

Hiçbir muameleye tabi tutulmamış fındık numunesinin başlangıç *L* değeri 43.35 olarak ölçülürken aflatoksin solüsyonu bulaştırılan 1 numaralı fındık numunesini *L* değeri 43.15 olarak ölçülmüş olup, solisyon bulaştırılması fındıkların *L* değerinde anlamlı bir değişime neden olmamıştır. 600 mg/sa ozon gazına yarım saat, 1 saat ve 2 saat maruz bırakılan fındık numunelerinin *L* değerleri başlangıçtaki 0 numaralı fındık numunesi ile karşılaştırıldığında anlamlı bir değişim tespit edilmemiştir. Kendi aralarında karşılaştırdığımızda 2 ve 3 numaralı örneklerin *L* değerinde değişim gözlemlenmemiştir. 4 numaralı fındık numunesinin *L* değeri 45.91 olarak ölçülerek artış tespit edilmiş ancak bu durum anlamlı bir değişimin olmadığını göstermektedir. 200 mg/sa ozon gazına yarım saat, 1 saat ve 2 saat ozon gazına tabi tutulan fındık numunelerinin *L* değerlerinde anlamlı bir değişim tespit edilmemiştir (Çizelge 4.2.).

Saf fındık numunesinin başlangıç *a* değeri 13.88 olarak ölçülürken toksin solüsyonu bulaştırılmış fındık numunesinin *a* değeri 15.22 olarak ölçülmüştür. Solüsyon fındığın renginin az miktar koyulaşmasına neden olmuştur. 600mg/sa ozon gazına yarım saat ozon gazı uygulanan fındık numunesinin *a* değeri 15.31 olarak ölçülmüş olup, naturel fındığa göre *a* değerinde artış gözlemlenirken; solisyon bulaştırılmış fındık numunesiyle karşılaştırıldığında yarım saat ve 1 saat ozon gazı uygulaması *a* değerinde önemli değişime neden olmamıştır ($p<0.05$). 2 saat ozon uygulaması sonucunda nemden kaynaklandığı düşünülen koyulaşma

azalmış naturel fındık numunesine göre önemli bir değişim gözlemlenmemiştir. Fındık numunelerine 200mg/sa ozon gazı 30, 60 ve 120 dk uygulama sonucunda 1 numaralı toksin bulaştırılmış fındık numunelerine göre *a* değerinde anlamlı bir değişim gözlemlenmemiştir ($p<0.05$).

Natural fındık numunelerinin *b* değeri 21.89 olarak ölçülmüş olup, toksin solisyonu bulaştırılmış fındık numunelerin *b* değeri 21.59 olarak ölçülmüş ve anlamlı bir değişim tespit edilmemiştir. 200 mg/sa ozon gazının 30, 60 ve 120 dk uygulanması sonucunda *b* değeri sırayla 23.29- 21.47 ve 23.01 olarak ölçülmüştür.

Meyveler üzerine yapılan bir çalışmada; meyvelere ozonlu su uygulamalarının renk değişimini yavaşlattığı ve parlaklığın daha uzun süre korunmasını sağladığı gözlemlenmiştir. Koyuncu ve ark. (2008) meyve kabuk rengi değerleri bakımından, kontrol meyveleri ile uygulama yapılmış meyveler arasında önemli derecede farklılığın olmadığını tespit etmiştir. Antepfıstıkları üzerine yapılan bir çalışmada farklı konsantrasyon ve süre ozon uygulamasının örneklerin *L*, *a* ve *b* renk değerlerinde önemli değişikliğe sebep olmadığını belirlenmiştir. (Akbaş ve Özdemir 2006). Çalışmamızda da bu çalışma sonuçları ile uyumlu bir şekilde, genel olarak renk değişiminde ozon uygulamasına bağlı olarak önemli bir değişiklik bulunmamıştır.

4.3. Ozon Uygulamalarının Yağ Kalite Parametrelerine Etkisi

Ozonlama işlemi uygulanmış fındık örneklerinin yağları ekstrakte edildikten sonra bu yağlarda çeşitli kalite analizleri gerçekleştirilmiş ve kontrol örneklerinin yağları ile karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.3.). Fındık yağlarında yapılan analizlere ait sonuçlar alt başlıklar altında yorumlanmıştır.

Çizelge 4.3. Farklı Ozon Konsantrasyonu (600, 200 mg/sa) ve Uygulama Süresinin (30, 60, 120 dk) Fındık Yağlarının Çeşitli Kalite Özelliklerine Etkisi

Parametreler	Ozon Uygulaması							
	Kontrol	Kontrol	600 mg/sa			200 mg/sa		
			30 dk	60 dk	120 dk	30 dk	60 dk	120 dk
(0)	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	
Serbest yağ asitliği:								
mg KOH/g yağ	1.359 ^a	0.961 ^a	1.369 ^a	1.011 ^a	1.294 ^a	0.994 ^a	1.172 ^a	1.202 ^a
Oleik asit (%)	0.6843 ^a	0.5839 ^a	0.6895 ^a	0.5089 ^a	0.6514 ^a	0.5004 ^a	0.5904 ^a	0.6054 ^a
Peroksit sayısı (meq O ₂ /kg)	3.60 ^d	3.90 ^d	5.33 ^c	5.59 ^c	12.18 ^a	4.21 ^d	5.03 ^c	8.73 ^b
Toplam fenolik madde (mg GAE/g)	1858.3 ^a	1901.1 ^a	1818.3 ^a	1949.7 ^a	449.71 ^c	1881.1 ^a	1929.7 ^a	1269.7 ^b
Antioksidant:								
DPPH radikali yakalama (EC₅₀)	10.38 ^d	9.45 ^d	10.07 ^d	15.48 ^c	79.48 ^a	9.81 ^d	10.37 ^d	30.80 ^b
ABTS (μmol troloks/g)	16.416 ^a	17.051 ^a	8.813 ^b	10.106 ^b	1.916 ^c	17.913 ^a	14.273 ^a	5.843 ^b

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p < 0.05$)

4.3.1. Ozonlama işleminin fındık yağlarının serbest yağ asitliği değerine etkisi

Serbest yağ asitliği, yağ için önemli bir kalite indeksidir ve sürekli olarak yağda raf ömrü takip parametresi olarak kullanılmaktadır. Bu yüzden kalite kontrolde en önemli analizlerinin başında gelmektedir. Çünkü serbest yağ asitliğinin artması ya da o yağda yüksek bulunması, oksidasyona olan stabilitenin düşmesi anlamını taşımaktadır. Bu da yağın acılaşmaya başlayacağını önemli göstergelerinden biridir. Serbest yağ asitliği, trigliserit yapıdan yağın çeşitli faktörlerle hidrolize olmasının bir neticesidir.

Fındık yağı örneklerinin serbest yağ asitliği hem mg poyasyum hidroksit (KOH)/g yağ hem de % oleik asit cinsinden hesaplanmış ve Çizelge 4.3.'de gösterilmiştir. Örneklerin

serbest yağ asitlik yüzdeleri 0.50-0.68 arasında değişmiştir. Her iki değerden de görüleceği gibi aflatoksin solüsyonu uygulaması serbest yağ asitliği derecesinde önemli bir farklılığa sebep olmamıştır. Benzer şekilde farklı doz ve süre ozon uygulaması da yağların asitlik değerlerinde önemli bir değişime sebep olmamıştır ($p>0.05$). Bu durum; uygulanan doz ve sürenin ozonun yağ asitliğine etki edebilecek bir düzeyde olmadığını ve yağ kalitesinin önemli parametrelerinden biri olan serbest yağ asitliğini değiştirmedeğini göstermektedir. % serbest yağ asitliği içeriği, trigliserid molekülü ester bağlarından serbest bırakılan yağ asitlerinin yani hidroliz büyüklüğünün (parçalanmanın) bir ölçüsüdür. Bu bakımdan ozonlamanın fındık yağındaki ester bağlarını parçalamadığı ve yağ bileşimine etki etmediği söylenebilir. Serbest yağ asitliği bütün örneklerde %1 değerinin oldukça altında kalmış ve yeme kalitesini olumsuz etkileyecek bir durum oluşmamıştır. Elde edilen araştırma sonuçlarına göre fındıkta acılaşmaya serbest yağ asidi konsantrasyonunun oleik asit cinsinden %0.7'den yüksek olduğu zaman meydana geldiği bildirilmiştir (Keme ve ark. 1983).

Akbaş ve Özdemir (2006), antep fıstığından ekstrakte ettikleri yağları 5, 7 ve 9 mg/L konsantrasyonlarda 420 dk ozonlama işlemine tabi tuttukları çalışmada benzer şekilde yağların serbest yağ asitliği oranlarında önemli düzeyde artış tespit etmemişlerdir. Alencar ve ark. (2012) yer fıstığını 13 ve 21 mg L⁻¹ konsantrasyonlarda 0, 24, 48, 72 ve 96 saat periyotlarda ozonladıkları çalışmalarında, yer fıstığı yağlarının serbest yağ asitliği oranlarında önemli bir farklılık olmadığını belirtmişlerdir ($p>0.05$). Chen ve ark. (2014)'da yer fıstığının ozonlanması ile asit değerinde önemli bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir ($p>0.005$).

4.3.2. Ozonlama işleminin fındık yağlarının peroksit sayısına etkisi

Yağlarda bulunan aktif oksijen miktarının ölçüsü olup, 1 kg yağda bulunan peroksit oksijeninin meq cinsinden miktarıdır. Peroksitler, gıdalardaki oksidatif bozulmanın belirteçlerdir, bu sebeple yağların üretiminden önce, üretim sırasında ve üretim sonrasında sıklıkla kontrol edilmelidirler. Ozon uygulanmış ve uygulanmamış fındık örneklerin yağlarına ait peroksit değerleri Çizelge 4.3.'de gösterilmektedir. Peroksit değeri bütün örneklerde (4 nolu örnek hariç) 10 meqO₂/kg değerinin oldukça altında kalmış ve yeme kalitesini olumsuz etkileyecek bir durum oluşmamıştır. Türk Gıda Kodeksi Bitki Adı İle Anılan Yağlar Tebliğinde (TEBLİĞ NO: 2012/29) Peroksit sayısı için belirtilen 10 meqO₂/kg limitin genel

olarak altında değerler tespit edilmiştir. Ozonlanmış fındık örneklerinin peroksit değerleri kontrol örneği ile karşılaştırıldığında; (1 nolu) 200 mg/sa, 30 dk ozonlanmış örnek hariç, diğer örneklerde önemli düzeyde farklılık ($p<0.05$) bulunmuştur.

Herhangi bir uygulama yapılmamış fındık numunelerinin başlangıçta peroksit sayısı 3.60 meqO₂/kg olduğu tespit edilmiştir. Toksin solisyonu uygulama sonucunda 1 numaralı örnekte peroksit sayısında %8.33 oranında önemli olmayan düzeyde ($p>0.05$) artış görölmüştür. Yüksek doz olan 600 mg/sa ozon gazı önceden belirlenmiş periyotlarda uygulanmıştır. Yarım saat uygulama sonucunda %36.66 oranında önemli düzeyde artış gözlemlenirken; 1 ve 2 saat ozonla muamele edilen örneklerin peroksit sayısında sırasıyla %43.33 ve %212.35'lik önemli düzeyde artış tespit edilmiştir. Düşük doz olan 200mg/sa ozon gazının 30, 60 ve 120 dk uygulanması sonucunda sırasıyla %7.94, % 28.97 ve % 123.84 oranında artışa sebep olmuştur. 1 numaralı kontrol örneğine göre 6 ve 7 numaralı örneklerin peroksit sayısındaki artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). En yüksek peroksit değerine (12.18) sahip örnek 4 numaralı fındık örneğine ait yağ olmuştur (Çizelge 4.3.1).

Genel olarak; 0 ve 1 numaralı örnekler karşılaştırıldığında toksin uygulamasından dolayı ortamdaki peroksit sayısında önemli bir değişim gözlemlenmezken, ozon uygulaması sonucunda, ozon gazının ortamdaki toksinlere ve bileşenlere etki etmesinden dolayı peroksitlerde belirli oranda artış tespit edilmiştir. Ozonlama dozunun artışına paralel olarak örneklerdeki peroksit sayısı da artış göstermiştir.

Oksidatif acılaşma oksijenin ester yapısında ve serbest olarak bulunan doymamış yağ asitleri ile reaksiyonu sonucu ortaya çıkmaktadır (Bonvehi ve Rosuans 1996). Ozon uygulama dozu ve süresi uzadıkça ozon molekülleri daha fazla yağ molekülleri ile temas edebilmektedir.

Ozon gıdalarda bulunan doymamış yağ asitlerindeki çift bağlara etki ederek hidroperoksitler, ozonitler, aldehitler, peroksitler gibi diperoksitler ve poliperoksitler oluşur. Bu nedenle yağların yapısal ve kimyasal özellikleri değişebilir (Uzun ve İbanoğlu 2017). Çalışmamızda beklenildiği gibi ozon dozu ve sürenin artması ile örneklerdeki peroksit değerinde artış olmuştur. Akbaş ve Özdemir (2006), antep fıstığından ekstrakte ettikleri yağları 5.0, 7.0 ve 9.0 mg L⁻¹ konsantrasyonlarda 420 dk ozonlama işlemine tabi tuttukları çalışmada, çalışmamız sonuçlarına paralel şekilde, ozonlama ile yağların peroksit değerlerinin kontrol örneğine göre önemli düzeyde değiştiğini ($p<0.05$) tespit etmişlerdir. Bununla beraber Alencar ve ark. (2012) yer fıstığını ozonladıkları çalışmalarında ozonlama konsantrasyonu ve süresinin yer fıstığı yağının peroksit değerini önemli düzeyde ($p>0.05$) değiştirmediğini bildirmişlerdir. Aynı şekilde Chen ve ark. (2014)'da yer fıstığının ozonlanması ile peroksit değerinde önemli bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir ($p>0.005$).

Dubois ve ark. (2006), ozon gazı işleme tabi tutulan buğday tanelerindeki lipit içeriğinin etkilenmediğini bulmuşlardır. Buna karşılık Sandhu ve ark. (2011), ozon gazı işleminin (1500 ppm, 45 dakikaya kadar) buğday unu lipitlerini oksitlediğini bulmuştur. Qi ve ark. (2016), ozon uygulamasının, mısırdaki lipitlerin asit değerini %40 arttırdığını bulmuştur. Obadi ve ark. (2018), ozon gazının (5 g/sa, 45 dakikaya kadar), buğday ununun yağında palmitik asit içeriğini arttırırken, linoleik asidi oksitlediğini göstermiştir. Uygulama, asit ve lipaz aktivitesini azaltırken, lipidlerin peroksit değerini değerini arttırmıştır (Obadi ve ark. 2018). Buğday tanesindeki lipidlerin, tahıl yapıları tarafından, undakilere göre daha iyi korunduğu ve mısırdaki lipitlerin, ozondan, buğdaydakilere göre daha duyarlı olduğu görülmüştür.

Çalışmamız sonuçlarında da ozonlama uygulamasının fındık lipit oranı ve yağ asitliğine etkisinin önemli düzeyde olmaması muhtemelen matris etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3.3. Ozonlama işleminin fındık yağlarının toplam fenolik madde miktarına etkisi

Ozonlama uygulamasının fındık yağlarındaki toplam fenolik madde miktarına etkisi Çizelge 4.3.'de verilmiştir. Toksin solisyonu uygulaması sonucunda toplam fenolik madde miktarında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik olmamıştır (Kontrol 0 ve 1 arasında) ($p>0.005$). Benzer şekilde kontrol örnekleri ile her iki dozun (200 ve 600 mg/sa) 30 ve 60'şar dakikalık ozon uygulaması karşılaştırıldığında önemli düzeyde ($p>0.05$) farklılık belirlenemezken, 120 dk uygulamalarda fenolik madde miktarının önemli düzeyde ($p<0.05$) azaldığı tespit edilmiştir.

600mg/sa ozon gazının 2 saat süre ile uygulanması sonucunda fenolik madde miktarında %76.34 oranında azalma olduğu belirlenmiştir. 30 ve 60 dk, 600mg/sa ozon uygulamaları anlamlı bir değişime neden olmamasına rağmen 2 saatlik ozon uygulaması fındıkta bulunan toplam fenolik içeriğinin önemli oranda azalmasına neden olmuştur. 200 mg/sa ozon gazının 2 saat süresince uygulanması sonucunda ise fenolik madde miktarında %33.21 oranında azalış tespit edilmiştir. Genel olarak bakıldığında, ozon konsantrasyonunun 600mg/sa'dan, 200 mg/sa ozona düşmesine bağlı olarak fenolik madde miktarındaki azalma daha azdır. Bununla beraber düşük doz uygulaması da fenolik madde açısından önemli bir oranda azalmaya neden olmuştur.

Fındıktaki fenolik bileşiklerin ağırlıklı olarak dış zar kısmında bulunması (Alaşalvar ve ark. 2009, Shem-Tov ve ark. 2012), ayrıca ozon gazının düşük süre uygulamalarda, fındık

matrisi sebebiyle içerisine penetrasyonunun zayıf olması dolayısıyla fındık içerisindeki fenollerle etkileşememesi bu durumu açıklayabilir. Bununla beraber ozon ayrışma ürünlerinin fındıktaki fenolik bileşikler tarafından giderilmesinin de özellikle uzun süre uygulamada fenolik azalmanın sebebini açıklayabilir.

Alothman ve ark. (2010), taze kesilmiş tropikal meyveleri ozonladıkları (8 ± 0.2 ml/s; 0, 10, 20 ve 30 dk) çalışmada en yüksek uygulama süresinde (30 dk) meyvelerden muz ve guavada toplam fenolik içeriğinin önemli oranda ($p < 0.05$) azaldığını bildirmişlerdir. Hoigné ve Bader'e (1983) göre ozonun ayrışması ile hidroperoksil, hidroksi ve süperoksit gibi çok sayıda radikaller oluşmaktadır. Bu nedenle, ozon ayrışmasının yan ürünleri meyvelerdeki fenolik bileşikler tarafından giderilmesi, fenolik azalmaya yol açmış olabilir.

Bir başka çalışmada, ozon gazı uygulaması (12 mg L^{-1}) maydonozun toplam fenolik içeriğini sırasıyla %12 oranında düşürmüştür ($p < 0.05$) (Karaca ve Velioglu 2014). Ozon uygulaması sorghum ve buğdaydaki polifenol miktarını çok az oranda etkilemiştir (Yan ve ark. 2012, Dubois ve ark. 2006). Undaki polifenollerin ozondan az etkilenmesi muhtemelen un/tane matrisinin korumasından kaynaklanmaktadır. İki sistemdeki hücre duvarı, nişasta ve proteinin birbirine bağlı matrisi, ozonun polifenollerle etkileşime girmesi için fiziksel olarak kolayca nüfuz etmesini geciktirme eğilimindedir (Zhu 2018). Sonuç olarak; fenolik ve diğer antioksidan bileşiklerin oksidatif reaksiyonlara duyarlılıkları büyük ihtimalle bu bileşiklerin türünden ve hücre içerisindeki yerlerinden değişebilmektedir.

Chen ve ark. (2014), ozon uygulanan ve uygulanmayan yer fıstıkları polifenol ve resveratrol içeriklerinde önemli bir farklılık tespit etmemişler ($p > 0.05$) ve fenoliklerin ozonlamadan etkilenmediğini bildirmişlerdir.

4.3.4. Ozonlama işleminin fındık yağlarının antioksidan aktivitesine etkisi

Antioksidanlar, etkilerini oksidasyon süreci boyunca farklı mekanizmalar ve aşamalar kullanarak göstermektedir. Bu nedenle, tek bir test metodunun kullanılması gıdanın antioksidan kapasitesi hakkında sınırlı bilgi vermektedir. Bir örnek üzerinde farklı antioksidan kapasite tayin yöntemlerine ait sonuçların karşılaştırılması, gıdanın antioksidan gücünü ve farklı koruyucu etkilerini de ortaya çıkarabileceği gibi metodların gücü hakkında da bilgi vermektedir (Ardağ 2008). Bu çalışmada antioksidan kapasitenin belirlenmesinde sıklıkla kullanılan, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radikal süpürücü aktivite yöntemi (EC_{50}) ve ABTS (2,2-azinobis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonicacid) radikal katyonu kullanılarak

troloks eşdeğeri antioksidan kapasite tayin yöntemi (TEAC) kullanılmıştır. Sonuçlar EC₅₀ ve troloks eşdeğeri olarak (µmol trolox/g) hesaplanmıştır.

Reaksiyon ortamındaki DPPH radikalinin %50'sinin yok edilmesi için gereken etkili antioksidan konsantrasyonu EC₅₀ değeri olarak tanımlanır ve düşük EC₅₀ değeri yüksek radikal giderme aktivitesinin göstergesidir (Brand-Williams ve ark. 1995). Çalışmamızda kullanılan fındık yağlarının her biri için ayrı ayrı çizilen konsantrasyon-% inhibisyon grafiklerinden EC₅₀ değerleri belirlenmiş ve Çizelge 4.3.'de gösterilmiştir.

Toksin uygulaması sonucunda fındık örneklerinde EC₅₀ değerinde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik olmamıştır ($p>0.05$). 600 mg/sa ve 200 mg/sa ozon gazı önceden belirlenmiş farklı periyotlarda uygulanmıştır. Yarım saat ozon gazı uygulanması sonucunda sırasıyla %6.56 ve %3.80 oranında istatistiksel olarak önemli olmayan ($p>0.05$) bir artış tespit edilmiştir. 1 saatlik ozon uygulama sonucunda sırasıyla %63,80 ($p<0.05$) ve % 9,73 ($p>0.05$) oranında artış gözlemlenirken; 2 saat ozon gazı uygulama sonucunda sırasıyla her iki dozda da istatistiksel olarak önemli seviyede ($p<0.05$) %741.05 ve % 225.92'lık ciddi bir artış gözlemlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı sonuçları ile paralel şekilde yüksek sürelerdeki uygulamada önemli oranda artış görülmüştür. Düşük EC₅₀ değeri yüksek antiradikal aktiviteyi göstermektedir.

2-3-4 numaralı örnekler kontrol gruplarıyla ve kendi aralarında karşılaştırıldığında zamanla harcanan antioksidan miktarı artmıştır. 2 saat sonunda oksidatif aktivitenin fazla olmasından dolayı EC₅₀ değeri artmıştır. 5-6-7 numaralı örnekler kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında yarım saat ve 1 saat arasında önemli bir değişim gözlemlenmezken 2 saat sonunda oksidatif aktiviteden dolayı EC₅₀ değeri artmıştır ($p<0.05$).

Troloks Eşiti Antioksidan Kapasite (TEAC) yöntemi, antioksidan varlığında çözeltideki ABTS radikalinin absorbansındaki azalmanın ölçülmesine dayanmaktadır (Rice-Evans ve Miller 1984). ABTS metodu sonuçları da DPPH sonuçları ile genel olarak paralellik göstermiştir. Başlangıçta fındık örneklerinde 16.416 µmol olarak tespit edilen ABTS değeri toksin uygulaması sonucunda % 3.86 lık önemsiz ($p>0.05$) bir artış sergilemiştir. Antioksidant kapasitede 600 mg/sa ozon gazı uygulamasında kontrol grubuna göre 30, 60 ve 120 dk larda önemli düzeyde ($p<0.05$) azalma olurken, 200 mg/sa uygulamada kontrol grubuna göre sadece 120 dakikalık uygulamada önemli seviyede ($p<0.05$) azalma meydana gelmiştir. Ozon dozları kendi içerisinde karşılaştırıldığında her iki dozda da süreye bağlı değişiklik 120 dakikalık uygulamada istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Uzun süreli ozon gazı uygulaması sonucundaki antioksidan aktivitedeki beklenen önemli düşüş fındıkların fenolik madde miktarındaki azalmadan kaynaklanmaktadır.

8 ml/sn akız hızında 30 dakikalık ozon uygulaması sonucunda muz, ananas ve guava meyvelerinde antioksidant aktivitenin azaldığını Alothman ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada bildirmişlerdir. Karaca ve Velioglu (2014), yaptıkları çalışmada; ozon gazı uygulaması (12 mg L⁻¹, 20 dk) sonucu maydanozun antioksidan aktivitesinin %41 oranında azaldığını ($p<0.05$) belirtmişlerdir. Ozon bitkilere açık stomalardan girer ve hidroksil radikalleri, süperoksit anyonları, hidrojen peroksit vb. reaktif oksijen türlerini oluşturmak için sulu apoplast bileşenleriyle reaksiyona girer. Bu türler ayrıca savunmasız biyomolekülleri oksitleyebilmektedir (Karaca ve Velioglu 2014). Turunçgil yapraklarındaki antioksidan bileşikler (Iglesias ve ark. 2006) ve çileklerde fenolik içeriklerin (Allende ve ark. 2007) gazlı ozon muamelelerinden sonra azaldığı bildirilmiştir.

4.3.5. Ozonlama işleminin fındık yağlarının yağ asitleri kompozisyonuna etkisi

Ozon uygulamasının fındık yağlarındaki yağ asidi kompozisyonuna etkisi Çizelge 4.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı Ozon Konsantrasyonu (600, 200 mg/sa) ve Uygulama Süresinin (30, 60, 120 dk) Fındıkların Yağ Asidi Kompozisyonuna Etkisi

Yağ Asidi Kompozisyonu (%)	Ozon Uygulaması							
	Kontrol (0)	Kontrol (1)	600 mg/sa			200 mg/sa		
			30 dk (2)	60 dk (3)	120 dk (4)	30 dk (5)	60 dk (6)	120 dk (7)
Palmitik asit C_{16:0}	5.17 ^a	5.11 ^a	5.27 ^a	5.02 ^a	4.92 ^a	4.92 ^a	4.98 ^a	5.19 ^a
Stearik asit C_{18:0}	2.45 ^a	2.33 ^a	2.32 ^a	2.35 ^a	2.28 ^a	2.37 ^a	2.46 ^a	2.44 ^a
Oleik asit C_{18:1}	85.57 ^a	84.77 ^a	85.49 ^a	85.61 ^a	85.19 ^a	85.71 ^a	85.04 ^a	85.17 ^a
Linoleik asit C_{18:2}	6.82 ^a	7.79 ^a	6.92 ^a	7.01 ^a	7.61 ^a	7.01 ^a	7.52 ^a	7.20 ^a

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0.05$)

Fındık örneklerinde dört ana yağ asidi (palmitik, stearik, oleik ve linoleik) belirlenmiştir. Ozonlanmış ve ozonlanmamış numunelerin yağ asidi bileşimleri arasında önemli bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). Ozonlama dozu ve süresinin örneklerin yağ asidi bileşimine etki etmediği ve bu durumun ozon gazının uygulanan doz ve sürelerde fındığın içine penetrasyonun zayıf olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Akbaş ve Özdemir (2006)'de yaptıkları çalışmada benzer şekilde, yer fıstığı yağ asidi kompozisyonuna 10 mgL^{-1} ve altı doz uygulamasının önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir ($p>0.05$). Bununla beraber; aloe tozu, arı poleni ve kırmızı ginseng tozunun yüksek ozon konsantrasyonuna (yaklaşık 18.0 mgL^{-1}) uzun süreli (8 saat) maruz kalmasının yağ asitlerindeki çift bağların yıkımına sebep olması sebebiyle, yağ asidi kompozisyonunda önemli değişiklik olduğu bildirilmiştir (Byun ve ark. 1997, Byun ve ark. 1998, Yook ve ark. 1997). Obadi ve ark. (2018), ozon gazı (5 g/h , 45 dk üzeri) muamelesinin buğday unu yağındaki palmitik asit içeriğini arttırırken, linoleik asiti okside ettiğini belirtmişlerdir. Ozon uygulanan ürün çeşidi, ürün yapısı ve uygulanan ozonlama doz ve sürelerle bağlı olarak ozon gazının yağ asidi kompozisyonuna etkisi değişiklik gösterebilmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda aflatoksin kontamine ettiğimiz çiğ fındık örneklerine ozon gazı uygulaması iki farklı konsantrasyon (200 ve 600 mg/sa) üç farklı süre (30, 60 ve 120 dk) ile uygulanmıştır. Çalışma sonucunda; fındıkta toplam aflatoksin miktarının, yönetmelikte belirtilen limit değer (15 ppm) altına indirilebilmesi için gereken ozonlama süresi 600 mg/sa konsantrasyon için 60 dk, 200 mg/sa için, 120 dk olduğu tespit edilmiştir. Her iki doz uygulamada da aflatoksin değerlerindeki önemli oranda azalmalar 60 dk ve üzerinde görülmüştür.

Fındıklara uygulanan 200 mg/sa ozon gazı konsantrasyonunda fındıklardaki aflatoksin G1, G2, B1, B2 ve toplam aflatoksin ancak 120 dk sonunda tamamen degrade olurken, 600 mg/sa konsantrasyonda aflatoksin G1 ve B1 için 60 dk, G2, B2 ve toplam aflatoksin varlığının tamamen ortadan kaldırabilmesi için ise 120 dk gerekli olduğu belirlenmiştir. Fındıklara inoküle edilen aflatoksin G1 ve B1'in ozonlama işlemine karşı diğer aflatoksinlere göre daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Fındıklara ozon uygulaması sonucunda detoksifikasyon istenilen düzeyde sağlanmıştır. Fındık örneklerinde özellikle ozon dozundan çok sürenin tamamen detoksifikasyonda daha öne çıktığı ve her iki dozda da 120 dakikalık uygulamanın belirlenebilir limitin altına düşürdüğü görülmüştür. Fındıkta ekonomik kayıpları ve sağlık tehlikelerini sınırlamak için aflatoksin oluşumunu kontrol etmek ve aflatoksin seviyesini azaltmak için yeni yöntemlere ihtiyaç vardır. Bu araştırmanın sonuçları, ozon gazı uygulamasının, kotamine fındıklarda aflatoksinlerin bozulmasında önemli bir etkisi olduğunu göstermiştir.

Ozon uygulamasının fındıkların fizikokimyasal özelliklerine etkisi de incelenmiştir. Genel olarak ozonlama işlemi ile fındıkların yağ oranı ve renk değerlerinde önemli değişiklikler ($p>0.05$) olmazken, ozonlama süresinin artması ile örneklerin sertlik değerlerinde önemli düzeyde ($p<0.05$) artış tespit edilmiştir. Fındık örneklerinin su aktivitesi değerlerinde sadece 200 mg/sa konsantrasyonda 60 ve 120 dk lık uygulamalar sonucunda önemli düzeyde ($p<0.05$) artış belirlenmiştir.

Fındık yağlarının serbest yağ asitliği oranında ozonlamaya bağlı olarak önemli bir farklılık ($p>0.05$) gözlemlenmezken peroksit sayısında süreye bağlı olarak önemli oranda ($p<0.05$) artış tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarında özellikle uygulanan her iki dozun en yüksek sürelerinde ciddi oranda azalma belirlenirken buna paralel olarak antioksidant aktivite değerleri de bu sürelerde önemli oranda düşmüştür. Ozonlama işlemi fındık yağlarının yağ asidi kompozisyonunda önemli düzeyde ($p>0.05$) bir değişiklik

gerçekleştirmemiştir. Fındıklardan ekstrakte edilen yağ parametreleri ile ilgili olarak, ozon maruziyetinden dolayı önemli bir kalite kaybı olmadığı sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak; fındıklara 200 mg/sa, 120 dk ve 600 mg/sa, 60 dk ozon gazının uygulanması ile aflatoksin parçalanması önemli oranda sağlanabilirken fındıkların kalite özellikleri de korunabilir.

Bundan sonraki çalışmalarda, ozonlama ile aflatoksinlerin detoksifiye edilmesine yönelik mekanizma ve özellikle parçalanma son ürünleri üzerine çalışmaların yapılması önerilebilir. Sıcaklık parametresi üzerinde değişiklikler yapıp, ozon dozu veya sürenin azaltılmasına yönelik çalışmalar yapılması önerilebilir. Ayrıca farklı gıdalar üzerinde de bu kombinasyonlar üzerinde çalışmalar geliştirilebilir.

6. KAYNAKLAR

- Akbaş M ve Özdemir M (2006). Effect of Different Ozone Treatments on Aflatoxin Degradation and Physicochemical Properties of Pistachios. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 2099–2104.
- Akpınar Ş (2006). Gıdalar, Yemler ve Mikotoksinler. Ordu Tarım İl Müdürlüğü İnternetKayıtları, <http://www.ordutarim.gov.tr/subeleler/kontrol/aflatoksin/toksinler.htm>.
- Akpınar Ş (2008). Aflatoksinin Fındık İhracatına Etkisi. *Ordu' da Gıda Güvenliği* 2(5), 26-27.
- Aktaş T, Ülger P, Dağlıoğlu F, Hastürk F (2013). Changes of Nutritional and Physical Quality Characteristics During Storage of Osmotic Pretreated Apple Before Hot Air Drying and Sensory Evaluation. *Journal of Food Quality*, 36: 411-425
- Alaşalvar C, Shahidi F, Amaral JS, Oliveira B.P.P (2009). Compositional Characteristics and Health Effects of Hazelnut (*Corylus avellana* L.): An overview. In C. Alaşalvar & F. Shahidi (Eds.), *Tree nuts: Compositions, phytochemicals, and health effects* (pp. 185–214). Boca Raton, FL: CRC Press Taylor & Francis Group.
- Alaşalvar C, Shahidi F, Liyanapathirana CM, Ohshima T (2003). Turkish Tombul Hazelnut (*Corylus avellane* L.) 1. Compositional Characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3790-3796.
- Alencar E (2012). Efficacy of Ozone as a Fungicidal and Detoxifying Agent of Aflatoxins in Peanuts. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92: 899-905.
- Allen B, Wu J, Doan H (2003). Inactivation of Fungi Associated with Barley Grain by Gaseous Ozone. *J Environ Sci Health B. Sep*, 38(5): 617-630
- Allende A, Marin A, Buendia B, Tomas-Barberan F, Gil MI (2007). Impact of Combined Postharvest Treatments (UV-C light, gaseous O₃, superatmospheric O₂ and high CO₂) on Health Promoting Compounds and Shelf-life of Strawberries. *Postharvest Biol. Technol.* 46: 201–211.
- Allothman M, Kaur B, Fazilah A, Bhat R, Karim AA (2010). Ozone-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11: 666-671.
- Alparslan Y, Baygar T, Yıldız D (2012). Su Ürünleri İşleme Tesislerinde Ozon ve Önemi *Electronic Journal of Food Technologies*, 7: 24-31.
- Aluç M, Aluç S (2003). Akçakoca Ordu ve Giresun İlçelerinde Yetiştirilen Fındıklarda Aflatoksin Düzeylerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma. *I. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildiriler Kitabı*, 18-19 Eylül, İstanbul. Syf 60-67.
- Andersen SO, Sarma KM (2002). *Protecting the Ozone Layer*. London, UK: Earthscan Press.
- Anonim (2017b). <http://www.kib.org.tr> (17.05.2017).
- Anonim (2017a). <http://www.ftg.org.tr> (17.05.2017).
- AOAC (1994). Official Method 991.31 Aflatoxins in Corn, Raw Peanuts and Peanut Butter 31A Method Performance for Aflatoxins in Corn, Raw Peanuts, and Peanut Butter n.d.)

- Ardağ A (2008). Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemlerinin Analitik Açından Karşılaştırılması. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, 54 s.
- Asao T, Buchi G, Abdel Kader MM, Chang SB, Wich EL, Wogan GN (1965). The Structures of Aflatoxins B1 and G1. *J. Am. Chem. Soc.*, 89:882-886
- Ayçiçek H, Aksoy A, Saygı S (2005). Determination of Aflatoxin Levels in Some Dairy and Food Products Which Consumed in Ankara, Turkey. *Food Control*, 16, 263–266.
- Babadoğan G (2009). Fındık ve Fındık Mamülleri. TC Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüt Merkezi.
- Babuççu O (2011). Ozon Terapi Mit ve Gerçek Türk Plastik ve Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Dergisi, 19: 105-110
- Bacaloni A, Cavaliere C, Cucci F, Foglia P, Samperi R, Laganà A (2008). Determination of Aflatoxins in Hazelnuts by Various Sample Preparation Methods and Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1179: 182- 189.
- Barboni T ve ark. (2010). Effect of Cold Storage and Ozone Treatment on Mphysicochemical Parameters, Soluble Sugars and Organic Acids and Actinidia Deliciosa. *Food Chemistry* 121: 946- 951.
- Barriga ML, Trachy G, Willomot C ve Simard RE (1991). Microbial Changes in Shredded İceberg Lettuce Stored Under Controlled Atmospheres. *Journal of Food Science*, 56(6): 1586-1588.
- Barung D, Bhatnagar D, Van Egmond HP, Van der Kamp JW, Van Osenburggen WA ve Visconti A (2006). *The Mycotoxin Fact Book: Food and Feed Chain*. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic, 182.
- Başaran P, Özcan M (2009). Occurrence of Aflatoxins In Various Nuts Commercialized In Turkey. *Journal of Food Safety* 29: 95- 105.
- Bayman P, Baker JL ve Mahoney NE (2002). Aspergillus on Tree Nuts: Incidence and Associations. *Mycopathologia*, 155:161–169.
- Bennett JW, Klich M (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3): 497-516.
- Beuchat LR, Chmielewski R, Keswani J, Law SE ve Frank JF (1999). Inactivation of Aflatoxigenic Aspergilli by Treatment with Ozone. *Letters in Applied Microbiology*, 29: 202-205.
- Bhatnagar D ve Garcia S (2001). Aspegillus in Guide to Foodborne Pathogens. Eds. Labbe, R.G. & Garcia S, Wiley Interscience, 35-50, New York, USA.
- Bircan C, Barringer SA, Ulken U, Pehlivan R (2008). Aflatoxin Levels in Dried Figs, Nuts and Paprika for Export From Turkey. *International Journal of Food Science and Technology*, 43: 1492- 1498.
- Blesa J, Soriano JM, Moltò JC, Mañes (2004). Limited Survey for The Presence of Aflatoxins in Foods From Local Markets and Supermarkets in Valencia, Spain. *Food Additives and Contaminants*. 21 (2): 165–171.
- Bonvehı JS, Rosua NS (1996). Enzymatic Activities in the Varieties of Hazelnuts (*Corylus avellana* L.) Grown in Tarragona, Spain. *Food Chemistry*, 56(1):39-44.
- Bott TR (1991). Ozone as a disinfectant in process plant. *Food Control*, 2 (1): 45-49.

- Bourne M (2002). "Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement" Academic Press, 427s, New York, ABD
- Brand-Williams W, Cavalier ME ve Berset C (1995). Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Food Science and Technology*, 28(1): 25-30.
- Byun MW, Yook HS ve Kween OJ (1997). Comparative Effects of Gamma İrradiation and Ozone Treatment on Hygienic Quality of Aloe Powders. *Int J Food Sci Technol* 32: 221–227.
- Byun MW, Yook HS, Kang IJ, Chung CK, Kwon JH, Choi KJ (1998). Comparative Effects of Gamma İrradiation and Ozone Treatment on Hygienic Quality of Korean Red Ginseng Powder. *Radiat Phys Chem* 52: 95–99.
- Calderon RL (2000). The Epidemiology of Chemical Contaminants of Drinking Water. *Food and Chemical Toxicology*, 38: 13-20.
- Campbell BC, Molyneux RJ ve Schatzki TF (2003). Current Research on Reducing Preand Post-Harvest Aflatoxin Contamination of US Almond, Pistachio, and Walnut, *Journal of Toxicology Toxin Reviews*, 22: 225–266.
- Cemeroğlu B (2007). Gıda Analizleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No. 34, Ankara.
- Chang YH ve Sheldon BW (1989). Application of Ozone with Physical Waste Water Treatments to Recondition Poultry Process Waters, *Poultry Science*, 68 (8): 1078-1087
- Chen R, Maa F, Li P-W, Zhang W, Ding X-X, Zhang Q, Li M, Wanga Y-R, Xu B-C (2014). Effect of Ozone on Aflatoxins Detoxification and Nutritional Quality of Peanuts. *Food Chemistry*, 146: 284–288.
- Cheraghali AM, Yazdanpanah H, Doraki N, Abouhossain G, Hassibi M, Ali-abadi, S Aliakbarpoor M, Amirahmadi M, Askarian A, Fallah N, Hashemi T, Jalali M, Kalantari N, Khodadadi E, Maddah B, Mohit R, Mohseny M, Phaghihy Z, Rahmani A, Setoodeh L, Soleimany E ve Zamanian F (2007). Incidence of Aflatoxins in Iran Pistachio Nuts, *Food and Chemical Toxicology*, 45: 812–816
- Cherry JP (1999). Improving the Safety of Fresh Produce with Antimicrobials. *Food Tech.*, 53: 54-59.
- Coomes TJ, Crowther PC, Feuall AJ, Francis BJ (1966). Experimental Detoxification of Groundnut Meal Containing Aflatoxin. *Nature*, 209:406-407.
- Çatal H, İbanoğlu Ş (2010). Gıdaların Ozonlanması. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(3): 47-55.
- Çavuşoğlu G (2014). Farklı Doz Ozon Gazı Uygulamalarının Hasat Sonrası Soğukta Saklama Sırasında Brokoli, Salatalık ve Domates Kalitesi Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- De Fabo EC (2000). Stratospheric Ozone Depletion: UVB Effects , the Neglected Aspect. *Int J Circumpolar Health*, 59: 2 3.
- Demir MK, Elgün ve Elgün MS (2011). Farklı Tip Unlara Ozon Uygulamasının Un, Hamur ve Ekmek Kalitesi Üzerine Etkisi, *Gıda*, 4 (36): 209-216.
- Denizel T, Rolfe EJ ve Jarvis B (1976). Moisture-Equilibrium Relative Humidity Relationships in Pistachio Nuts with Particular Regard to Control of Aflatoxin Formation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 27:1027–1034.

- Dini A, Khazaeli P, Roohbakhsh A, Madadlou A, Pourenamdari M, Setoodeh L, Askarian A, Doraki N, Farrokhi H, Moradi H ve Khodadadi E (2013). Aflatoxin Contamination Level in Iran's Pistachio Nut During Years 2009, *Food Control*, 30: 540-544.
- Dubois M, Coste C, Despres AG, Efstathiou T, Nio C, Dumont E ve Parent-Massin D (2006). *Food Additives and Contaminants: Part A- Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 23: 1-15.
- Dutton MF, Heathcote JG (1966). Two New Hydroxyaflatoxins. *Biochem*, 101: 21-22
- Ekici L, Sağdıç O, Kesmen Z (2006). Gıda Endüstrisinde Alternatif Bir Dezenfektan: Ozon. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*. 1: 47-57.
- El Tawila, MM, Neamatallah A ve Serdar SA (2013). Incidence of Aflatoxins in Commercial Nuts in the Holy City of Mekkah, *Food Control*, 29: 121-124.
- El-Desouky TA, Sharoba AMA, A I El-Desouky, El-Mansy HA ve Khayria Naguib (2012). Effect of Ozone Gas on Degradation of Aflatoxin B1 and *Aspergillus Flavus* Fungal. *J Environment Analytic Toxicol*, 2: 2-6.
- Elgün A ve Ertugay Z (1995). Tahıl İşleme Teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 718:376, Erzurum.
- Erdem T (2007). Ozonlu Su İle Yıkanan Kırmızı Pul Biberin Mikrodalga Enerjisi İle Kurutulması. Yüksek lisans tezi ,Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Ersoy D, Sanver S (1994). *Çevre Dergisi*, Ocak-Şubat-Mart,10.
- Fangmeier A, Grueters U, Vermehren B ve Jaeger HJ, (1997). Effects of Elevated CO₂ Nitrogen Supply and Trosphoric Ozone on Spring Wheat, *Environmental Pollution*, 96: 43-59.
- Francis GA, Thomas C ve O'beirne D (1999). The Microbiological Safety of Minimally Processed Vegetables *International Journey Food Scentis and Technology*, 34: 1-22.
- Fraser GE, Sabate J, Beeson WL, Strahan TMA (1992). Possible Protective Effect on Nut Consumption on Risk of Coronary Heart Disease. *Arch. Intern. Med.*, 152: 1416-1424.
- Garzón GA, Wrolstad RE (2009). Major Anthocyanins and Antioxidant Activity of *Nasturtium Fowers* (*Tropaeolum majus*). *Food Chemistry* 114: 44-49
- Giordano BNE, Nones J, Scussel V (2012). Susceptibility of the In-shell Brazil Nut Mycoflora and Aflatoxin Contamination to Ozone Gas Treatment during Storage. *Journal of Agricultural Science*, 4: 1916-9752.
- Gökalp HY, Kaya M, Tülek Y, Zorba Ö (1995). Et ve Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Kılavuzu. Atatürk Üniversitesi Yayın No: 751, Ziraat Fakültesi Yayın No: 318, Ders Kitapları Seri No: 69, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum, 268 s.
- Graham DM (1997). Use of Ozone for Food Processing. *Food Technology*, 51: 72-75.
- Grass ML, Vidal D, Betoret N, Chiralt A ve Fito P (2003). Calcium Fortification of Vegetables by Vacuum İmpregnation Interactions with Cellular Matrix. *Journal of Food Engineering*, 56(2-3): 279-284.
- Greene AK, Few BK, ve Serafini JC (1993). A Comparison of Ozonation and Chlorination for the Disinfection of Stainless Steel Surfaces. *J. Diet. Sci.*, 76: 3617- 3620.

- Gürse M (2006). Mycoflora and Aflatoxin Content of Hazelnuts, Walnuts, Peanuts, Almonds and Roasted Chickpeas (Leblebi) Sold In Turkey. *International Journal of Food Properties*, 9: 395– 399.
- Güzel-Seydim ZB, Grene AK ve Seydim AC (2004). Use of Ozone in the Food Industry. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 37: 453-460.
- Hadorn H, Keme T, Kleinert J, Zürcher K (1977). The Behaviour of Hazelnuts Under Different Storage Conditions. *CCB Review for Chocolate Confectionery and Bakery*, 2(2):16, 25-28, 30: 32-39.
- Heperkan D (2003). Gıdalarda Mikotoksinler ve Ülkemiz Açısından Önemi. *Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildirler Kitabı*, 1-7, İstanbul.
- Heperkan D (2014). Gıdalarda Mikotoksinler. Heperkan D. (Ed), *Mikotoksinlerin Önemi* ,1-21. İzmir, Sidas Medya.
- 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.
- Herbold K, Flehmig B ve Botzenhart K (1989). Comparison of Ozone Inactivation, in Flowing Water, of Hepatitis A Virus, Poliovirus 1, and Indicator Organisms. *Appl Environ Microbiol.*, 55: 2949 2953.
- Hoigné J, Bader H (1983). Rate Constants of Reactions of Ozone with Organic and Inorganic Compounds in Water. I: Non-dissociating organic compounds. *Water Research*, 17: 173–183.
- Hwang E.S, Cash J.N ve Zabik M.J (2001). Postharvest Treatments for the Reduction of Mancozeb in Fresh Apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6): 3127-3132.
- Hwang ES, Cash JN ve Zabik MJ (2002). Degradation of Mancozeb and Ethylenethiourea in Apples Due to Postharvest Treatments and Processing. *Food Chemistry and Toxicology*, 67(9): 3295-3300.
- Iglesias DJ, Calatayud A, Barreno E, Primo-Millo E, Talon M 2006. Responses of Citrus Plants to Ozone: Leaf Biochemistry, Antioxidant Mechanisms and Lipid Peroxidation. *Plant Physiol. Biochem*, 44: 125–131.
- İbanoğlu Ş (2001). Influence of Tempering with Ozonated Water on the Selected Properties of Wheat Flour, *Journal of Food Engineering*, 48: 354-350.
- İleri Ç ve Sezen İY (2003). Düşük Konsantrasyonlu Ozonun *Candida albicans* Üzerine Olan Etkisi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 01(12): 1- 6.
- İnan F, Pala M, Doymaz I (2007). Use of ozone in detoxification of aflatoxin B1 in red pepper. *Journal of Stored Products Research*. 43, 425-429.
- İsaksen ISA (1998). *Tropospheric Ozone: Regional and Global Scale Interactions*. Dordrecht, Holland: Kluwer Academic Press.
- Jacqueline IK (1981). *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. 3rd ed. John Wiley & Sons.
- Jaimez J, Fente CA, Vazquez BI, Franco CM, Cepeda A, Mahuzier G, Prognon P (2000). Application of the Assay of Aflatoxins by Liquid Chromatography with Fluorescence Detection in Food Analysis. *Journal of Chromatography*, 882:1-10.

- Jalili M ve Jinab S (2012). Natural Occurrence of Aflatoxins and Ochratoxin A in Commercial Dried Chili, *Food Control*, 24: 160-164.
- Jasenska Z (1993). *Micromycetes in Foodstuffs and Feedstuff*. Elsevier, 28: 4-11.
- Jaworska G, Pogon K, Bernas E, Skrzypczak A (2014). Effect of Different Drying Methods and 24-Month Storage on Water Activity, Rehydration Capacity, and Antioxidants in *Boletus edulis* Mushrooms. *Drying Technology*, 32: 291–300.
- Jay JM (1992). *Modern Food Microbiology*, Van Nostiond Reinhoki, 115 fifth Rovenue New York, 10003
- Jinab S, De Rijk, TC, Arzandeh S, Kleijnen HCH, Zomer P, Van der Weg G ve Mol JGJ (2012). Aflatoxin Determination Using in-line İmmunoaffinity Chromatography in Foods. *Food Control*, 26: 42-48
- Karaca H, Velioglu YS (2007). Ozone Applications in Fruit and Vegetable Processing. *Food Reviews International*, 23: 91–106.
- Karaca H, Walse SS ve Smilanick JL (2012). Effect of Continuous 0.3 µL/L Gaseous Ozone Exposure on Fungicide Residues on Table Grape Berries. *Postharvest Biology and Technology*, 64: 154-159.
- Kartal G, Perveli K, Kaya N, Karadurmuş E (2009). Şehir Şebeke, Kuyu ve Kaynak Sularının Ozonlanması İle Fiziksel, Kimyasal Ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin İncelenmesi, Çorum.
- Kells SA, Mason LJ, Maier DE ve Woloshuk CP (2001). Efficacy and Fumigation Characteristics of Ozone in Stored Maize. *Journal of Stored Products Research*, 37: 371-382.
- Keme T, Messerli M, Shejbal J, Vitali F (1983). The storage of hazelnuts at room temperature under nitrogen (II). *Review for Chocolate-Confectionery and Bakery*, 8(2):15-24.
- Keser O ve Kutay H (2009). Mikotoksinlerin Önlenmesinde Kullanılan Bazı Yöntemler II.Kimyasal Ve Biyolojik Yöntemler. İ.U. Veterinerlik Fakültesi Dergisi 35 (1): 19-30
- Khadre MA ve Yousef AE (2001). Sporicidal Action of Ozone and Hydrogen Peroxide: a Comparative Study. *International Journal of Food Microbiology*, 71: 131-138.
- Khadre MA, Yousef AE, Kim JG (2001). Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A review. *J. Food Sci.* 66: 1242–1252.
- Kilcast D (2013). *Instrumental Assessment of Food Sensory Quality*. Woodhead Publishing Limited, 650s, Philadelphia, ABD.
- Kim CK, Gentile DM ve Sproul OJ (1980). Mechanism of Ozone İnactivation of Bacteriophage f2. *Applied and Environmental Microbiology*, 39: 210-218.
- Kim JG, Yousef AE ve Dave S (1999a). Application of fer Enhancing the Microbiological Safety and Quality of Foods: A review. *Journal of Food Protect*, 62(9): 1071-1087.
- Kim JM, Wei CI, Huang TS, Lin WF, Tamplin ML ve Bartz JA (1999b). Growth and Survival of *Salmonella* Montevideo on Tomatoes and Disinfection with Chlorinated Water. *Journal of Food Protection*, 58: 829-836.
- Kirilov IM, Dokic GM ve Popov SZ (2013). Validation of Immunoenzymatic Tests for The Detection of Aflatoxin Presentin Food. *Jour. Nat. Sci*, 124: 37-50, Matica Srpska, Novi Sad.

- Klaasen CD (2001). Casarett & Doull s Toxicology (6th ed.). New York: McGraw-Hill.
- Knekt P, Aromaa A, Maatela J, Aaran R, Hadama M, Tepp L (1991). Vitamin E and Cancer Prevention. *Am. J. Clin. Nutr.*, 53: 2853-2865.
- Komanapalli IR ve Lau BHS (1998). Inactivation of Bacteriophage λ , *Candida Albicans* and *Escherichia Coli* by Ozone. *Appl Microbiol Biotechnol* , 49: 766-769.
- Koyuncu MA, Seydim AC, Dilmaçunal T, Savran E, Taş T (2008). Effects of Different Precooling Treatments with Ozonated Water on the Quality of '0900 Ziraat' Sweet Cherry Fruit. *Acta Horticulturae*, 795: 831-836.
- Krishna MT, Mudway I, Kelly FJ, Frew AJ, Holgate ST (1995). Ozone, Airways and Allergic Airways Disease. *Clin Exp Allergy*, 25: 1150-1158.
- Kuşçu A ve Pazır F (2004). Gıda Endüstrisinde Ozon Uygulamaları. *Gıda Teknolojisi*, 29 (2): 123-129.
- Labell FM (1983). Hazelnut Paste Provides Sweet, Delicate Flavour. *Food Process*.44: 80-84.
- Labuza TP (1971). Kinetics of Lipid Oxidation in Foods. *CRC Critical Reviews in Food Technology*, 355-405.
- Lafi WK ve Al-Qodah Z (2006). Combined Advanced Oxidation and Biological Treatment Processes for the Removal of Pesticides from Aqueous Solutions. *Journal of Hazardous Materials*, B137: 489-497.
- Leh F (1973). Ozone, Properties, Toxicity, and Applications. *J Chem Ed*, 50:404-405.
- Liberti L ve Notarnicola M (1999). Advanced Treatment and Disinfection for Municipal Wastewater Reuse in Agriculture. *Water Sci. Tech*, 40: 235-245.
- Lopez A, Pique MT, Boatella J, Parcerisa J, Romero A, Ferran A, Garcia J (1997). Influence of Drying Conditions on the Hazelnut Quality I. Lipid Oxidation. *Drying Technology*, 15(3/4): 979-988.
- Maeba H, Takamoto Y, Kamimura M, Miura T (1988) Destruction and Detoxification of Aflatoxins with Ozone. *J. Food Sci.*, 53(2):667-668.
- Magan N ve Olsen M (2004). *Mycotoxins in Food: Detection and Control*. Abington, s 17, Woodhead Publishing, UK: 2004.
- Manonmani HK, Anand S, Chandrashekar A ve Rati ER (2005). Detection of Aflatoxigenic Fungi in Selected Food Commodities by PCR. *Process Biochemistry*, 40: 2859-2864.
- Martinez-Sanchez A, Allende A, Bennett RN, Ferreres F ve Gil MI (2006). Microbial, Nutritional and Sensory Quality of Rocket Leaves as Affected by Different Sanitizers. *Postharvest Biology and Technology*, 42(1): 86-97.
- Marty-Audouin C, Rocha-Mier A (1999). Influence of Drying on the Colour of Plant Products, *Developments in Drying: Food Dehydration (Vol. 1)*, Ed: Mujumdar AS, Sirikayala. Bangkok Kasetsart University Press, 207-233, Thailand.
- McKenzie KS (1997). Degradation and Detoxification of Common Chemical Contaminants of Food and Water Using Ozone Generated by Electrolysis. [Dissertation]. College Station, s 200 TX: Texas A & M University..
- McKenzie KS, Kubena LF, Denvir AJ, Rogers TD, Hitchens GD, Bailey RH, Harvey RB, Buckley SA, Phillips TD (1998). Aflatoxicosis in Turkey Poults is Prevented by

- Treatment of Naturally Contaminated Corn with Ozone Generated by Electrolysis. *Poultry Sci.* 77: 1094-1102.
- Mendez F, Maier DE, Mason LJ ve Woloshuk CP (2003). Penetration of Ozone into Columns of Stored Grains and Effects on Chemical Composition and Processing Performance, *Journal of Stored Products Research*, 39: 33-44.
- Meral G, Boyacioglu D (1985). Türkiye’de Aflatoksin Çalışmaları. E.Ü. Mühendislik Fakültesi Dergisi, 3: 26-29
- Metzger C, Barnes JD, Singleton I ve Andrews P (2007). Effect of Low Level Ozone-Enrichment on the Quality and Condition of Citrus Fruit Under Semicommercial Conditions. IOA Conference and Exhibition, 29-31, Valencia, Spain.
- Meunier L, Canonica S, Von Gunten U (2006). Implications of Sequential use of UV and Ozone for Drinking Water Quality. *Water Research*, 40: 1864– 1876.
- Mulchi CL, Sammons DJ ve Baenziger PS (1986). Yield and Grain Quality Responses of Soft Red Winter Wheat Exposed to Ozone During Anthesis, *Agronomy Journal*, 78: 593-600.
- Naito S ve Takahara H (2006). Ozone Contribution in Food Industry in Japan. *Ozone: Science and Engineering*, 28 (6): 425-429.
- Naito S, Okada Y ve Sakai T (1987). Studies on Utilization of Ozone in Food Preservation Part III. Microbicidal Properties of Ozone on Cereal Grains, Cereal Grain Powders, Peas, Beans and Whole Spices, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 34 (12):788-793.
- Naito S, Sawado Y ve Yamaguchi N (1989). Studies on Utilization of Ozone in Food Preservation: Effect of Ozone Treatment on Storage of Packaged Namamen Japanese Raw Noddle, *Journal of Antibacterial Antifungal Agents*, 17: 517-526.
- Nesbitt BF, O’kelly J, Sargeant K, Sheridan A (1962). Toxic Metabolites of *Aspergillus Flavus*. *Nature*, 195:1062-1063.
- Nydahl MC, Gustafson IB, Vessby B (1994). Lipid-Lowering Diets Enriched with Monounsaturated or Polyunsaturated Fatty Acids but Low in Saturated Fatty acids have Similar Effects on Serum Lipid Concentrations in Hyperlipidemic Patients. *Am. J. Clin. Nutr.*, 59: 115-122.
- Obadi M, Zhu KX, Peng W, Noman A, Mohammed K, Zhou HM (2018). Oil Characterization of Whole Grain Flour as Effected by Ozone Gas. *Journal of Cereal Science*, 79: 527–533.
- Omak G, Özcan T, Ersan L (2016). Biyolojik Detoksifikasyon ve Probiyotikler. U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 30(1): 157-168
- Ong KC, Cash JN, Zabik MJ, Siddiq M ve Jones AL (1996). Chlorine and Ozone Washes for Pesticide Removal from Apples and Processed Apple Sauce. *Food Chemistry*, 55(2): 153-160.
- Ozay G, Seyhan F, Pembeci C, Saklar S, Yılmaz A (2008). Factors Influencing Fungal and Aflatoxin Levels in Turkish Hazelnuts (*Corylus avellana* L.) During Growth, Harvest, Drying and Storage: A 3-year study. *Food Additives and Contaminants*. 25(2): 209–218.
- Özcan M (1990). Pozantı- Kamışlı Vadisinde Yetişen Amasya Starking ve Golden Delicious Elmalarının Muhafazası Üzerine Araştırmalar, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı, 311, Adana.

- Özçakmak S, Dervişoğlu M (2007). Fındıkta Aflatoksin Oluşumuna Etkili Faktörler, Avrupa Birliği' nin Limit Değerlerle İlgili Düzenlemeleri ve Türk Fındığının İhracatına Etkileri. *Gıda*, 32(1): 33- 40.
- Özdemir M (1997). Türk Fındık Çeşitlerinin Özelliklerinin Kalite Açısından Değerlendirilmesi. *Gıda Teknolojisi*, 2(10): 46-52.
- Özdemir M, Devres O (1999). Turkish Hazelnuts: Properties and Effect of Microbiological and Chemical Changes on Quality. *Food Rev. Int.*, 15: 755-759
- Pascual A, Llorca I ve Canut A (2007). Use of Ozone in Food Industries for Reducing the Environmental Impact of Cleaning and Disinfection Activities. *Trends in Food Science and Technology*, 18: 29-35.
- Patil S, Bourke P, Frias JM, Tiwari BK, Cullen PJ (2009). Inactivation of Escherichia Coliin Orange Juice Using Ozone. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10: 551–557.
- Pleijel H, Skarby L, Walin G ve Sellden G (1995). A Process Oriented Explanation of the Non-Linear Relationship Between Grain Yield and Ozone Exposure, *New Physiologist*, 131: 241-246.
- Proctor A, Ahmedna A, Kumar J, Goktepe I (2004). *Food Additives and Contaminants*, 21(8): 786-793
- Pryor WA, Das B ve Church DF (1992). The Ozonation of Unsaturated Fatty Acids: Aldehydes and Hydrogen Peroxide as Products and Possible Mediators of Ozone Toxicity. *Chem Res Toxicol.*, 4: 341-348.
- Qi L, Li Y, Luo X, Wang R, Zheng R, Wang L (2016). Detoxification of Zearalenone and Ochratoxin A by Ozone and Quality Evaluation of Ozonised corn. *Food Additives & Contaminants*, 33: 1700–1710.
- Re R, Pellegrini N, Protrggente A, Pannala A, Yang M ve Rice-Evans C (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Madicine*, 26: 1231-1237.
- Rice-Evans CA ve Miller NJ (1984). Total Antioxidant Status in Plasma and Body Fluids. *Methods in Enzymology*, 234: 279-293.
- Ruan R, Liu Z, Deng S, Lin X, Yu F, Li Y ve Chen PL (2004). Removal of Pesticides Residues in Produce with Ozonated Water Wash. *CIGR International Conference*, pp. 1-6, Beijing, China.
- Rudorff BFT, Mulchi CL, Fenny P, Lee EH ve Rowland R (1996). Wheat Grain Quality Under Enhanced Tropospheric CO₂ and O₃ Concentrations. *Journal Environmental Quality*, 25: 1384-1388.
- Sandhu HPS, Manthey FA, Şimşek S (2011). Quality of Bread Made From Ozonated Wheat (*Triticum aestivum* L.) Flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 1576–1584.
- Sargeant KA, Sheridan A, O'Kelly J, Carnaghan RBA (1961). Toxicity Associated With Certain Samples of Ground Nuts. *Nature*, 192:1095-1097.
- Savage GP, McNeil DL, Dutta PC (1997). Lipid Composition and Oxidative Stability of Oils in Hazelnuts (*Corylus avellana* L.) Grown in New Zealand. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74, 755-759.

- Scott PM (1984). Effects of Food Processing on Mycotoxins. *J. Food Protection*, 47: 489-499.
- Selim MI, Ibrahim MS, El-Sharkawy S, Kashory ES (1996). Aflatoxin B1 in Common Egyptian Foods. *J. Aoac Int*, 79:5.
- Shem-Tov Y, Badani H, Segev A, Hedvat I, Galili S, Hovav RAN (2012). Determination of Total Polyphenol, Flavonoid and Anthocyanin Contents and Antioxidant Capacities of Capacities of Skins from Peanut (*arachis hypogaea*) Lines with Different Skin Colors. *Journal of Food Biochemistry*, 36(3): 301–308.
- Simons LK ve Sanguasri P (1997). Advances in the Washing of Minimally Processed Vegetables. *Food Australia*, 49(2): 75-80.
- Sipahioğlu N ve Heperkan D (2000). Lipolytic Activity of *Trichothecium Roseum* on Hazelnut. *Food Microbiology*, 17: 401-405.
- Skog LJ ve Chu CL (2001). Effect of Ozone on Qualities of Fruits Vegetables in Cold Storage. *Canadian Journal of Plant Science*, 81: 773-778.
- Slaughter LH (1988). Responses of Soft Red Winter Wheat to Chronic Ozone Stres During Anthesis and Kernel Fill. *Dissertation Abstracts International*, 49 (3): 580-581.
- Slaughter LH ve Mulchi CL (1989). Chronic Ozone Stress Effects on Yield and Grain Quality of Soft Red Winter Wheat. *Crop Science*, 29: 1251-1255.
- Smith JE (2001). *Mycotoxins. Food Chemical Safety*, ed. By Watson, D. H., Woodhead Publishing, England.
- Sobutay T (2006). Fındık Sektör Araştırması. İstanbul Dış Ticaret Odası Dış Ticaret Şubesi Uygulama Şubesi, İstanbul, 20s. <http://www.ito.org.tr/Dokuman/Sektor/1-33.pdf> (24/11/2009)
- Soliva Fortuny C, Robert ve Olga Martín Belloso (2003). New Advances in Extending the Shelf-Life of Fresh-Cut Fruits: a Rewiew. *Trends in Food Sci. Tech.* 14: 341-353
- Soysal M (1998). Biometrinin Temel Prensipleri.Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 95, s 15-35, Tekirdağ.
- Şahin D, Erkut A, Öztekin L, Üstün S ve Oysun G (1990). Orta ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Yetiştirilen Fındık Çeşitlerinin Teknolojik Özellikleri Üzerine Araştırmalar. *Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Yayın No: 63, s:54, Samsun.*
- Şen L, Nas S (2010). Fındık ve Antep Fıstığının Mikotoksin Problemi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*. 5: 49-56.
- Taydaş EE (1993). Kırmızı Biberlerde Aflatoksin ve Okratoksin Oluşumu Üzerinde Araştırmalar. *Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, s94.
- Thanomsub B, Anupunpisit V, Chanphetch S, Watcharachaipong T, Poonkhum R ve Srisukonth C (2002). Effects of Ozone Treatment on Cell Growth and Ultrastructural Changes in Bacteria. *J Gen Appl Microbiol.*, 48: 193-199.
- Tiwari BK, Brennan CS, Curran T, Gallagher E, Cullen PJ ve O'Donnell CP (2010). Application of Ozone in Grain Processing. *Journal of Cereal Science*, 51: 248–255.
- Trevor VS (2004). *Ozone Applications for Postharvest Disinfection of Edible Horticultural Crops.*, Extension Postharvest Specialist, Department of Vegetable Crops, University of California, Davis., Publication 8133 by the Regents of the University of California, Division of Agriculture and Natural Resources.

- Troller JA (1989). Water Activity and Food Quality. In Water and Food Quality. T. M. Hardman (ed.), Elsevier Applied Science, s. 1-31, New York.
- Tunail N (2000). Funguslar ve Mikotoksinler. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını, s:522, 03.Bolum, 13.kısım, Sim Matbaası, Ankara.
- Tuncer N (1987). Ankara ve Çevresinde Üretilen Yumurta Örneklerinde Aflatoksin Rezidülerinin araştırılması. Etlik Vet. Mikrobiyoloji Dergisi, 6:1
- Tzortzakis N, Borland A, Singleton I, Barnes J (2007). Postharvest Biology and Technology 45: 317–325.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1999). Alternative Disinfectants and Oxidants Guidance Manual. Office of Water. EPA 815-R 99 014, http://www.epa.gov/safewater/mdbp/alternative_disinfectants_guidance.pdf.
- Uzun H Ve İbanoğlu E (2017).Oxidation Kinetics of Hazelnut Oil Treated with Ozone. GRASAS Y ACEITES 68 (4).
- Victorin K (1992). Review of the Genotoxicity of Ozone. Mutat Res., 277: 221-238.
- Von Gunten U (2003). Ozonation of Drinkingwater: Part II. Disinfection and by Product Formation in Presence of Bromide, İodide or Chlorine. Water Research, 37: 1469-1487.
- Vurma M, Pandit R.B, Sastry SK, Yousef AE (2009). Inactivation of Escherichia Coli O157:H7 and Natural Microbiota on Spinach Leaves Using Gaseous Ozone During Vacuum Cooling and Simulated Transportation. J. Food Protect. 72: 1538–1546.
- Waterhouse AL (2005) Determination of Total Phenolics. Handbook of Food Analytical Chemistry, Ed: Wrolstad RE, Acree TE, Decker EA, Penner MH, Reid DS, Schwarts SJ, Shoemaker CF, Smith D, Sporns P. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 463-471
- Wu J, Luan T, Lan C, Lo TWH ve Chan GYS (2007a). Removal of Residual Pesticides on Vegetables Using Ozonated Water. Food Control, 18: 466-472.
- Wu J, Luan T, Lan C, Lo TWH ve Chan GYS (2007b). Efficacy Evaluation of Low Concentration of Ozonated Water in Removal of Residual Diazinon, Parathion, Methyl-Parathion and Cypermethrin on Vegetable. Journal of Food Engineering 79: 803-809.
- Yan S, Wu X, Faubion J, Bean SR, Cai L, Shi YC (2012). Ethanol-Production Performance of Ozone-Treated Tannin Grain Sorghum Flour. Cereal Chemistry, 89: 30–37.
- Yıldız P ve Yangılar F (2014). Ozon ve Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları. BEÜ Fen Bilimleri Dergisi BEU Journal of Science 3(1): 94-101.
- Yook HS, Chung YJ, Kim JO, Kwon OJ ve Byun MW (1997). Effects of Treatments on the Microbial Decontamination and Physicochemical Properties of Aloe Powders and Bee Polen. J Food Sci Nutr 2, 89–95.
- Zhu F 2018. Effect of Ozone Treatment on the Quality of Grain Products. Food Chemistry, 264: 358-366.
- Zorlugenç B, Zorlugenç F, Öztekin S, Evliya IB (2008). The Influence of Gaseous Ozone and Ozonated Water on Microbial Flora and Degradation of Aflatoxin B1 in Dried Figs. Food and Chemical Toxicology, 46, 3593–3597.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında destek ve yardımlarını esirgemeyen, araştırma konusuna yönlendirilmemde, araştırma planımın oluşturulmasında, tezimin araştırmasına büyük ölçüde katkıları bulunan, deneyimlerini benimle paylaşan, değerli danışman hocam Doç. Dr. Ahmet Şükrü Demirci'ye başta olmak üzere, araştırma kapsamındaki laboratuvar uygulamalarının yapımında ve analizlerinin gerek yapılmasında gerekse de değerlendirilmesinde çok kıymetli desteklerini gördüğüm sayın hocam Araş. Gör. Göksel TIRPANCİ SİVRİ' ye ve analizlerin yapımında destek sağlayan tüm NABİLTEM personeline, Edirne Gıda Kontrol Laboratuvar'ında görev yapan Gıda Mühendisi Şebnem Mutlu'ya teşekkürü bir borç bilirim.

PCS Elektronik Müh. Dan. Bilg. İnş. San. Tic. Ltd. Şti. tüm cihaz ve imkanlarını kullanıma sunarak tez kapsamındaki tüm çalışmaları en doğru ve güvenilir bir şekilde uygulama fırsatı sunan ve çok değerli bilgi, tecrübe ve kıymetli zamanlarını araştırmama ayırarak benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen Sayın Mehmet Efe 'ye ve çok değerli ekibine teşekkürü borç bilirim.

Son olarak, yaptığım çalışmalar sırasında yardımlarını, desteğini ve sabrını asla esirgemeyen, tüm ihmalkârlıklarına anlayış gösteren ve bu süreçte yaşadığım sıkıntıları aşmamda beni yüreklendiren ve bana destek olan aileme teşekkürlerimi sunarım.