

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KURU İNCİRLERİN AFLATOKSİN, PATULİN,  
ERGOSTEROL İÇERİĞİ VE FARKLI  
KOŞULLARDA AFLATOKSİNLERİN  
PARÇALANMA DÜZEYLERİ**

**Hakan KARACA**

**Yüksek Lisans Tezi**

**DENİZLİ-2005**

**KURU İNCİRLERİN AFLATOKSİN, PATULİN,  
ERGOSTEROL İÇERİĞİ VE FARKLI  
KOŞULLARDA AFLATOKSİNLERİN  
PARÇALANMA DÜZEYLERİ**

**Pamukkale Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Tarafından Kabul Edilen  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Hakan KARACA**

**Tez Savunma Sınavı Tarihi: 28.01.2005**

**Bu yüksek lisans çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Birimi tarafından 2003FBE003 no'lu proje olarak desteklenmiştir.**

**DENİZLİ-2005**

# TEZ SINAV SONUÇ FORMU

Bu tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

---

**Prof. Dr. Sebahattin NAS**  
(Yönetici)

---

**Prof. Dr. Sedat VELİOĞLU**  
(Jüri Üyesi)

---

**Yrd. Doç. Dr. Çetin KADAKAL**  
(Jüri Üyesi)

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
..... tarih ve .....sayılı kararıyla onaylanmıştır.

---

**Prof. Dr. M. Ali. SARIGÖL**  
Müdür  
Fen Bilimleri Enstitüsü

# TEŞEKKÜR

Birlikte çalışmaya başladığımızdan beri kendisinden çok şey öğrendiğim, yaklaşık 3 yıldır danışmanlığımı yapan Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dekanı sayın hocam Prof. Dr. Sebahattin NAS'a, bu araştırmanın konusunun saptanması, planlanması, yürütülmesi ve sonuçlarının değerlendirilmesinde düşünceleriyle bana yol gösterdiği, umutsuzluğa kapıldığım anlarda akılcı ve çözümleyici fikirleriyle beni içinde bulunduğum ruh halinden kurtardığı ve paylaştığı görüşleriyle ufkumu genişlettiği için teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu çalışmanın büyük bir kısmı Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Başta bölüm başkanım sayın Doç. Dr. Aydın YAPAR olmak üzere tüm bölüm hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma, değerli fikirlerini ve özverili davranışlarını benden esirgemedikleri için teşekkür ediyorum.

Çalışmanın yürütülmesinde imkanlarını sunarak veya mesailerini harcayarak katkıda bulunan Konfrut Gıda San. ve Tic. A.Ş. fabrika müdürü, sayın Şafak ÇAĞLAYANLAR'a, fabrika çalışanı, kimya teknikeri sayın Serpil KOCA'ya, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Denizli İl Kontrol Laboratuvarı Mikotoksin Laboratuvarı şefi sayın Adnan KARADENİZ'e, laboratuvar çalışanları, Tayfun ÜLKER, Yılmaz SAĞ ve Mustafa YILDIRIM'a, Nazilli Kral İncir İşletmesi'nden gıda mühendisi sayın Özlem İNCEOĞLU'na ve değerli katkılarından dolayı Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölüm Başkanı sayın Prof. Dr. Uygun AKSOY'a teşekkürü bir borç bilirim.

Araştırmanın başından sonuna kadar tüm aşamalarında her türlü desteğini gördüğüm değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Çetin KADAKAL ve eşi Saadet KADAKAL'a, can dostum Araş. Gör. Haluk ERGEZER ve eşi Tülin ERGEZER'e anlayışlarından ve desteklerinden dolayı ayrıca teşekkür ediyorum.

Son olarak hayatım boyunca maddi-manevi hiçbir desteği benden esirgemeyen, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim aileme teşekkürlerimi sunuyorum.

**Hakan KARACA**

## ÖZET

Araştırma iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada farklı nitelikteki kuru incir örneklerinin aflatoksin, patulin ve ergosterol içerikleri belirlenerek bu maddeler arasındaki ilişki ortaya konmaya çalışılmıştır. Araştırmanın ikinci aşamasında ise aflatoksin ile doğal kontamine kuru incir ekstraktlarına farklı miktarlarda asit veya baz ilave edilerek farklı sıcaklıklarda farklı süreler ısı işlem uygulamasıyla aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> seviyelerindeki değişimler incelenmiştir.

Birinci aşamada Ege Bölgesi'ndeki kurulu 4 farklı işletmeden alınan ve niteliklerinden dolayı 3 farklı kategoriye ayrılan (floresans veren, hurdalık ve sofralık) kuru incir örneklerinin aflatoksin, patulin ve ergosterol içerikleri tespit edilmiştir. İç piyasaya sunulması ve ihraç edilmesi düşünülen sofralık kuru incir örneklerinin toplam aflatoksin içeriklerinin 0-0.2 ppb, patulin içeriklerinin 4.8-25.2 ppb, ergosterol içeriklerinin ise 1.8-5.1 ppm aralığında değiştiği tespit edilmiştir. İşletmeye gelene kadarki süreçte uğradığı fiziksel zararlar sonucu çürük, çatlak, hasarlı vb. olduğu gerekçesiyle ayrılan ve görünüşünden dolayı doğrudan insan tüketimine uygun olmadığı düşünülen hurdalık kuru incir örneklerinde toplam aflatoksin seviyesinin 0-8.3 ppb, patulin seviyesinin 39.3-151.6 ppb ve ergosterol seviyesinin 4.5-18.0 ppm olduğu tespit edilmiştir. UV ışık veren lamba altında floresans vermesi üzerine aflatoksinli olduğu gerekçesiyle ayrılan kuru incir örneklerinde ise toplam aflatoksin, patulin ve ergosterol seviyelerinin ise sırasıyla 117.9-471.9 ppb, 24.7-43.4 ppb ve 4.5-10.2 ppm aralığında değiştiği saptanmıştır. Sofralık kuru incirlerin, aflatoksin ve patulin miktarları bakımından, yasal düzenlemeler ile belirlenmiş veya daha önceki çalışmalarda önerilmiş limit değerleri göz önüne alındığında, herhangi bir tehlike içermediği sonucuna varılmıştır. Floresans veren kuru incir örnekleri yüksek aflatoksin içerikleri, hurdalık kuru incir örnekleri ise yüksek patulin ve ergosterol içerikleri ile dikkat çekmektedir. Floresans veren incirlerde, toplam aflatoksin içeriği ile patulin içeriği ( $r^2=0.813$ ,  $p<0.002$ ) ve ergosterol içeriği ( $r^2=0.920$ ,  $p<0.002$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki mevcuttur. Floresans veren incirlerin patulin ve ergosterol içerikleri arasında; hurdalık incir

örneklerinde ise toplam aflatoksin, patulin ve ergosterol maddelerinin herhangi ikisinin seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanamamıştır.

Araştırmanın ikinci aşamasında asit veya baz ilavesiyle pH'ları 3.1, 3.5, 6, 8 ve 10'a ayarlanmış aflatoksinle doğal kontamine kuru incir ekstraktlarına 50, 75 ve 98 °C'lerde 1 ve 2 saatlik ısı işlemler uygulanmıştır. Uygulama sonunda ekstraktta kalan aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> düzeyleri saptanarak farklı aflatoksin türlerinde meydana gelen parçalanma düzeyleri tespit edilmiştir. pH'ları 3.1, 3.5 ve 6'ya ayarlanmış incir ekstraktlarında ısı işlem uygulamaları sonrasında kalan aflatoksin miktarlarının değişmesine rağmen bu değişimin genelde sistematik olmadığı saptanmıştır. pH'nın 6'dan 10'a doğru artması ile aflatoksinlerin parçalanma düzeyi artmıştır. Uygulanan ısı işlem sıcaklığının artmasıyla aflatoksinlerin parçalanma düzeylerinin artış gösterdiği saptanmıştır. Isıl işlem süresinin artması ise aflatoksinlerin parçalanma oranında düzenli bir değişikliğe yol açmamıştır. Ülkemizde ve Avrupa Birliği'nde geçerli olan aflatoksin B<sub>1</sub> ve toplam aflatoksin için limit değerlerin altına sadece pH'sı 10'a ayarlanmış örneklerin ısı işlem ile muamele edilmesi sonucu inilebilmiştir. Bazı uygulamalar ile elde edilen % 100 parçalanma ile aflatoksin G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> düzeyleri tespit edilebilir limitin altına indirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kuru incir, aflatoksin, patulin, ergosterol, parçalanma seviyesi

**Hakan KARACA**

## ABSTRACT

The research was carried out in two steps. At first step; aflatoxins, patulin and ergosterol contents of dried fig samples with different characteristics, were determined and the relationships between these substances were investigated. At second step, different amounts of acid or base were added to dried fig extracts (naturally contaminated with aflatoxins) and the extracts were heated at different temperatures and for different periods. At the end of these treatments, the residual aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> contents of the extracts were determined.

At the first step, dried fig samples were obtained from four fig processing plants located in Ege Region in Turkey and classified into three categories (“fluorescent” means showing fluorescence under UV light, “cull” means suitable for industrial consumption and “palatable” means suitable for human consumption) according to their different characteristics. Aflatoxins, patulin and ergosterol contents of each category were determined. Total aflatoxins, patulin and ergosterol contents of palatable fig samples ranged from 0 to 0.2 ppb, from 4.8 to 25.2 ppb and from 1.8 to 5.1 ppm, respectively. Total aflatoxins, patulin and ergosterol were detected in cull fig samples ranging from 0 to 8.3 ppb, from 39.3 to 151.6 ppb and from 4.5 to 18.0 ppm, respectively. Figs showing fluorescence were found to be contaminated with total aflatoxins, patulin and ergosterol at ranges of 117.9-471.9 ppb, 24.7-43.4 ppb and 4.5-10.2 ppm, respectively. It was concluded that aflatoxin and patulin contents of palatable figs did not constitute a risk when suggested limits or national and international regulatory limits were taken into consideration. Figs showing fluorescence under UV light were contaminated with high aflatoxin levels and cull figs had high patulin and ergosterol contents. Total aflatoxins content was significantly correlated with patulin content ( $r^2=0.813$ ,  $p<0.002$ ) and with ergosterol content ( $r^2=0.920$ ,  $p<0.002$ ). There was no significant correlation between patulin and ergosterol contents of the figs showing fluorescence. And there were no significant correlations between any two of three substances in cull figs.



At the second step, pH of naturally aflatoxin-contaminated dried fig extracts were adjusted to 3.1, 3.5, 6, 8 and 10 by adding acid or base. Extracts were heated at 50, 75 or 98 °C for 1 or 2 hours and then residual aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> were determined. The amounts of aflatoxin residues were changed, but not systematically, in extracts with pH 3.1, 3.5 and 6 after heat treatments. But when pH increased from 6 to 10, the degradation of aflatoxins was increased. Aflatoxin degradation also increased by the increase of the temperature of heat treatment. Increasing the time of the heat treatment did not result in a systematic difference in aflatoxin degradation. Heat treated extracts with pH 10, were the only samples had lower levels of aflatoxin B<sub>1</sub> and total aflatoxins than the limit levels of Turkey and European Union. Some treatments resulted in 100 % degradation of aflatoxin G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub>, so that they could not be detected.

**Keywords:** Dried figs, aflatoxin, patulin, ergosterol, degradation level

**Hakan KARACA**

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
İçindekiler.....	X
Şekiller Dizini.....	XIII
Çizelgeler Dizini.....	XV

## Birinci Bölüm

### GİRİŞ

1. GİRİŞ.....	1
1.1. Gıda Maddelerinde Küf ve Mikotoksin Sorunu.....	4
1.1.1. Önemli Mikotoksinler.....	7
1.1.1.1. Patulin.....	7
1.1.1.2. Okratoksin A.....	9
1.1.1.3. Aflatoksinler.....	10
1.1.1.3.1 Aflatoksin Kontaminasyonunun Önlenmesi ve Giderilmesi.....	13
1.1.2. Küflenme ve Küflenme Düzeyinin İndikatörü: Ergosterol.....	18
1.2. İncirlerde Aflatoksin Problemi.....	20
1.2.1. İncirlerin Kurutulması.....	20
1.2.2. İncirlerde Küf Florası.....	23
1.2.3. İncirlerde Aflatoksin Oluşum Evreleri.....	26
1.2.4. İncirlerimizde Aflatoksin Sorununun Tarihçesi.....	29
1.2.5. İncirlerde Aflatoksin Kontaminasyonunun Önlenmesi ve Giderilmesi.....	33
1.3. İncirlerde Diğer Fungal Yapılar.....	37
1.3.1 İncirlerde Görülen Diğer Mikotoksinler.....	38

1.3.2. Farklı Mikotoksinlerin Bir Arada Bulunması (Co-occurrence)....	39
1.3.3. Küf ve Mikotoksin İndikatörü Olarak Ergosterol.....	41

## İkinci Bölüm

# MATERYAL VE METOT

2. MATERYAL VE METOT.....	46
2.1. Kuru İncir Örneklerinde Aflatoksin, Patulin ve Ergosterol Tayini.....	46
2.1.1. Materyal.....	46
2.1.2. Metot.....	47
2.1.2.1. Genel Kalite Analizleri.....	49
2.1.2.1.1. Suda Çözünen Kuru Madde (Briks) Tayini.....	49
2.1.2.1.2. pH Tayini.....	49
2.1.2.1.3. Titre Edilebilir Asitlik Tayini.....	49
2.1.2.2. Kuru İncir Örneklerinde Aflatoksinlerin Tayini.....	49
2.1.2.2.1. Ekstraksiyon ve Temizleme.....	50
2.1.2.2.2. HPLC Analizleri.....	50
2.1.2.2.3. Aflatoksin Standart Çözeltilerinin Uygulanması.....	51
2.1.2.2.4. Aflatoksin Ekstraktlarında Geri Alma Denemeleri.....	53
2.1.2.3. Kuru İncir Örneklerinde Patulin Tayini.....	54
2.1.2.3.1. Ekstraksiyon.....	54
2.1.2.3.2. HPLC Analizleri.....	55
2.1.2.3.3. Patulin Standart Çözeltilerinin Uygulanması.....	55
2.1.2.3.4. Patulin Ekstraktlarında Geri Alma Denemeleri.....	57
2.1.2.4. Kuru İncir Örneklerinde Ergosterol Tayini.....	57
2.1.2.4.1. Ekstraksiyon.....	57
2.1.2.4.2. HPLC Analizleri.....	58
2.1.2.4.3. Ergosterol Standart Çözeltilerinin Uygulanması.....	59
2.1.2.4.4. Ergosterol Ekstraktlarında Geri Alma Denemeleri.....	60
2.1.2.5. İstatistik Analizleri.....	60

2.2. Kuru İncirlerde Mevcut Aflatoksinlerin Parçalanma Düzeylerinin Belirlenmesi....	61
2.2.1. Materyal.....	61
2.2.2. Metot.....	61
2.2.2.1. Kuru İncirlerin Degradasyon Çalışmalarına Hazırlanmaları.....	61
2.2.2.2. İncir Ekstraktlarına Uygulanan Asitlendirme veya Alkalileştirme ve Isıl İşlemler.....	61
2.2.2.3. İşlem Görmüş Aflatoksin Ekstraktlarında Aflatoksin Analizleri.....	62

### **Üçüncü Bölüm**

## **BULGULAR VE TARTIŞMA**

3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	63
3.1. Kuru İncir Örneklerinin Aflatoksin, Patulin ve Ergosterol İçerikleri.....	63
3.2. Kuru İncirlerde Mevcut Aflatoksinlerin Parçalanma Düzeyleri.....	76

### **Dördüncü Bölüm**

## **SONUÇ VE ÖNERİLER**

4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	89
---------------------------	----

### **Beşinci Bölüm**

## **KAYNAKLAR**

5. KAYNAKLAR.....	92
-------------------	----

# ŞEKİLLER DİZİNİ

## Sayfa

Şekil 1.1: Patulinin kimyasal yapısı.....	7
Şekil 1.2: Okratoksin A'nın kimyasal yapısı.....	9
Şekil 1.3: Bazı aflatoksinlerin ve aflatoksin türevlerinin kimyasal yapıları.....	11
Şekil 1.4: Ergosterolün kimyasal yapısı.....	19
Şekil 1.5: İncir işletmelerinde uygulanan işlem akış şeması.....	22
Şekil 2.1: UV lamba altında floresans veren incir örnekleri.....	48
Şekil 2.2: Hurdalık incir örnekleri.....	48
Şekil 2.3: Sofralık incir örnekleri.....	48
Şekil 2.4: Toplam aflatoksin standart çözeltisine ait kromatogram.....	52
Şekil 2.5: Aflatoksin standart çözeltileri ile çizilen kalibrasyon eğrileri.....	53
Şekil 2.6: Patulin standart çözeltisine ait kromatogram.....	56
Şekil 2.7: Patulin standart çözeltileri ile çizilen kalibrasyon eğrisi.....	56
Şekil 2.8: Ergosterol standart çözeltisine ait kromatogram.....	59
Şekil 2.9: Ergosterol standart çözeltileri ile çizilen kalibrasyon eğrisi.....	60
Şekil 3.1: Kuru incir örneklerinde saptanan aflatoksin B <sub>1</sub> miktarları.....	65
Şekil 3.2: Kuru incir örneklerinde saptanan aflatoksin B <sub>2</sub> miktarları.....	66
Şekil 3.3: Kuru incir örneklerinde saptanan aflatoksin G <sub>1</sub> miktarları.....	67
Şekil 3.4: Kuru incir örneklerinde saptanan aflatoksin G <sub>2</sub> miktarları.....	68
Şekil 3.5: Kuru incir örneklerinde saptanan toplam aflatoksin miktarları.....	69
Şekil 3.6: Kuru incir örneklerinde saptanan patulin miktarları.....	70
Şekil 3.7: Kuru incir örneklerinde saptanan ergosterol miktarları.....	71
Şekil 3.8: Floresans veren incirlerde toplam aflatoksin ile patulin arasındaki ilişki.....	75
Şekil 3.9: Floresans veren incirlerde toplam aflatoksin ile ergosterol arasındaki ilişki.....	76
Şekil 3.10: Farklı pH'lara ayarlanmış incir ekstraktlarında farklı sıcaklıklarda ısıtılma işlem uygulamaları sonrasında kalan aflatoksin B <sub>1</sub> miktarları.....	79

Şekil 3.11: Farklı pH'lara ayarlanmış incir ekstraktlarında farklı sıcaklıklarda ısıtım uygulamaları sonrasında kalan aflatoksin B <sub>2</sub> miktarları.....	80
Şekil 3.12: Farklı pH'lara ayarlanmış incir ekstraktlarında farklı sıcaklıklarda ısıtım uygulamaları sonrasında kalan aflatoksin G <sub>1</sub> miktarları.....	82
Şekil 3.13: Farklı pH'lara ayarlanmış incir ekstraktlarında farklı sıcaklıklarda ısıtım uygulamaları sonrasında kalan aflatoksin G <sub>2</sub> miktarları.....	83
Şekil 3.14: Farklı pH'lara ayarlanmış incir ekstraktlarında farklı sıcaklıklarda ısıtım uygulamaları sonrasında kalan toplam aflatoksin miktarları.....	85

# ÇİZELGELER DİZİNİ

## Sayfa

Çizelge 1.1: Türkiye’de taze ve kuru incir üretimi ile kuru incir ihracatı miktarları.....	1
Çizelge 1.2: Taze ve kuru incirin ortalama bileşimi.....	3
Çizelge 1.3: Belli başlı mikotoksinler, bunları üreten küfler ve bulunabilecekleri tarım ürünleri ve gıda maddeleri.....	6
Çizelge 1.4: Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı’na gerçekleştirilen, çeşitli gıdalarda aflatoksin düzeylerinin belirlenmesine dair bir çalışmada incelenen kuru incir örneklerine ait sonuçlar.....	32
Çizelge 1.5: Kuru incirlerde okratoksin A mikotoksininin incelendiği çalışmaların sonuçları.....	38
Çizelge 2.1: Aflatoksin B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> ve G <sub>2</sub> analizlerinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizlerdeki kromatografi koşulları.....	51
Çizelge 2.2: Patulin analizinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizdeki kromatografi koşulları.....	55
Çizelge 2.3: Ergosterol analizinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizdeki kromatografi koşulları.....	58
Çizelge 3.1: Kuru incir örneklerinde suda çözünen kuru madde (briks), pH ve titrasyon asitliği değerleri.....	64
Çizelge 3.2: Farklı nitelikteki kuru incir örneklerindeki toplam aflatoksin, patulin ve ergosterol seviyelerinin ortalamaları.....	72
Çizelge 3.3: Kuru incir ekstraktlarına uygulanan asitlendirme veya alkalileştirme ve ısıtma işlemlerinin sonucunda ekstraktta kalan aflatoksin seviyeleri ve aflatoksin seviyelerinde meydana gelen değişimler.....	77

# BİRİNCİ BÖLÜM

## GİRİŞ

### 1. GİRİŞ

Akdeniz kıyılarının tipik bir meyvesi olan incir (*Ficus carica* L.) subtropikal iklim kuşağındaki ülkelerde yetişmektedir. Bu iklim kuşağı içinde yer alan Ege Bölgesi'nin Büyük Menderes ve Küçük Menderes Havzaları, incir yetiştiriciliği açısından en ideal ekolojik koşullara sahip yörelerdir. İşte bu nedenle incir, Ege Bölgesi ve ülkemiz ekonomisi için en önemli tarımsal gelir kaynaklarından biridir (Demir ve diğ., 1990).

Ülkemiz dünyada % 23.5'lik payla hem taze incir hem de % 54'lük payla kuru incir üretiminde birinci sıradadır. Dünya kuru incir ticaretine bakıldığında da en önemli üretici olmanın verdiği avantajla Türkiye, dünya ticaretinde % 57.2'lik payla yine birinci sırada yer almaktadır (Anaç, 2003). Çizelge 1.1'de ülkemizde taze ve kuru incir üretim miktarları ve kuru incir ihracat miktarları yıllara göre verilmiştir.

Çizelge 1.1: Türkiye'de taze ve kuru incir üretimi ile kuru incir ihracatı miktarları (Anaç, 2003)

YILLAR	Taze incir üretimi (ton)	Kuru incir üretimi (ton)	Kuru incir ihracatı (ton)
1995	279000	48605	45821
1996	300000	49975	43409
1997	290000	50155	41989
1998	243000	45225	40362
1999	255000	50981	42713
2000	275000	52684	46176
2001	240000	49001	46917
2002	235000	48028	42201
2003	255000	52462	43143



Gerçekleştirilen envanter çalışmaları ile Ege Bölgesi'nde yaklaşık 30000 ailenin incir üretimi ile uğraştığı, incir üreten bu kesimin genel bölge nüfusunun % 11.04'ünü teşkil ettiği ortaya konmuştur (Demir ve diğ., 1990; Anaç, 2003). Bunlara incirin hasadı, işlenmesi ve pazarlanması sırasında çalışan işçi kapasitesi de eklendiğinde incirin oldukça geniş bir sosyoekonomik etkinliğe sahip olduğu anlaşılmaktadır.

Ülkemizde üretilen kuru incir yüksek kalitesi ile ülkemizi dünya ülkeleri arasında birinci sıraya yükseltmiştir.

Kuru incir kalori değeri yüksek, vitamin ve minerallerce zengin olan bir üründür. Kuru incirde bulunan bakır, demirin vücut tarafından alınmasını kolaylaştırmaktadır. Kuru incir önemli bir protein kaynağı olmasının yanı sıra yağının doymamış özellikte olması, kolesterol içermemesi, mineral maddelerce zengin olması, az sodyum içermesi ve fazla miktarda ham lif içermesi nedeniyle çerez ve çerez ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. İçerdiği kalsiyum miktarı süttten fazla olduğu için kemik gelişim bozukluklarında tavsiye edilmektedir (Büyükşirin, 1993). İncir meyvesinin taze ve kuru haldeki bileşimi Çizelge 1.2'de verilmiştir.

İncir, sofralık veya kurutmalık olarak tüketildiği gibi tatlı, reçel ve bisküvi sanayinde de kullanılmaktadır. Ayrıca hurda incir olarak tabir edilen ve doğrudan tüketim imkanı bulamayan düşük kaliteli incirler etil alkol ve pekmez üretiminde değerlendirilmektedir. Etil alkol yapımı sırasında ortaya çıkan incir çekirdekleri de boya, kozmetik ve ilaç sanayinde, küspesi ise besi yemi yapımında kullanılmaktadır (Anaç, 2003).

Son yıllarda diğer incir üreticisi ülkelerin dış pazarlara temiz ve kaliteli kuru incir sunmak ve böylece dünya kuru incir ticaretindeki paylarını arttırmak amacıyla yoğun çabalar içinde oldukları gözlenmektedir. Bu durum gerek üretim gerekse ihracat yönünden önde geldiğimiz bu konuda verimi arttırıcı ve kaliteyi yükseltici önlemlerin bir an önce alınması gerektiğini ortaya koymaktadır. Bunların sağlanması ise incirin; yetiştirme, olgunlaşma, kuruma ve depolama süreçlerinde karşılaştığı sorunların çözülmesiyle mümkündür (Demir ve diğ., 1990).

Çizelge 1.2: Taze ve kuru incirin ortalama bileşimi (100 gram yenebilir kısım esas alınmıştır) (Anon., 2004a)

<b>Bileşen (birim)</b>	<b>Taze İncir</b>	<b>Kuru İncir</b>
Su (g)	79.11	30.05
Enerji (kcal)	74	249
Protein (g)	0.75	3.3
Toplam lipit (g)	0.3	0.93
Kül (g)	0.66	1.86
Karbonhidrat (g)	19.18	63.87
Lif (g)	2.9	9.8
Toplam şeker (g)	16.26	47.92
Ca (kalsiyum) (mg)	35	162
Fe (demir) (mg)	0.37	2.03
Mg (magnezyum) (mg)	17	68
P (fosfor) (mg)	14	67
K (potasyum) (mg)	232	680
Na (sodyum) (mg)	1	10
Vitamin C (toplam askorbik asit) (mg)	2	1.2
Tiamin (mg)	0.06	0.085
Riboflavin (mg)	0.05	0.082
Niasin (mg)	0.4	0.619
Kolesterol (mg)	0	0

İncirin bahçeden tüketiciye kadar geçen sürede karşılaştığı sorunların başında özellikle tüketimde tehlike ve ihracatta darboğaz oluşturan aflatoksin sorunu gelmektedir. Aflatoksinler, gıda maddeleri üzerinde gelişebilen belirli bazı küfler tarafından sentezlenen, insan ve hayvan sağlığını ciddi bir şekilde tehdit eden ve “mikotoksin” olarak adlandırılan bileşiklerin en tehlikeli grubudur (Körük, 2001).

İncirde aflatoksin sorunu ilk kez 1973 yılında, Ekim 1972’de Avrupa Ülkeleri’ne ihraç edilen kuru incirlerde Danimarka’da yapılan analizler sonucu 938 ppb (kilogramda

mikrogram) aflatoksin B<sub>1</sub> saptanmasıyla yaşanmıştır. Yine 1972-1973 yıllarında Amerika Birleşik Devletleri'ne gönderilen 38 parti kuru incirin üçünde aflatoksin belirlenmiş ve aflatoksin saptanan partiler Türkiye'ye geri gönderilmiştir. Bu yıllardan 1985 yılına kadar incir ihracatında aflatoksin oluşumuyla ilgili önemli bir sorun yaşanmamıştır. 1986 ve 1987 yıllarında ise İsviçre ve Almanya'ya gönderilen incirlerimizde, bu ülkelerin ilgili kuruluşları tarafından yapılan analizlerle toleranslar üzerinde aflatoksin saptanmasıyla konu güncelleştirilmiştir. Bu tarihten günümüze kadarki süreçte de zaman zaman gerçekleştirilen aflatoksin tarama çalışmaları sonucunda incir tüketimini ve ihracatını darboğaza sokan çeşitli olumsuzluklar yaşanmıştır (Demir ve diğ., 1990).

Başta gelişmiş ülkeler olmak üzere birçok ülke mikotoksinler ve özellikle aflatoksin konusunda oldukça hassas davranmakta ve ithal ettikleri ürünleri bu açıdan kontrol etmektedirler. Ülkemiz gibi tarımsal ürün ihracatının önemli olduğu ülkeler ihraç ürünlerinin mikotoksinler açısından kontrolünü yapmak, mikotoksinlerle bulaşık ürünlerin pazarlanmasından kaçınmak ve mikotoksin oluşumunu engelleyecek önlemleri almak durumundadır. Bu konu ihracat açısından olduğu kadar iç pazar ve halk sağlığı açısından da önemlidir.

Bu çalışmada kuru incirlerin aflatoksin içeriğinin yanı sıra, bir başka mikotoksin olan patulin ve bir küf bileşeni olan ergosterol içeriği belirlenmiş, patulin ve ergosterol ile aflatoksin arasındaki ilişki araştırılmıştır. Ayrıca kuru incirlerde mevcut aflatoksinlerin azaltılmasına dönük bir çalışma da bu tez kapsamında gerçekleştirilmiş böylece kuru incirlerimizdeki aflatoksin sorununun çözümüne katkıda bulunulmasına çalışılmıştır.

## **1.1. Gıda Maddelerinde Küf ve Mikotoksin Sorunu**

Gıda maddeleri üzerinde üretim başlangıcından tüketildikleri zamana kadar, koşullara bağlı olarak çeşitli küfler gelişip istenmeyen bozulma ve değişikliklere neden olabilmektedir. Bazı küf türleri, belli bazı koşullarda ürünün tat ve bileşimini bozduğu gibi toksin özelliği gösteren çeşitli sekonder metabolitler de oluşturabilmektedir.

“Mikotoksin” olarak adlandırılan bu toksik metabolitler insanlar ve hayvanlar tarafından tüketildiğinde hastalık veya ölümlere neden olabilmektedir (Büyüksirin, 1993; Derici, 1997).

Mikotoksinlerin etkileri çok çeşitlidir. Ölümle sonuçlanan toksisiteleri yanında kanserojen, mutajen, DNA-RNA ve protein sentezini engelleyici, anormal gelişimlere ve deri lezyonlarına yol açıcı ve bağışıklık sistemini bastırıcı etkilerinden de söz etmek mümkündür (Derici, 1997).

Bilinen en şiddetli toksik maddeler arasında yer alan mikotoksinlerin insan ve hayvanlarda neden olduğu hastalıklara “mikotoksikosis” adı verilir. Tarihte ilk bilinen mikotoksikosis vakası çavdar zehirlenmesi olarak kendini gösteren “Ergotizm” hastalığıdır. Hastalık etmeni *Claviceps purpurea* küfünün metabolik ürünleri olan ergot alkaloidleridir. 1941-1947 yılları arasında özellikle Rusya’nın farklı bölgelerinde etkili olan gıda kaynaklı toksik lökopeni (Alimentary Toxic Aleukia) geniş insan topluluklarını etkileyen bir diğer önemli mikotoksikosis vakasıdır (Büyüksirin, 1993).

1960’lı yılların başlarında İngiltere’de bir tavuk çiftliğinde ortaya çıkan etmeni belirsiz bir hastalık, mikotoksinler üzerinde yapılan çalışmaların yoğunlaşmasına ve hızlanmasına neden olmuştur. Çok sayıda hindinin ölümüne neden olan bu hastalık etmeninin saptanması amacıyla yapılan çalışmalar sonucu, hastalığın belirdiği tavuk çiftliğinde kullanılan yemlere katılan yer fıstığı unlarının toksik özellik taşıdığı saptanmıştır. Sargeant et al. (1961), toksik özellik taşıyan yer fıstığı unlarının küf hifleriyle kontamine olduğunu saptamışlardır. Yer fıstığı örneklerinden saf kültür halinde izole ettikleri küf izolatlarından birinin sentetik besiyerinde hindi X hastalığı adındaki hastalığın semptomlarını gösteren toksini ürettiğini saptamışlardır. Bu toksini üreten küfün *Aspergillus flavus* olduğu tanımlanmış ve bu küfün ismine ithafen toksine “Aflatoksin” adı verilmiştir (Büyüksirin, 1993).

Mikotoksin üreten küflerin çoğunluğu *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* cinsine ait türlerdir. Çizelge 1.3’te varlıklarıyla problem oluşturan belli başlı mikotoksinler, bunları üreten küfler ve bulunabilecekleri tarım ürünleri ve gıda maddeleri verilmiştir.

Çizelge 1.3: Belli başlı mikotoksinler, bunları üreten küfler ve bulunabilecekleri tarım ürünleri ve gıda maddeleri (Büyükşirin, 1993; Efendiler, 2000)

<b>MİKOTOKSİN</b>	<b>BAZI ÜRETİCİ KÜF TÜRLERİ</b>	<b>BULUNABİLECEĞİ TARIM ÜRÜNLERİ VE GIDA MADDELERİ</b>
Aflatoksinler	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. parasiticus</i>	Tahıl taneleri (buğday, mısır, arpa), yer fıstığı, antepfıstığı, fındık, kırmızı biber, süt ve süt ürünleri, incir ve diğer bazı meyveler
Okratoksin A	<i>A. ochraceus</i> <i>A. versicolor</i> <i>Penicillium viridicatum</i>	Tahıl taneleri (buğday, mısır, arpa), yer fıstığı, kahve çekirdeği, fındık
Patulin	<i>P. expansum</i> <i>P. griseofulvum</i> <i>P. chrysogenum</i> <i>A. terreus</i>	Meyve ve meyve ürünleri (özellikle elma ve elma suyu), tahıl taneleri
Sterigmatosistin	<i>A. nidulans</i> <i>A. versicolor</i> <i>A. amstelodami</i>	Tahıl taneleri, kahve taneleri, bazı sebzeler
Rubratoksin	<i>P. rubrum</i> <i>P. purpuogenum</i>	Tahıl taneleri, hayvansal gıdalar
Sitrinin	<i>P. citrinum</i> <i>P. viridicatum</i>	Tahıl taneleri, peynir, baklagiller, yer fıstığı
Penisillik asit	<i>P. cyclopium</i> <i>P. martensii</i>	Mısır, bazı meyveler ve peynirler
Zearalenon	<i>Fusarium graminearum</i> <i>F. tricinctum</i>	Tahıl taneleri
DON (deoksinivalenol)	<i>F. graminearum</i>	Tahıl taneleri
Fumonisinler	<i>F. moniliforme</i>	Mısır
Ergot alkaloidleri	<i>Claviceps purpurea</i>	Tahıl taneleri

Doğada bulunabilme sıklıkları ve toksik özellikleri göz önünde bulundurulduğunda gıdalarda en çok önem arz eden mikotoksinler arasında patulin, okratoksin A ve aflatoksinler sayılabilir.

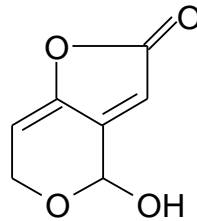
### 1.1.1. Önemli Mikotoksinler

#### 1.1.1.1. Patulin

Patulin, bazı *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Byssochlamys* türleri tarafından oluşturulan bir mikotoksindir. *Penicillium claviforme*, *P. expansum*, *P. urticae*, *P. patulum*, *P. melinii*, *Aspergillus clavatus*, *A. giganteus*, *A. terreus*, *Byssochlamys fulva* ve *B. nivea* tarafından patulin oluşturulabilmektedir.

*P. patulum* ve *P. expansum* kültür filtratlarından izole edilen maddenin antibiyotik özellikte olduğu saptanmıştır. Bu küf türleri tarafından oluşturulan bu maddeye “patulin” adı verilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarla patulinin bakterisit ve fungusit etkisinin yanında hayvanlara karşı toksik bir madde olduğu saptanmıştır (Artık ve diğ., 2001).

Patulin doymamış bir lakton olup kapalı formülü  $C_7H_6O_4$  ve molekül ağırlığı 154.12’dir. Patulinin kimyasal yapısı Şekil 1.1’de verilmiştir.



Sekil 1.1: Patulinin kimyasal yapısı

Patulin ergime noktası 110-112 °C olan renksiz kristal bir bileşiktir. Yüksek vakum altında 70-100 °C’de süblimasyon yolu ile saf olarak elde edilebilmektedir. Patulin; su, alkol, aseton, etil asetat ve kloroformda çok iyi çözünmekte, dietil eter ve benzende

daha az çözünmekte, petrol eterinde ise hiç çözünmemektedir. Patulin asit ortamda değişmeden kalabilmekte ancak alkali ortamda kimyasal değişikliğe uğrayarak aktivitesini kaybetmektedir (Körük, 2001).

Patulin doğal olarak elma, elma suyu ve işlem görmüş veya görmemiş çeşitli meyvelerde bulunur. Patulin üretiminde en etkili şekerin fruktoz, ondan sonra glikoz olduğu bulunmuştur. Bu mikotoksinin daha çok meyve ve ürünlerinde üretilmesinin, bu gıdalarda meyve şekeri olarak bilinen fruktozun daha çok bulunuşu ile açıklanabildiği bildirilmiştir. Kendiliğinden, doğal mikroflorası ile küflenmiş ekmek ve kuru pastalarda da patulin oluştuğu belirtilmektedir (Erzurum, 1996). Peynir ve et gibi karbonhidratça fakir ve proteince zengin gıdalarda küf gelişimi yaygın olduğu halde belirgin bir patulin miktarına rastlanmamıştır. Yüksek proteinli gıdalarda patulin bulunmayışı veya miktarının düşük oluşu, bu gıdalarda bulunan sülfidril gruplarıyla toksinin reaksiyona girmesine atfedilmektedir (Körük, 2001).

Patulin üreticisi olan *P. expansum* psikrofil özelliktedir. Bu küf 0 °C'de oldukça iyi gelişir fakat aynı zamanda -2 ila -3 °C'de de gelişir. Optimum gelişme sıcaklığı 25 °C, maksimum gelişme sıcaklığı ise 35 °C'dir. Çimlenme için minimum su aktivitesi değeri 0.82 ila 0.83'tür. Patulin üretimi için minimum su aktivitesi değeri ise 0.95'tir. Gıdalarda patulin sentezi için optimum pH aralığı 3-6.5'tir. Ortamın pH değeri patulin stabilitesini önemli düzeyde etkilemektedir. Patulinin yarı ömrü pH 8'de 64 saat, pH 6'da ise 1310 saat olarak belirlenmiştir (Artık ve diğ., 2001).

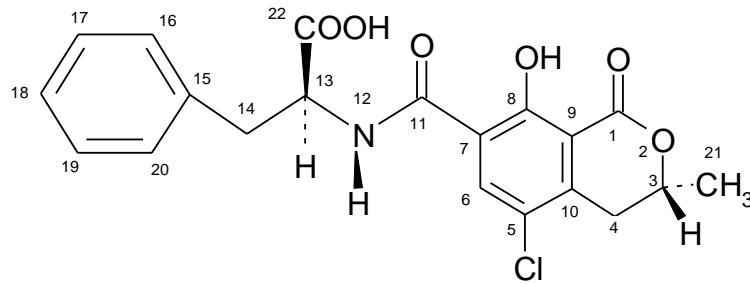
Patulinin toksik etki spektrumunun geniş olduğu ve hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda kanserojen, teratojen ve mutajen etkili bir mikotoksin olduğunun saptandığı bildirilmiştir. Birçok ülke gıdalarda bulunmasına izin verilen en yüksek patulin miktarına sınırlandırmalar getirmiştir. Ayrıca WHO (Dünya Sağlık Örgütü) de bu değer 50 ppb olması gerektiğini bildirmiştir. Otoriteler elma suyunda patulin miktarının 50 ppb veya altında tutulabilmesi halinde tüketiciler açısından ortaya çıkacak sağlık riskinin ihmal edilebilecek seviyelerde olacağını bildirmişlerdir (Artık ve diğ., 2001).

### 1.1.1.2. Okratoksin A

Okratoksinler 1960'lı yılların ortalarında Güney Afrika'da, küflerin oluşturduğu yeni toksik metabolitlerin belirlenmesi için yapılan bir araştırmada ortaya çıkmıştır. İlk olarak 1965'te *Aspergillus ochraceus*'tan izole edilmiştir (Taydaş, 1993).

En bilinen üreticisi *A. ochraceus*'tur. Bunun yanında *A. melleus*, *A. sulphureus*, *Penicillium viridicatum*, *P. aurantigriseum*, *P. frequestantis*, *P. nidulans*, *P. expansum* ve *P. verrucosum* türleri tarafından da üretilmektedir.

Okratoksinler aminoasit fenilaleninlere bağlı izokumarin türevleriyle ilişkili bir gruptur. Tanımlanan 9 okratoksinde sadece okratoksin A'nın toksik özellik gösterdiği bildirilmiştir (Erzurum, 1996). Okratoksin A genelde kararlı bir bileşik olup saf halde renksiz ve kristal bir yapıya sahiptir. Polar organik çözücülerde yüksek oranda çözülür. Okratoksin A'nın kimyasal yapısı Şekil 1.2'de verilmiştir (Taydaş, 1993).



Şekil 1.2: Okratoksin A'nin kimyasal yapısı

Okratoksin üreten funguslar depolanmış tohumlarda, çürüyen bitkilerde ve tahıllarda yaygındır. Doğal olarak mısır, yulaf, arpa, buğday, çavdar, fasulye, yer fıstığı, pamuk tohumu, turuncgiller, tütün ve kahvede bulunmaktadır (Erzurum, 1996).

En önemli okratoksin üreticisi olan *Aspergillus ochraceus* 8 °C'den 37 °C'ye kadar değişen sıcaklıklarda gelişir. Optimum gelişme sıcaklığı 24 ila 37 °C arasındadır. Okratoksinler 12-37 °C arasında üretilir. Okratoksin üretimi için gerekli optimum sıcaklık derecesi 31 °C'dir. *A. ochraceus* en iyi 3-10 arasındaki pH değerlerinde gelişir.



Fungusun gelişme gösterdiği minimum pH değeri 2.2'dir. *A. ochraceus*'un gelişimi için optimum su aktivitesi değeri 0.95-0.99 olmasına rağmen fungus 0.77 gibi düşük su aktivitesinde de gelişebilmektedir. Okratoksin üretimi için optimum su aktivitesi, üretici fungusun gelişmesi için gerekli olan su aktivitesi ile aynıdır. Ancak toksin 0.80 gibi düşük su aktivitesinde de üretilebilmektedir (Körük, 2001).

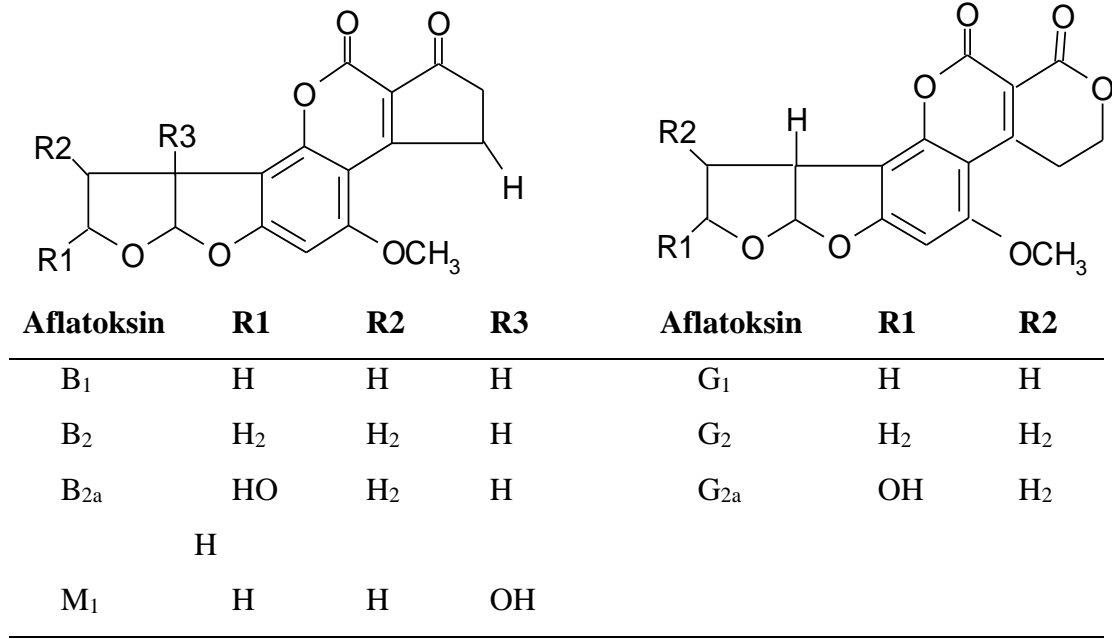
Okratoksin A'nın nefrotoksik özelliğine ilaveten teratojenik özellikleri de bulunmaktadır (Derici, 1997).

Okratoksin A için ülke ve ürüne göre değişen tolerans düzeyleri tespit edilmiştir. Bu düzeyler gıdalar için 1-50 ppb ve hayvan yemleri için 100-1000 ppb aralığındadır (Erzurum, 1996).

### **1.1.1.3. Aflatoksinler**

Aflatoksinler insan ve hayvan sağlığı açısından son derece önemli mikotoksinlerdir. Doğal olarak yer fıstığı, mısır, buğday, pamuk tohumu, kurutulmuş hindistan cevizi içi, fındık, bazı meyve ve sebzelerde bulunmaktadır. Aflatoksinler çoğunlukla *Aspergillus flavus* ve *A. parasiticus*'un belirli suşları tarafından üretilen bir sekonder metabolit grubudur. Aflatoksin üretme kabiliyetine sahip küfler, "aflatoksijenik" küfler olarak tanımlanır (Erzurum, 1996).

Aflatoksinler bifuran halkası ve lakton bağlantısı taşıyan yüksek yapılu kumarin bileşikleridir. Bunlardan 4 tanesi (Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>) yaygındır ve ağırlıklı olarak *Aspergillus flavus* ve *A. parasiticus* tarafından üretilmektedir. Grubun diğer üyeleri ise aflatoksin türevleri olarak adlandırılmaktadır (Erzurum, 1996). Aflatoksinlerin birbirinden ayrılmasında floresans renkleri ve relatif kromatografik mobilitelerinden yararlanılmaktadır (Betina, 1989). Ultraviyole lamba altında mavi flouresans veren aflatoksinler "B", yeşil flouresans verenler ise "G" olarak adlandırılmıştır. Aflatoksin M<sub>1</sub> ise aflatoksin B<sub>1</sub>'in süt ve süt ürünlerindeki türevidir (Derici, 1997). Şekil 1.3'te bazı aflatoksinlerin ve aflatoksin türevlerinin kimyasal yapıları görülmektedir.



Şekil 1.3: Bazı aflatoksinlerin ve aflatoksin türevlerinin kimyasal yapıları

Ortamda çoğunlukla en yüksek konsantrasyonda aflatoksin B<sub>1</sub> bulunur. Bunu sırasıyla G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub> izler. Bilinen aflatoksinlerin en toksik olanı aflatoksin B<sub>1</sub>'dir (Betina, 1989).

Başlıca aflatoksin üreticisi olan *A. flavus* ve *A. parasiticus*, 10-12 °C'den 42-43 °C'ye kadar olan sıcaklık aralığında gelişir, optimum sıcaklık istekleri 32-33 °C'dir. Aflatoksinler 12-40 °C'lik sıcaklık sınırlarında üretilir. Aflatoksin üreten her iki tür de 2.1 ila 11.2'lik pH değerleri arasında gelişebilirken optimum pH istekleri 3.5-8.0 arasındadır. Aflatoksinler de bu pH değerleri arasında üretilmektedir. Aflatoksin üretimi için optimum pH 6.0 civarındadır. Aflatoksin üreten fungusların gelişimi için optimum su aktivitesi değeri 0.82 olarak bildirilmiştir. *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un aflatoksin üretme yetenekleri arasında farklılıklar vardır. *A. parasiticus* hem aflatoksin B hem de aflatoksin G üretmektedir. Ayrıca bu türün izolatları *A. flavus*'tan daha yüksek konsantrasyonlarda aflatoksin üretme yeteneğindedir. *A. flavus* ise yüksek oranda aflatoksin üretmeyen izolatlar içerir ve sadece B grubu aflatoksinleri üretir (Körük, 2001).

Gelişme ortamındaki çeşitli karbonhidrat ve azot kaynakları, fosfatlar, lipoperoksitler ve iz metalleri gibi bir çok besinsel faktörün aflatoksin üretimini etkilediği bilinmektedir. Bu faktörlerin bir çoğunun primer metabolizmaya etki etmesinden dolayı gerçekte etkileri dolaylı olarak ortaya çıkmaktadır (Erzurum, 1999).

Aflatoksinler orta polaritedeki çözücülerde, özellikle dimetilsülfoksitte kolayca çözünebilmektedirler. Suda çözünürlükleri 10-20 mg/L arasında değişmektedir (Körük, 2001).

Aflatoksinlerin kanserojenik, mutajenik ve teratojenik etkilere sahip olduğu tespit edilmiştir. Aflatoksinler organizmanın temel fonksiyonlarını etkiler, gelişmeyi durdurur. Karaciğer ve böbrek başta olmak üzere çeşitli organlarda kanser oluşumuna neden olur. Aflatoksinlerin yapısını oluşturan kumarin, DNA ve RNA mekanizmasını bozarak gelişmeye engel olur. Akut yani yüksek düzeyde toksinin bir kerede alınmasına bağlı olarak beliren ani aflatoksin zehirlenme vakaları çok yaygın değildir. Akut zehirlenmelerin birçok hayvan türünde klinik belirtileri: iştahsızlık, kilo kaybı, kontrolsüzlük, sinirsel anormallik, çarpınma ve ölümdür (Taydaş, 1993). Kronik yani toksinin kontamine gıdalarla uzun bir periyotta zaman zaman alınıp vücutta birikimiyle ortaya çıkan aflatoksin hastalıkları özellikle tropik ülkelerde sık görülmektedir. Bu hastalıklar arasında karaciğer kanseri ilk sırayı almaktadır. Hepatit ve akciğer kanseri de diğer kronik aflatoksin hastalıklarıdır. Kronik aflatoksin hastalıkları karaciğer başta olmak üzere iç organlarda yağlı dejenerasyonla birlikte ortaya çıkmaktadır (Erzurum, 1996).

Aflatoksin içeren gıdaların ve yemlerin sağlık açısından büyük tehlikeler arz etmesi, bu mikotoksinin çeşitli gıdalarda ve yemlerde sürekli kontrol edilmesini gerekli kılmıştır. İlk olarak WHO (Dünya Sağlık Örgütü) ve FAO (Gıda ve Tarım Teşkilatı) gibi organizasyonlar gıdalarda tolere edilebilecek toplam aflatoksin miktarını 30 ppb olarak belirlemişler ve bu miktardan fazla aflatoksin içeren gıdaların ithal edilmemesi kararını almışlardır. Zaman içerisinde bu sınır değerler düşürülmüştür (Anon., 2004b).

Bugün ülkemizde yürürlükte olan “Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ” ile bir çok gıdada aflatoksin B<sub>1</sub> ve toplam aflatoksin düzeyleri sırasıyla en çok 5 ppb ve 10 ppb ile sınırlandırılmıştır. Avrupa topluluğu yönetmeliği ise insan tüketimine hazır gıdalarda aflatoksin B<sub>1</sub> için en çok 2 ppb, toplam aflatoksin için ise en çok 4 ppb seviyesine izin vermektedir (Anon, 2002a; Anon, 2002b )

#### **1.1.1.3.1. Aflatoksin Kontaminasyonunun Önlenmesi ve Giderilmesi**

Diğer mikotoksinler gibi aflatoksinlerin de gıdalarda ve yemlerde oluşturduğu zararlı etkilerden sakınmak amacıyla bazı temel girişimler mevcuttur. Bunlar,

- Küf bulaşmasını ve akabinde gerçekleşen toksin oluşumunu önlemek
- Toksin içeren gıda veya yemin dekontaminasyonu
- Sindirim sisteminde mikotoksinlerin emiliminin önlenmesi şeklinde sıralanabilir (Samaraeva et al., 1990).

Gıdalarda aflatoksin probleminin çözümünde küf bulaşmasının ve gelişmesinin önlenmesi en akılcı yoldur. Bununla birlikte gıdalarda mevcut aflatoksinlerin giderilmesine dair bir çok yöntem de denenmiştir. Bu yöntemler fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak sınıflandırılabilir. Aflatoksin içeren gıda ve yemlerde aflatoksinlerin inaktivasyonu için uygulanacak strateji ister fiziksel, ister kimyasal isterse biyolojik olsun bu yöntemin bazı temel kriterleri sağlaması gerekmektedir. Bunlar,

- Toksinlerin toksik olmayan bileşiklere dönüştürülerek parçalanması (inaktivasyonu)
- İnaktivasyonla küf sporlarının ve misellerinin de parçalanması ve böylece yeni toksinlerin oluşumunun engellenmesi
- Gıda veya yem materyalinin besleyicilik özelliğini ve lezzetini kaybetmemesi
- Hammaddenin fiziksel özelliklerini büyük çapta değiştirmemesi
- Ekonomik olarak uygun olması (Dekontaminasyon maliyetinin kontamine edilecek ürün maliyetinden düşük olması) (Samaraeva et al., 1990).

Aflatoksinlerin fiziksel yollarla inaktive edilmesi dendiğinde akla ilk gelen yöntem ısıtma işlemidir. Ancak aflatoksinlerin dekompozisyon sıcaklığı 237-306 °C gibi yüksek değerlerdir. Betina (1989), katı haldeki aflatoksin B<sub>1</sub>'in, ısıtma dekompozisyon sıcaklığı olan 267 °C'nin altındaki kuru sıcaklık uygulamalarına karşı oldukça dayanıklı olduğunu bildirmiştir. Yaklaşık 150 °C'deki kaynatma ve kızartma gibi uygulamalar aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'i parçalamakta yetersiz kalmıştır. Katı formdaki toksinin parçalanması için 150 °C'nin üzerinde sıcaklık uygulamaları gereklidir. Parçalanma derecesi; toksinin ve gıdanın türü, gıdadaki kontaminasyon seviyesi, ısıtma işlemi şiddeti ve süresi, gıdanın nem içeriği, pH'sı ve içerdiği iyonik kuvvetler gibi faktörlere bağlıdır. Yüksek nem içerikli gıdalarda aflatoksinlerin ısıtma işlemiyle daha kolay bir şekilde inaktive edilebilmesi, nem içeriğinin aflatoksin dekontaminasyonunda kritik bir faktör olduğunu göstermektedir. Coomes et al. (1966)'ya göre ortamdaki su molekülü, terminal karboksilik asit oluşturmak üzere aflatoksin B<sub>1</sub>'in yapısındaki lakton halkasına girerek halkanın açılmasını sağlamaktadır. Oluşan terminal asit ise daha sonra ısı ile indirgenmiş dekarboksilasyona uğrar (Rustom, 1997).

Aflatoksinlerin dekompozisyon sıcaklığının yüksekliği ve bu derece yüksek sıcaklık uygulamalarına maruz kalacak bir çok gıda maddesinin fiziksel ve kimyasal yapısının değişeceği ve besleyicilik özelliğinin azalacağı gerçeği, kontamine gıdalardaki aflatoksinlerin kimyasal yöntemlerle inaktivasyonu arayışlarına hız kazandırmıştır.

Aflatoksinlerin kimyasal yöntemlerle degradasyonu amacıyla farklı özelliklere sahip bir çok kimyasal denetlenmiş olmasına rağmen dünyada bugün bu amaçla kullanılan tek yöntem "amonyaklama" dır. Ancak bu işlem sonunda oluşan ürünlerin insanlardaki muhtemel toksik etkileri bilinmemektedir. Ayrıca amonyaklama işleminin uygulandığı gıdalarda besin değeri ve tat kaybının yanı sıra renk açılması ve kötü koku oluşumu gibi olumsuzluklar da söz konusudur. Bu nedenle söz konusu tekniğin yalnızca hayvan yemi olarak tüketilecek mısır, keten tohumu ve yer fıstığı gibi ürünlerde kullanımına izin verilmektedir (Park et al., 1988).

Aflatoksinler asitlerin sulu çözeltileri ile de degrade olabilmektedir. Asit ile muamele sonucu aflatoksin B<sub>1</sub>'den, onun hidroksi analogu aflatoksin B<sub>2a</sub> ve aflatoksin G<sub>1</sub>'den de

onun analog türevi aflatoksin G<sub>2a</sub> oluşmaktadır. Bu reaksiyonlar asitle katalizlenir ve furan halkasındaki çift bağa su molekülü eklenmesiyle gerçekleşir (Doyle et al., 1982). Doyle ve Marth (1978a) gerçekleştirdikleri bir çalışma sonucunda farklı pH'lara hidroklorik asit ile ayarlanmış solüsyonlarla 24 saat muamele edilen aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub> seviyelerinde azalmalar gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'de pH 4'te sırasıyla % 2.3 ve % 2.6, pH 3'te % 6.4 ve % 5.1 ve pH 2'de % 19.3 ve % 19.8 degradasyon gözlenmiştir. Ancak bir başka çalışmada aflatoksin B<sub>1</sub>'in hidroksi analogu B<sub>2a</sub>'ya % 95 oranında dönüşmesi için pH 3'te 100 °C'de 6 saatlik bir uygulama gerektiği, bunun da gıdanın kalitesini etkileyecek şiddette bir uygulama olduğunu bildirilmiştir (Pons et al., 1972). Ayrıca aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'den oluşan yeni ürünler aflatoksin B<sub>2a</sub> ve G<sub>2a</sub> da toksik nitelikli maddelerdir (Tabata et al., 1994; Basappa ve Shantha, 1996). Bu nedenle aflatoksinlerin degradasyonu amacıyla asitlerin gıdalarda kullanılmasının uygun olmayacağı düşünülmüştür. Ancak hidrolize edilmiş fıstık ürününün üretiminde 3N hidroklorik asidin yüksek sıcaklık ve basınçta 12 saatlik muamelesi sonucunda toksik herhangi bir ürün oluşturmadan aflatoksinlerin tamamının degrade olduğunu (Dutton ve Williams, 1988), yoğurt (Megalla ve Hafez, 1982) ve silaj (Hafez ve Megalla, 1982) üretiminde fermentasyon boyunca toksisitenin kısmen azaltıldığının bildirilmesi ve bu sonuçların muhtemelen artan asitlik sonucu elde edildiğinin düşünülmesi asit uygulamalarının gıdalarda aflatoksin dekontaminasyonu için uygulanabilirliği konusunda yeni umutların doğmasını sağlamıştır (Basappa ve Shantha, 1996).

Aflatoksinleri alkali çözeltilerle muamele etmek de aflatoksin seviyelerinde azalmalara sebep olur. Parker ve Melnick (1966)'ya göre bu durum aflatoksinlerin lakton halkasının açılmasıyla suda çözünebilir bileşiklere (aflatoksinlerin  $\beta$ -keto asitlerine) dönüşmesinden kaynaklanır. Ancak bu reaksiyon çift yönlüdür. Yani ortam tekrar asidik hale getirilirse aflatoksin molekülleri yeniden oluşabilir (Tabata et al., 1994). Bu da tehlikenin yeniden oluşması anlamına gelir.

Ancak alkali koşullarda aflatoksinden oluşan bileşikler suyla yıkama ile kolaylıkla ortamdaki uzaklaştırılabilir. Bu nedenle alkali bileşiklerle aflatoksinlerin muamele edilmesinin hemen arkasından uygulanacak bir yıkama prosesi aflatoksinlerin

uzaklaştırılmasında etkin bir uygulama gibi görülmektedir. Nitekim ham yağ üretiminde alkali rafinasyon ve yıkama prosesini bir arada içeren nötralizasyon basamağının aflatoksin eliminasyonunda etkili olduğu bildirilmiştir (Parker ve Melnick, 1966; Kamimura et al., 1986). Böylesi bir uygulamanın diğer gıdalara da uygulanabileceği düşünülmektedir (Tabata et al., 1994).

Alkali koşulların yüksek sıcaklıklar (yaklaşık 100 °C) ile birlikte uygulanması durumunda lakton halkasının açılmasını dekarboksilasyon takip eder. Hatta reaksiyon daha da ilerler ve aromatik halkadan metoksi grubunun kaybı da söz konusu olabilir (Anon., 2004c).

Tortilla; hammaddesi mısırın alkali bir çözelti ile muamele edilmesi de dahil bir çok işlem basamağını üretim prosesinde içeren ve daha çok Latin Amerika'da tüketilen bir gıdadır. Tortilla üretiminde aflatoksinle kontamine mısırları hammadde olarak kullanan Price ve Jorgensen (1985), alkali ortamda ısıtma basamağının aflatoksinleri kısmen degrade ettiğini ancak oluşan üründen yeniden aflatoksin oluşabileceği veya bu ürünün aflatoksinden daha toksik olabileceği yönünde kuşkuları olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışma kapsamında yine aflatoksinle kontamine mısırları tortilla, tortilla cipsi ve mısır cipsi üretiminde kullanan Torres et al. (2001) geleneksel ve ticari olmak üzere iki farklı yöntem uygulamışlardır. Geleneksel yöntem, pişirme ve alkali çözeltiye batırıp bekletme basamaklarını; ticari yöntem ise yalnızca sıcak alkali çözeltiye batırma basamağını içermektedir. Çalışma sonunda geleneksel yöntemde % 51.7-84.5, ticari yöntemde ise % 29.5-71.2 oranında aflatoksin azalması gözlenmiştir.

Fıstıktan üretilen ve farklı seviyelerde (15, 30, 45 ppb) aflatoksin B<sub>1</sub> ile kontamine edilmiş bir içeceğin mutajenik aktivitesinin üzerine pH ve ısıl uygulamanın etkisini araştıran Rustom et al. (1993) pH 5'de 130 °C'de 20 saniye ve 121 °C'de 15 dakikalık uygulamalarla mutajenik aktivitede sırasıyla % 76 ve % 73'lük azalmalar gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Bu durumun pH'yı ayarlamakta kullanılan hidroklorik asit tarafından katalizlenen bir reaksiyonla terminal furan halkasında meydana gelen kısmi hidrasyon sonucu aflatoksin B<sub>1</sub>'in aflatoksin B<sub>2a</sub>'ya dönüşmesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Aynı ısıl işlem normlarının (130 °C'de 20 saniye ve

121 °C'de 15 dakika) pH 10.2'de uygulanması durumunda ise sırasıyla % 78 ve % 88 oranında mutajenik aktivitenin azaldığı saptanmıştır. Bu durumda pH'yı ayarlamakta kullanılan sodyum hidroksit tarafından katalizlenen bir reaksiyonla aflatoksin B<sub>1</sub>'in lakton halkasında meydana gelen bir hidroliz sonucu aflatoksin B<sub>1</sub>'den aflatoksin D<sub>1</sub> oluşması sonucu gerçekleşebileceği bildirilmiştir. Yazarlar aflatoksin B<sub>1</sub>'in asidik ısıtma sonucu oluşan aflatoksin B<sub>2a</sub>'dan 1000 kat ve bazik ısıtma sonucu oluşan aflatoksin D<sub>1</sub>'den 450 kat daha mutajenik olduğunu bildirmişlerdir.

Tabata et al. (1994) da farklı nitelikteki gıda katkılarıyla aflatoksinlerin degradasyonu üzerine çalışmışlardır. Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> içeren standart çözeltileri % 1'lik hidroklorik asit ve sülfürik asit çözeltileri ile 40 °C'de 16 saat muamele etmişler ve işlem sonunda aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'in tümünün B<sub>2a</sub> ve G<sub>2a</sub>'ya dönüştüğünü, aflatoksin B<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub>'de ise herhangi bir değişim gözlenmediğini bildirmişlerdir. Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> içeren standart çözelti ayrıca % 1'lik sodyum hidroksit çözeltisi ile 40 °C'de 16 saat muamele edilmiş ve pH'sı sonradan ayarlanmadan (orijinal pH'sındaki, pH 13) incelendiğinde bu çözeltideki tüm aflatoksinlerin seviyelerinin sıfır olduğu saptanmıştır. Sodyum hidroksit çözeltisi ile muameleden sonra pH'sı 4'e ayarlanıp incelenen standart çözeltilerde ise aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub>'nin başlangıç miktarlarına göre geri alınan yüzdeleri sırasıyla % 79, 98, 0 ve 0 bulunmuştur.

Gıdalarda uygulanan ve aflatoksin degradasyonunda etkili olduğu gözlenen bir başka kimyasal da bisülfittir (Doyle ve Marth, 1978b; Altuğ et al., 1990). Çalışmalarında bisülfit oksidasyonunun aflatoksin degradasyonu ile paralel yürüdüğünü gören Doyle ve Marth (1978c) aflatoksinlerin degradasyonunda bisülfitin okside olmuş haldeki serbest radikal formunun etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Aynı çalışma kapsamında ortama ilave edilen sitrik asidin bisülfit-aflatoksin reaksiyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Ortama eklenen sitrik asidin gerek aflatoksin B<sub>1</sub> gerekse aflatoksin G<sub>1</sub>'in bisülfit ile degradasyon hızlarında düşüşe neden olduğu bildirilmiştir. Bunun nedeninin sitrik asidin bisülfitlerin oksidasyonunu geciktirmesi olabileceği bildirilmiştir (Doyle ve Marth, 1978c).



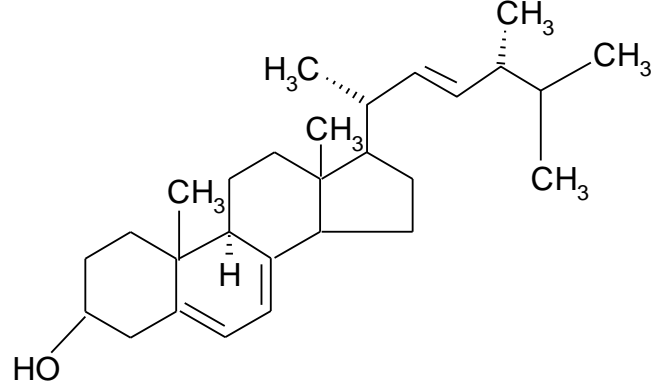
Gıdalarda aflatoksin sorununun önlenmesi amacıyla biyolojik yöntemler de son yıllarda sıklıkla araştırılan konular arasındadır. Bu biyolojik yöntemler küf kontaminasyonu ve aflatoksin oluşumunun önlenmesi amacıyla uygulananlar (Baylas ve Gönül, 2000) ve mevcut aflatoksinlerin degradasyonu amacıyla gerçekleştirilenler (Bata ve Losztity, 1999) olarak sınıflandırılabilir. Şu an için pratikte yaygın olarak kullanılmayan bu yöntemlerin etki mekanizmalarının net olarak ortaya konmasıyla ileride yaygın kullanım imkanı bulabileceği öngörülmektedir (Baylas ve Gönül, 2000).

### **1.1.2. Küflenme ve Küflenme Düzeyinin İndikatörü: Ergosterol**

Gıda işleme endüstrisinin en önemli problemlerinden biri hammaddedeki küf yükü ve küf kaynaklı problemlerdir. Bugüne kadar gerek dış pazarda gerekse iç tüketimde kalite kriteri olarak mikrobiyolojik çalışmalar küf ve küf kontaminasyonları konusunda yoğunlaşmıştır. Son birkaç yıla kadar ürünün küf yükünün en önemli kalite kriteri olarak benimsenmesinin yanında son yıllarda ürünün ergosterol içeriği birçok gıda için yeni bir kalite parametresi olarak gündeme gelmiştir (Kadalkal, 2003). Ergosterol gıdaların küflenmesi açısından bir indikatör olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle ergosterol varlığının saptanması günümüzde gıdalarda küflenmenin ve küflenme düzeyinin belirlenmesinde önemli bir kalite kriteri olarak değerlendirilmektedir (Saldamlı, 2001).

Ergosterol, bir lipit grubu olan sterollerin bir üyesidir. Doğada bulunan steroller sentezlendiği kaynağa bağlı olarak zoosteroller (hayvanlar tarafından sentezlenenler), fitosteroller (yüksek bitkiler tarafından sentezlenenler) ve mikosteroller (mikroorganizmalar tarafından sentezlenenler) olmak üzere üç grupta sınıflandırılırlar (Saldamlı, 2001; Gökalp ve diğ., 2002). Mikosteroller; zoosteroller ve fitosterollere kıyasla oldukça farklı yapı ve özellik gösterirler. Bu sterollerden hem doğada çok yaygınlaşmış olması hem de D<sub>2</sub> vitamininin provitamini gibi işlev üstlenmiş olması nedeniyle en tanınmış olanı ergosteroldür (Saldamlı, 2001).

Ergosterol steroid grubunun bir üyesi olup  $C_{28}H_{44}O$  formülüne sahip beyaz kristal yapıda organik bir maddedir (Kadakil, 2003). Ergosterolün kimyasal yapısı Şekil 1.4'te gösterilmiştir.



Şekil 1.4: Ergosterolün kimyasal yapısı

Ergosterol farklı bitki ve hayvanların sterol karışımının sadece minör bir bileşenidir. Bu nedenle gıdalarda, özellikle de domates ve domates ürünlerinde ergosterol oluşumu sadece ve hemen hemen tamamen küflerin varlığında görülmektedir (Ghiretti et al., 1995).

Ergosterol çoğunlukla canlılarda hücrel membranlarda bulunur ve membranların geçirgenliğinin düzenlenmesinde rol alır. Ergosterol, sağlıklı fungal hücreler için şarttır. Küflerin ergosterol biyosentez yeteneği bir çok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Ergosterol biyosentezi; küfün çeşidi, yaşı, substrat bileşimi ve oksijen varlığı ile doğrudan ilişkilidir (Ghiretti et al., 1995).

Ergosterol mikroorganizmalardan sadece maya ve küflerde bulunmaktadır (Anon., 2000a). Ergosterol; *Zygomycotina*, *Ascomycotina*, *Basidiomycotina* ve *Deuteromycotina* alt bölümünde sınıflanmış bir dizi küfte hücre membranının yapısal bir bileşenidir (Battilani et al., 1996). Domates ve mamullerinde ergosterol varlığından bakteriler ve mayalar sorumlu tutulmakta ve belirlenen ergosterolün küfler tarafından sentezlendiği kabul edilmektedir. Bocchi et al. (1995) ürünün küfler tarafından istila edilmesi

durumunda küflerin ergosterol varlığından sorumlu tek temsilci olarak dikkate alınabileceğini belirtmektedir.

Gıdalarda küflenmenin ve küflenme düzeyinin belirlenmesinde önemli bir kalite kriteri olarak kullanılabilme potansiyeli üzerine Bertoni et al. (1994), domates ve ürünlerinde bulunabilecek ergosterol limit değerini kuru maddede 15 mg/kg olarak önermiştir.

## **1.2. İncirlerde Aflatoksin Problemi**

### **1.2.1. İncirlerin Kurutulması**

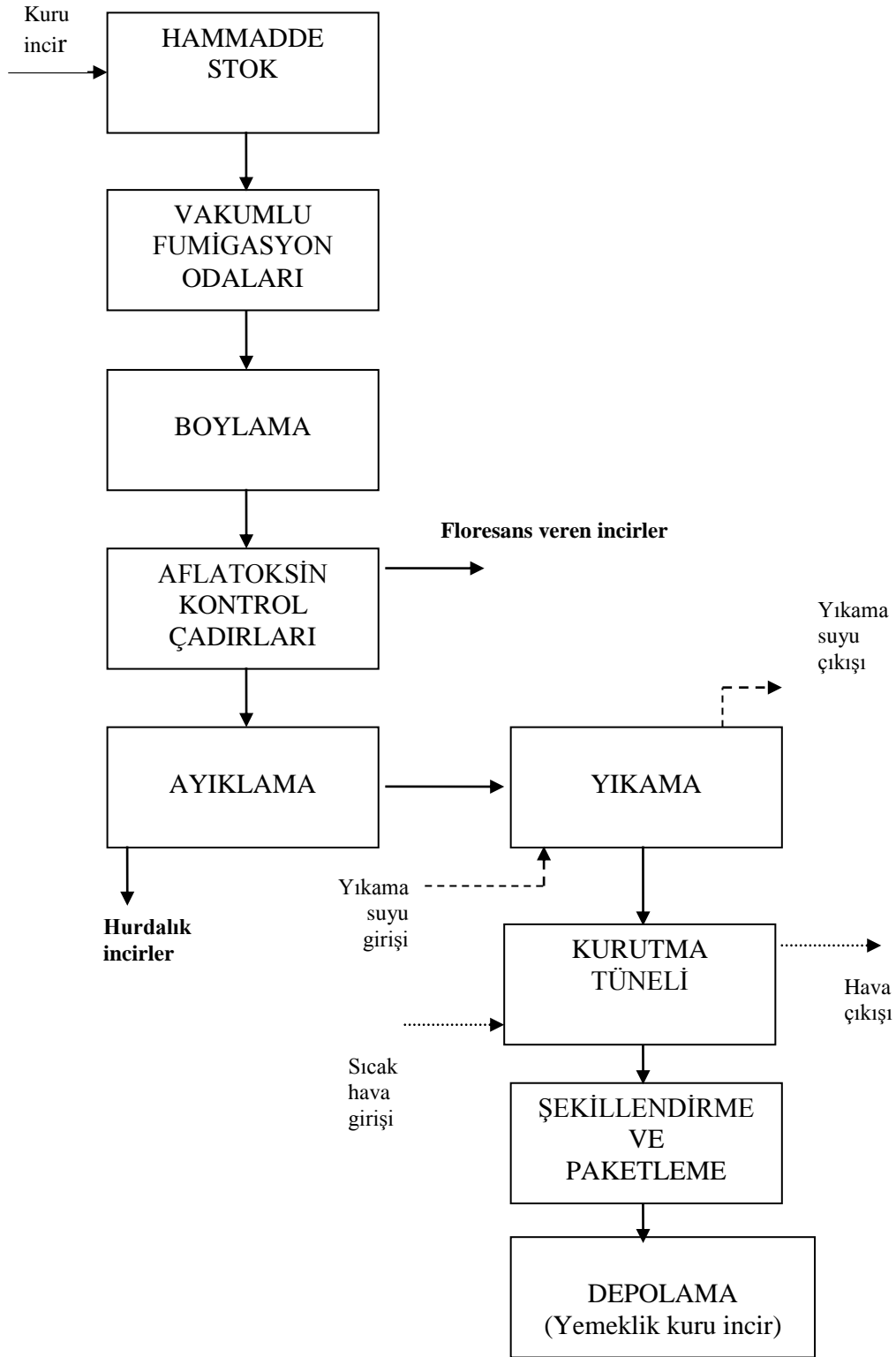
İncir ülkemizde sıkça kurutulan ve ihraç edilen meyvelerden birisidir. Ülkemizde incir sezonu temmuz ayının ortalarında başlayıp ekim ayı sonlarına kadar sürer. Az çekirdekli ve ince kabuklu “Sarılop” çeşidi başta olmak üzere “Göklop”, “Karayaprak”, “Hesevi” ve “Halebi” kurutmalık olarak yetiştirilen çeşitlerdir (Kılıç ve diğ., 1997).

Kurutulacak incirler mümkün olduğunca ağaçta bırakılır. Ağaçta tutunamayacak derecede kuruyup düşenler toplanır ve hasır veya kerevetlere serilip gölge bir yerde 8-10 gün içinde % 20-25 nem içeriğine ulaşana dek kurutulur (Yağcıoğlu, 1999). Kurutma işlemini daha kısa sürede tamamlamak için incirlerin kabin tip kurutucularda sıcak hava akımıyla da kurutulması mümkündür (Özkan ve diğ., 2000; Gallali et al., 2000). Yeterli nem içeriğine kadar kurutulmuş incirler üreticiler tarafından plastik kasalara doldurulur ve incir işletmelerine getirilir.

Gelen hammadde (kuru incir), işletmenin girdi kabul kriterine göre satın alınır ve hammadde stok bölümüne aktarılır. Stoktan çıkan kuru incirler vakumlu fumige odalarına doldurulur ve uygun bir fumigant (genellikle metil bromit) ile fumige edilir. Bu işlemin amacı incirleri çeşitli ambar zararlılarından korumaktır. Yaklaşık 4 saat süren bu işlemin sonrasında odaların kapıları açılarak havalandırma yapılır. Daha sonra kuru incirler bir sonraki aşama olan boylama bölümüne aktarılır. Burada incirler

boylama makinesine girer ve eleklerden geçerek boylarına ayrılır. Çeşitli boylardaki kuru incirler içinde UV (Ultraviyole) lambalar bulunan aflatoksin çadırlarına gelir. Bu lambaların ışığı altında parlak yeşilimsi sarı floresans veren (muhtemelen aflatoksinli) incirler seçilir. Seçilen bu incirler ayrı kasalarda toplanıp başka bir yere aktarılırlar. Kontrolde geçmiş renk vermeyen kuru incirler kasalara boşaltılır ve ayıklanma bölümüne gönderilir. Bu bölümde kuru incirler geniş masaların üzerine dökülür ve çürük, çatlak, hasarlı vb. incirler ayıklanır. Fiziksel zarara uğramış ve insan tüketimine uygun olmayan bu nitelikteki incirler “hurdalık” diye isimlendirilen incirlerdir. İçlerinden hurdalıkları ayrılmış kuru incirler yıkama bölümüne gönderilir. Yıkama aşaması incirlerin, üzerinde olabilecek toprak, çamur vb. şeylerden arındığı aşamadır. Mevsimsel olarak değişen sıcaklıktaki su ile yıkama yapılır. Muhtemel mikroorganizma gelişimini durdurmak için yıkama suyuna tuz katılabilir. Daha sonra nem oranını istenen seviyeye getirmek amacıyla kurutma işlemi gerçekleştirilir. Bu amaçla işletmelerde genellikle kurutma tünelleri kullanılmaktadır. İşlem sonunda incirlerin nem içeriğinin % 18-20 dolaylarında olması istenir. Daha sonra müşteri isteği doğrultusunda şekil verilip paketlenen incirler kendilerine ayrılan bölümlerde, malın sevk edileceği tarih ve müşteri taleplerine bağlı olarak ya oda sıcaklığında ya da soğukta depolanırlar (İnceoğlu, 2004; Anon., 2004d). İncirlerin kurutulmasında randıman hasat edilen taze incirlerin ağırlığına bağlı olarak % 24-27 arasında değişir (Loesecke, 1955). İncir işletmelerinde kuru incir işlenmesinde uygulanan akış şeması Şekil 1.5’te verilmiştir.

İncir, aflatoksin üreten küflerin gelişebileceği ve toksin üretebileceği uygun bir besiyeridir (Altuğ et al., 1990). Toksin üretimi sorunu incir daha henüz bahçedeyken başlar. İncirin doğal hassas yapısının yanı sıra geçirdiği kritik kuruma evreleri ve bu evrelerde söz konusu olan nem ve sıcaklık değerleri küfün bu meyveye bulaşma ve toksin oluşturma riskini arttırmaktadır.



Şekil 1.5: İncir işletmelerinde uygulanan akış şeması

### 1.2.2. İncirlerde Kf Florası

Bir gıda maddesinde aflatoksin oluşumundan söz etmek için o gıda maddesinin küflerle kontamine olması ilk ve en önemli koşuldur. Küflerin mikotoksin üretimleri değişik fiziksel ve çevresel faktörlere bağlı olmakla birlikte mikotoksin üretebilen küf ile ürünlerde şartlar uygun olduğu takdirde mikotoksin riskinin her zaman var olduğu söylenebilir (Kocabaş, 1991).

Bir çok tarımsal üründe ve işlenmiş gıda maddesinde olduğu gibi kuru incirlerde de küf florası üzerine çalışmalar yapılmıştır.

İncirlerde küf florası ve aflatoksin oluşumu üzerine bir çalışma yürüten Aşkın ve Köşker (1976), ağaçtan başlayarak kuruma ve akabinde işleme prosesinin çeşitli noktalarında aldıkları naturel ve çeşitli şekillerde işlenmiş tiplerden 56 adet incir örneğinden 138 adet küf izole etmişlerdir. Bu örneklerin hiçbirinde tespit edilebilir miktarda aflatoksin saptayamamışlardır. İzole edilen küflerin büyük çoğunluğu *Aspergillus* (% 39.86) ve *Penicillium* (% 39.86) cinsi küfler oluşturmaktadır. Saptanan diğer cinsler ise *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Chaetomium*, *Absidia*, *Geotrichum* ve *Mucor*'dur. Araştırmacılar sadece *Aspergillus* cinsi küflerde tür bazında identifikasyon yapmış ve var olan *Aspergillus* türlerini *A. niger*, *A. flavus*, *A. wentii*, *A. glaucus*, *A. terreus*, *A. versicolor*, *A. nidulans*, *A. ornatus*, *A. ochraceus* ve *A. ustus* olarak belirlemişlerdir. Araştırmada çeşitli incir örneklerinden 14 *A. flavus* grubu organizma izole edilmiştir. Bunlardan 12 sinin (% 85.71'inin) aflatoksin üreten suşlar olduğu daha sonra suni besiyerinde geliştirme çalışmaları sonucunda ortaya çıkmıştır. Aflatoksin meydana getiren izolatlar, tüm izolatların ancak % 8.7'si olmasına rağmen, ağaçtan başlamak üzere işlemenin hemen tüm safhalarından alınan örneklerden izole edilmiştir. Bu durum üzerine araştırmacılar şartlar uygun olduğu takdirde kuru incirlerde aflatoksin meydana getirebilecek bir potansiyelin varlığını bildirmişlerdir.

Mislivec et al. (1979) geleneksel metotlarla ve organik olarak yetiştirilen, incirinde içinde bulunduğu 10 çeşit üründe gerçekleştirdikleri çalışmalarında gıdaları, toplam canlı fungal içerikleri ve bu gıdalarda karşılaşılabilecek farklı küf türleri bakımından

incelemişlerdir. İncelenen 60 incir örneğinin hiçbirinde herhangi bir fungal oluşum görülmemiştir. Diğer gıdaların florasının incelenmesi sonucunda ise *A. glaucus*, *A. niger* ve *A. flavus* başta olmak üzere 22 cinse ait 65 küf türüne rastlanmıştır.

Demir ve diğ. (1990) tarafından yürütülen bir çalışmada yeşil olum, ağaç olum (taze incir), buruk, sergi, üretici deposu ve işletme dönemlerindeki flora niteliğini ortaya koymak için 1988-1989 yıllarında Aydın ve İzmir'e bağlı ilçelerdeki 30 bahçe ve 39 işletme-depodan 3-4 kg'lık örnekler alınmış ve izolasyon-identifikasyon çalışmaları yapılmıştır. İncirlerin florasına *Fusarium* spp. ve *A. niger*'in hakim olduğu ancak aflatoksin oluşumuna neden olan *A. flavus*'un örnek alınan tüm dönemlerde izole edildiği bildirilmiştir. Bu durum, aflatoksin oluşumunun mümkün olmadığı yeşil dönemin sonrasındaki tüm dönemlerde aflatoksin riskinin varlığını gözler önüne sermektedir.

Büyükşirin (1993), İzmir ili piyasasından toplanan 50 adet kuru incir örneğinde gerçekleştirdiği çalışmada 5'i *Aspergillus* cinsine, 7'si *Penicillium* cinsine ve 6'sı diğer cinslere ait toplam 18 adet küf izole ve tanımlanmıştır. Ayrıca izole edilip tanımlanan 5 aflatoksijenik küf suşunun aflatoksin üretmediği saptanmıştır.

Zohri ve Abdel-Gawad (1993) 4 adet incir ve 3'er adet kayısı, erik ve üzüm kurusunun mikotoksin içeriklerini ve mikofloralarını inceledikleri çalışmaları sonucunda kuru incir örneklerinin 13 cinse ait 21 küf türüne sahip olduklarını bildirmişlerdir. Kuru incirlerde baskın florayı *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsine ait küflerin oluşturduğu saptanmış ve bu cinslere ait *A. niger*, *A. flavus* ve *P. chrysogenum* türlerinin kuru incirlerde yoğun halde bulunduğu dikkat çekmiştir.

Doster et al. (1994); Kaliforniya'daki 8 incir bahçesinden 1992'de 1000 ve 1993'te 2000 incir örneği toplayarak bu örneklerde *Aspergillus* cinsine ait küfleri incelemişlerdir. Örneklerde *Aspergillus* cinsine ait 15 farklı küf türüne rastlayan araştırmacılar en yoğun türün 1992'de % 6.7 ile ve 1993'te % 3.5 ile *A. niger* olduğunu bildirmişlerdir. Aflatoksin üreticisi iki küf türü *A. flavus* ve *A. parasiticus*'a her iki yılda da % 0.06 düzeyinde rastlanmıştır. Aynı çalışma kapsamında 1992'de bahçe toprağı

örneklerinin incelenmesi sonucunda ise *A. flavus*, *A. parasiticus* ve *A. tamarii* türlerine sırasıyla % 45, 36 ve 19 oranında rastlanmıştır.

Yine Doster et al. (1996); 1991-1994 yılları arasında her yıl 1000-3000 adet civarında incir örneğinin küf florası ve mikotoksin içeriği üzerine gerçekleştirdikleri çalışmalarında incirlerin % 4.04'lük oranla en çok *A. niger* ile kontamine olduğunu saptamışlardır. Bu küf türünü % 0.10, 0.06, 0.06, 0.04, 0.04, 0.04, 0.03 ve 0.01'lik kontaminasyon oranlarıyla sırasıyla *Eurotium amstelodami*, *A. terreus*, *E. chevalieri*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *A. tamarii*, *A. melleus* ve *A. parasiticus* türlerini takip ettiği saptanmıştır. Aynı çalışma kapsamında incelenen incir bahçesi toprağı örneklerinde *A. flavus*'a 1 g kuru toprakta 1992'de 0.2-2.0 koloni oluşturan birim (cfu) ve 1993'te 0-9.7 cfu düzeyinde rastlanmıştır.

Şimdiye kadar değinilen araştırmalarda gıdalardaki fungusları saptamak için geleneksel metotlar kullanılmıştır. Geleneksel metotlar küfün geliştirilmesi ve morfolojik özelliklerini inceleyerek taksonomik olarak tanımlanmasından ibarettir. Geleneksel metotlarda harcanan zamanın çok olması ve yanlış sınıflandırma ihtimalinin yüksekliğı gibi olumsuzluklar söz konusudur. İşte bu nedenle gıdalarda aflatoksijenik fungusların objektif ve hızlı bir şekilde belirlenmesini sağlayacak metotlara ihtiyaç duyulmuştur. Bu amaçla Färber et al. (1997) kontamine incirlerde aflatoksijenik *A. flavus* suşlarının varlığını saptamak için bir Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) sistemi kullanmışlardır. Reaksiyon 3 adet aflatoksin biyosentez geninin varlığını araştırır. Bu genler norsolorinic asit reduktaz, versicolorin A dehidrogenaz ve sterigmatosistin-*o*-methyltransferazdır. Bu genler *A. flavus* ve *A. parasiticus* türlerinin ikisinde de mevcut olduğundan bu metotla iki küfün de saptanmasının mümkün olduğu belirtilmiştir. Bu metotla in vitro'da iyi sonuçlar elde edildiğini belirten yazarlar, gıdalarda yapılacak çalışmalarda, gıda bileşenlerinin polimeraz aktivitesini inhibe etme özelliğı nedeniyle, sistemin duyarlılığında azalmalar olabileceğini belirtmişlerdir. Gerçekten de saf kültür DNA'sı incirlerden izole edilen saf DNA ile karıştırıldığında, reaksiyon aynı PCR ürünlerini vermesine rağmen duyarlılığın 10 kat kadar düştüğü bildirilmiştir. İnfekte incirlerden izole edilen DNA kalıp DNA (kendisinden kopyalanan DNA) olarak



kullanıldığında aynı bant takımı gözlenmiştir. Ancak kalıp DNA olarak infekte olmayan incirler kullanıldığında hiçbir sinyal alınmamıştır.

İncirlerde küf florası ile ilgili bir başka çalışmada da Aziz ve Moussa (2002)'nin incirin de içinde bulunduğu 10 çeşit meyvede gerçekleştirdikleri çalışmadır. Mısır'daki marketlerden perakende olarak alınan 10 adet incirin florasından *A. niger*, *A. flavus*, *P. chrysogenum*, *P. aurantiogriseum*, *P. expansum*, *Botrytis cinerea*, *P. griseofulvum* ve *A. ochraceus* türleri sırasıyla % 100, 80, 80, 80, 80, 80, 60 ve % 60 oranlarında izole ve tanımlanmıştır. Bu küf türlerinden *A. flavus*'un aflatoksin; *A. ochraceus*'un okratoksin; *P. chrysogenum*, *P. expansum* ve *P. griseofulvum*'un da patulin mikotoksininin potansiyel üreticisi olduğuna dikkat çekilmiştir.

Küflerin gıdalarda gelişerek bir yandan o gıdanın tüketilemeyecek bir hal almasına neden olmaları diğer yandan da mikotoksin sentezleyerek hastalık ve ölümlere neden olmaları; kuru incirin de dahil olduğu bir çok gıdada bu mikroorganizmaların önemini ortaya koymakta, küf niteliğinin ve sayısının gerçeğe en yakın sonuçlarla saptanmasını sağlayacak yöntemlerin belirlenmesini ve bu konudaki çalışmaların sürdürülmesini gerekli kılmaktadır (Büyüksirin, 1993).

### **1.2.3. İncirlerde Aflatoksin Oluşum Evreleri**

Tarımsal ürünlerin toksijenik küfler ile kontaminasyonu; hasat öncesinde, hasat sonrasında, kurutma, depolama, işleme ve dağıtım esnasında meydana gelebilir (Büyüksirin, 1993).

Aflatoksin oluşumuna duyarlı gıda grupları arasında yer alan incir meyvesinde yetiştirme ve olgunlaşma sürecinde küf bulaşması ve aflatoksin oluşumunun kökeninin saptanması amacıyla farklı kişi ve kuruluşlarca bir çok çalışma gerçekleştirilmiştir (Buchanan et al., 1975; Demir ve diğ., 1990; Boudra et al., 1994; Doster ve Michailides, 1997). Bu çalışmaların sonuçlarına göre olgunlaşmamış yeşil renkli incirlerde küf hücumuna karşı belli bir direnç söz konusudur. Bu dönemdeki meyve aflatoksin üreticisi küfle kontamine olsa bile meyvenin yapısının toksin üretimine uygun olmaması

nedeniyle aflatoksin oluşumu gözlenmez (Demir ve diğ., 1990). Meyve olgunlaştıkça bu direnç kaybolur ve küf bulaşması bakımından en kritik basamak olan sert-olgun basamağa (taze incir haline) gelir (Boudra et al., 1994). En yüksek aflatoksin seviyesine ise küfün en uzun kolonizasyon periyoduna sahip olduğu kahverengi buruşuk olgun meyvelerde rastlanmıştır. Bu dönemde görülen aflatoksin miktarının taze incirdeki miktarın yaklaşık 6 katı, yeşil renkli incirlerdeki miktarın yaklaşık 30 katı kadar olduğu bildirilmiştir (Doster ve Michailides, 1997). İncirin, en hassas dönem olan sert-olgun dönemi küfle kontamine olmadan atlatabilmesi durumunda, sonraki aşamalarda kuruyup çürümeye karşı daha dayanıklı hale geleceği bildirilmiştir. Aksi halde aflatoksin birikiminin fungal gelişimin durduğu ana kadar kuruma boyunca süreceği vurgulanmıştır (Buchanan et al., 1975; Doster ve Michailides, 1997).

Aşkın ve Köşker (1976), laboratuvar koşullarında incirlerde aflatoksin oluşumunun saptanması amacıyla yaptıkları bir çalışmada; kuru incirlerden izole ettikleri iki ve bir enstitüden sağladıkları bir *A. flavus* kültürünü her bir örneğe  $10^5$  adet küf sporu düşecek şekilde kuru incir örneklerine aşılamışlardır. İncir örneklerinin yarısı aşılama öncesi nemlendirilip sterilize edilmiş, diğer yarısı ise herhangi bir nemlendirme veya sterilizasyon işlemine tabi tutulmamıştır. İnkübasyon karanlıkta 28 °C'de iki hafta süreyle yapılmıştır. Belli zaman aralıklarında örneklerde aflatoksin tayini yapılmıştır. Araştırma sonucunda nemlendirilmeden ve sterilize edilmeden 3 ayrı *A. flavus* kültürüyle aşılanan ve % 19.74 su içeren kuru incirlerde inkübasyon periyodu sonunda herhangi bir küf gelişimi ve aflatoksin oluşumu gözlenmemiştir. Bu durum yeterli bir kurutmanın küf gelişimi ve aflatoksin oluşumunu engelleyici etkisini ortaya koymaktadır. Nemlendirilip sterilize edilerek bünyelerindeki su oranı % 35.23'e çıkartılmış örneklerde ise her üç kültürün de inkübasyonun 2. gününden sonra aflatoksin üretimine başladığı görülmüştür. Kültürlerin meydana getirdiği aflatoksin miktarları inkübasyonun 4. ve 6. günlerinde maksimum seviyelerine ulaşmakta ve bundan sonra giderek azalmaktadır. Schroeder (1966) bu azalmanın, ortamdaki besin maddelerinin tükenmesine bağlı olarak kültürün kendi meydana getirdiği aflatoksini kullanması ile ilgili olabileceğini belirtmiştir. Nitekim Ashworth et al. (1965) *A. flavus* da dahil olmak üzere bazı fungusların aflatoksini metabolize etme yeteneğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ancak Ciegler et al. (1966), ortamdaki aflatoksin miktarının azalmasının

kullanılabilir karbon kaynağının tükenmesine bağlı olamayacağını, zira bu noktada ortama fazla miktarda karbon kaynağı verilse bile düşüşün devam ettiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar toksin azalışının misellerin parçalanması ile ortaya çıkan bir enzim aktivitesine bağlanabileceğini belirtmişlerdir (Aşkın ve Köşker, 1976).

Morton et al. (1979), her bir meyve için 3 çiğ ve 3 pişmiş (121 °C ve 15 psi'de 20 dakika otoklavlanmış) kuru incir, kuru kayısı, kuru üzüm ve ananas örneklerini 3 farklı aflatoksijenik küf suşunun sporu ile aşlamış ve 25 °C'de 45 gün inkübasyona tabi tutmuşlardır. İnkübasyonu takiben yapılan testler sonucunda aflatoksin oluşumuna uygun substrat sıralaması çiğ haldeki örneklerde incir, ananas, kayısı ve üzüm şeklinde, pişmiş haldeki örneklerde ise kayısı, ananas, incir ve üzüm şeklinde oluşmuştur. Çiğ meyve örneklerinde en yüksek seviyede aflatoksine (405 ppb) kuru incirlerde rastlanırken, pişmiş kuru incir örneklerinde aflatoksin oluşumu saptanmamıştır. Bu durumun pişirme işlemiyle meyve dış kabuğunda ve küf gelişimi ve mikotoksin oluşumu için gerekli besin maddeleri ortamında meydana gelebilecek değişimler sonucu gerçekleşmiş olabileceği bildirilmiştir.

Küf kolonizasyonu ile kurutma arasında geçen sürenin aflatoksin üretim seviyesine etkisini incelemek için ağaçta küf sporlarıyla aşılamanın bir kısmı hemen, bir kısmı 24 saat bir kısmı da 72 saat sonra hasat edilmiş ve düşük nem, sabit sıcaklıkta yapay olarak kurutulmuştur. Bir miktar incir ise ticari uygulamanın bir benzeri olarak ağaçta bırakılmış ve güneş altında 9 gün doğal olarak kurutulmuştur. Küf sporuyla aşılama ve kurutma işlemleri arasında geçen 24 ve 72 saatlik gecikmeler, kuru incirlerdeki aflatoksin seviyelerinin sırasıyla  $9.2 \pm 4.6$  ppb ve  $74 \pm 31$  ppb'ye çıkmasını sağlamıştır. En yüksek aflatoksin seviyesine ( $109 \pm 34$  ppb) ise ağaçta kurumaya terk edilen meyvelerde rastlanmıştır (Buchanan et al., 1975).

McBean et al. (1971), kurutulmuş gıdalarda ve özellikle meyvelerde daha önce başlamış olan bozulmaların uzun süre depolamanın etkisiyle sıcaklık ve nemin yükselmesi veya sürenin uzamasıyla daha çok arttığını tespit etmişlerdir (Dunbay, 1995). Bars (1989) kuru incirlerde çok kötü depolama şartları dışında, ürünün sahip

olduğu düşük su aktivitesi nedeniyle *A. flavus*'un gelişme gösteremediğini bildirmiştir (Büyüksirin, 1993).

Meyvenin fiziksel yaralanmasının küf gelişimi ve toksin oluşumu üzerine etkisi, farklı olgunlaşma evresindeki incirlerde incelenmiştir. Olgunlaşma basamakları olarak incir ostiolünün (arka kısmındaki deliğin) kapalı olduğu yeşil evre, ostiolün açık olduğu yeşil evre, sarı evre ve kahverengi-olgun evre seçilmiştir. Cam bir çubuk yardımıyla ostiolü delerek gerçekleştirilen fiziksel yaralamalar sonucu *A.flavus* infeksiyonu ve aflatoksin oluşumunun ostiolün açık olduğu yeşil ve sarı evrede arttığı, ostiolün kapalı olduğu yeşil ve olgunlaşmanın son basamağı olan kahverengi renkli evrede ise değişmediği gözlenmiştir. Bu durumun kahverengi olgun incirlerde görülen böcek zararlanmalarının incirlerde aflatoksin düzeyini arttırmamasının bir göstergesi olduğu bildirilmiştir (Doster ve Michailides, 1997).

#### **1.2.4. İncirlerimizde Aflatoksin Sorununun Tarihçesi**

Aflatoksin sorunu, bahçeden tüketiciye kadar incirin geçirdiği süreçte karşılaşılan sorunların başında gelip gerek tüketim gerekse ihracatımız açısından zaman zaman aşılması güç sıkıntılar doğurmaktadır.

İncirlerimizde aflatoksin problemi ilk kez Ekim 1972'de Avrupa Ülkeleri'ne ihraç edilen kuru incirlerde Danimarka'da yapılan analizler sonucu 938 ppb aflatoksin B<sub>1</sub> saptanmasıyla yaşanmıştır. Yine 1973-1974 yıllarında Amerika Birleşik Devletleri'ne gönderilen 38 parti kuru incirin üçünde aflatoksin belirlenmiş ve bu partiler Türkiye'ye geri gönderilmiştir. Bu yıllardan seksenli yılların ortalarına kadar incir ihracatında aflatoksin oluşumu ile ilgili önemli bir sorun yaşanmamıştır. 1986 ve 1987 yıllarında ise İsviçre ve Almanya'ya gönderilen kuru incirlerde bu ülkelerin ilgili kuruluşları tarafından yapılan analizlerle toleranslar üzerinde aflatoksin saptanmasıyla konu güncelleşmiştir (Demir ve diğ., 1990).

Son yıllarda toplumda sağlıklı beslenme bilinci doğrutusunda gelişen ve yerleşen temiz ve kaliteli gıda tüketimi isteği ve özellikle son 20 yılda çok büyük bir ivmeyle

ortaya çıkan bilimsel ve teknolojik yenilikler sayesinde her konuda olduğu gibi incirlerde aflatoksinin oluşumunun izlenmesi ve kontrol altına alınması konusunda da büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu ilerlemeler sonucunda başta gelişmiş ülkeler olmak üzere birçok ülke, insanların sağlığını korumak adına oldukça hassas davranmaya, tolerans limitlerini düşürmeye ve ithal ettikleri ürünleri daha yoğun ve dikkatli bir şekilde kontrol etmeye başlamışlardır. Tabii ki de bu gelişmeler en büyük kuru incir üreticisi ve satıcısı konumundaki ülkemize çeşitli yaptırımlar getirmiştir.

Yaklaşık 35 senelik bir geçmişi olan “incirlerde aflatoksinin oluşumu” konusu kuru incir ihracatı gerçekleştirdiğimiz çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalar sonucu yakın tarihimizde de zaman zaman tekrar gündeme gelmiş ve kuru incir ihracatımızı ciddi sıkıntılara sokmuştur.

İhracatta önemli müşterilerimizden biri olan İngiltere’ye Kasım 1988 ve Ocak 1989 tarihleri arasında Türkiye’den ihraç edilen kuru incir ve incir ezmesi örneklerinin % 24’ünde toplam aflatoksinin seviyesi, o dönemde İngiltere’de geçerli olan sınır değeri 10 ppb’nin üzerinde çıkmıştır. Rastlanılan en yüksek aflatoksinin seviyesi ise 165 ppb’dir. Hem aflatoksine rastlanma oranı hem de rastlanılan aflatoksinin seviyelerinin yüksek çıkması üzerine 1989 mahsulü incirler daha sıkı bir denetime alınmıştır. Gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda 112 incir ezmesi partisinin % 11’inin ve 93 kuru incir partisinin %9’unun 10 ppb sınır değerini aştığı saptanmıştır. Rastlanılan en yüksek aflatoksinin seviyesi 40 ppb olmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda 14 parti malın İngiltere’ye girişine izin verilmemiştir (Sharman et al., 1991).

Yine İngiltere’de Tarım Gıda ve Balıkçılık Bakanlığı (MAFF) tarafından gerçekleştirilen bir çalışma ile İngiltere limanlarından toplanan 20 kuru incir örneğinin 6’sında (% 30’unda) ve 10 incir ezmesi örneğinin 1’inde (% 10’unda) 10 ppb’den çok toplam aflatoksine rastlanmıştır (Anon., 1996). İngiltere’deki marketlerden perakende olarak satın alınmış 29 kuru incir örneğinin hiçbirinin 4 ppb’nin üzerinde aflatoksinin içermediği bildirilirken benzer bir çalışmada da İskoçya’daki marketlerde satılan kuru incirlerin, çalışmadaki saptanabilir aflatoksinin limiti olan 2 ppb’nin üzerinde aflatoksinin içermediği bildirilmiştir (Anon., 1996; Candlish et al., 2001).

Ülkemizde de yetkili kuruluş olan Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından iki farklı çalışmayla da konu incelenmiştir. İlk çalışma 1993-1994 tarihlerinde piyasadan toplanan 92 adet, ikinci çalışma ise 1996-1997 tarihlerinde toplanan 162 adet kuru incir örneğinde gerçekleştirilmiştir. İlk çalışmada örneklerin aflatoksin ile kontaminasyon sıklığı ve ülkemizde geçerli olan 10 ppb'lik sınır değer üzerinde toplam aflatoksin içeren incirlerin oranı sırasıyla % 17.4 ve % 9.8 bulunmuştur. İkinci çalışma için aynı değerler sırasıyla % 13 ve % 9.2 olarak bulunmuştur. Her iki çalışmada da 200 ppb gibi yüksek kontaminasyon seviyelerine rastlanması üzerine aflatoksin sorununun sürekli izlenmesi ve kontrol edilmesi gerekliliği bildirilmiştir (Çoksöyler ve diğ., 1996; Özkaya ve diğ., 2002).

1999 yılında Türkiye'den çeşitli Avrupa Birliği (AB) ülkelerine ihraç edilen kuru incir, fındık ve antepfıstığı ile ilgili olarak AB Gıda ve Veterinerlik Ofisi'ne Almanya, İtalya ve İspanya'nın da içinde bulunduğu 6 AB ülkesinden Türkiye menşeli bu ürünlerde aflatoksin limitlerinin aşıldığını bildiren 27 adet "hızlı uyarı alarmı" bildirilmiştir. Alarmların çoğu kuru incir ve antepfıstığı ile ilgilidir. Bu olayın ardından AB Gıda ve Veterinerlik Ofisi'den bir grup Türkiye'ye gelerek 4-8 Eylül 2000 tarihlerinde incelemelerde bulunmuştur. İncelemeler sonunda yayınlanan raporda; adı geçen gıdalarda örnekleme işleminin tüm kitleyi temsil edecek şekilde uzman kişiler tarafından gerçekleştirilmesi, AB'ye ihraç edilecek partilerin analizlerinin yapıldığı laboratuvarların akreditasyon çalışmalarına ve uluslararası laboratuvar karşılaştırma testlerine katılmaları ve istendiğinde Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından verilecek olan ihracat sertifikasının açıklayıcı bir şekilde hazırlanması yönünde öneriler getirilmiştir (Anon., 2000b)

Ayrıca AB'nin 5 Şubat 2002 tarihli Resmi Gazetesi'nde yayınlanan AB Komisyon Kararı ile ülkemiz kökenli kuru incir, antepfıstığı ve fındık ithaline özel şartlar getirilerek adı geçen ürünlerin AB ülkelerine ihracatında Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nın Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü'nce düzenlenecek "sağlık sertifikası" aranacağını bildirmiştir (Anon., 2004e).

Ülkemizde üretilen fındık, incir ve ürünlerinde Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nın Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü'nce beş yıllık bir süreç için aflatoksin düzeylerinin belirlenmesi konusunda bir çalışma gerçekleştirilmiştir (Anon., 2003). İncelenen kuru incir örneklerinin test sonuçları Çizelge 1.4'te verilmiştir.

Çizelge 1.4: Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nca gerçekleştirilen, çeşitli gıdalarda aflatoksin düzeylerinin belirlenmesine dair bir çalışmada incelenen kuru incir örneklerine ait sonuçlar

	1998-1999		2000		2001		2002 (10 aylık)		5 YILLIK	
	B <sub>1</sub>	Toplam	B <sub>1</sub>	Toplam	B <sub>1</sub>	Toplam	B <sub>1</sub>	Toplam	B <sub>1</sub>	Toplam
Aflatoksinlerin tipi										
Örnek sayısı	3792	3792	21	21	5819	5819	1828	1828	11460	11460
Minimum kontaminasyon düzeyi (ppb)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Maksimum kontaminasyon düzeyi (ppb)	300	350	60	106	550.5	589	141.8	305.3	550.5	589
Ortalama kontaminasyon düzeyi (ppb)	3.0	4.7	7.7	12.2	1.2	1.7	0.9	1.3	1.8	2.7
Örneklerin % 90'ında kontaminasyon düzeyi (ppb)	7	10	28.5	28.5	1.3	2.1	1.4	2.1	2.9	3.7

Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nın son dönemde açıkladığı verilere göre: 2002 yılında AB'ye ihraç edilen fındık, incir, antepfıstığı ve bunlardan elde edilen ürünlerden 15441 adet partinin % 0.9'u çeşitli nedenlerle geri dönmüştür. 2003 yılında ise İzmir ve Aydın illerinden AB ülkelerine ihraç edilen kuru incir ve ürünlerinin parti sayısı 4312, çeşitli nedenlerle geri dönen partilerin oranı % 1.3'tür (Anon., 2004f). Geri dönen incir partilerinin yurt içinde pazarlanıp pazarlanmadığı tam olarak bilinmemektedir (Çoksöyler ve diğ., 1996). Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından her ne kadar geri dönen ürünlerde gümrükte yapılan yoğun kontroller sonucu sadece uygun çıkan partilerin yurda girişine izin verildiğine dair açıklamalar yapılsa da ülkemizde gerçekleştirilmiş bazı çalışmaların sonuçları bu işlemin yeterince özenli yapılmadığını

göstermektedir (Şanlı ve diğ., 1990; Çoksöyler ve diğ., 1996; Özkaya ve diğ., 2002). Bu sorunun üretim ve satış yerlerinde gerçekleştirilecek yoğun denetimlerle büyük ölçüde aşılabileceği düşünülmektedir.

### **1.2.5. İncirlerde Aflatoksin Kontaminasyonunun Önlenmesi ve Giderilmesi**

Birçok gıda maddesi ve hayvan yeminde olduğu gibi incir meyvesinde de küf kontaminasyonu ve mikotoksin oluşumunun önlenmesine yönelik alınacak koruyucu tedbirler, incirde aflatoksin probleminin çözümü için en akılcı yol gibi görünmektedir. Ancak bu işte başarılı olunup olunmadığının veya ne denli başarılı olduğunun ölçülmesi uygulamada önemli zorluklar içermektedir. Ayrıca incirin doğal hassas yapısı ve incir sezonunda, söz konusu olabilen olumsuz iklim koşulları nedeniyle bu tür koruyucu önlemlerin pek de etkin bir şekilde alınamadığı, alınsa bile pek de etkili sonuçlar vermediği de bir gerçektir. Bu nedenlerle birçok gıda maddesinde olduğu gibi incirde de aflatoksinlerin giderilmesi veya azaltılması amacıyla çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Bugün ülkemizde incir işletmelerinde uygulanan ve fiziksel bir ayırma olarak nitelendirebileceğimiz pratik bir yöntem ile kuru incirlerdeki aflatoksin sorununun büyük ölçüde önüne geçilmiştir. Bu yöntem kuru incirlerin uzun dalga boylu (365 nm.) ultraviyole (UV) ışık altında incelenmesiyle ortaya çıkan ve aflatoksin varlığıyla arasında çok sıkı bir ilişki olduğu saptanmış parlak yeşilimsi sarı floresans (bright greenish yellow fluorescence = BGYF) veren incirlerin ayıklanmasıdır.

Pamuk ve mısır gibi ürünlerde çeşitli çalışmalarla (Marsh et al., 1969; Fennell et al., 1973; Zeringue et al., 1999) ortaya konan aflatoksin ile BGYF ilişkisi üzerine, kuru incirlerde ilk defa Steiner et al. (1988) tarafından çalışılmıştır. Çalışmada öncelikle 2500 adet (yaklaşık 56 kg) kuru incir alınmış ve bu kitlenin aflatoksin B<sub>1</sub> ile kontaminasyon seviyesi 22.6 ppb olarak bulunmuştur. UV ışık altında tek tek incelenen bu kitledeki incirlerin 62 tanesinin farklı alan genişlikleri ve farklı yoğunluklarda BGYF verdikleri saptanmıştır. Bu 62 incir tanesinin baştaki 56 kg'lık kitleden çıkarılmasıyla kalan incir kitlesindeki aflatoksin B<sub>1</sub> seviyesinin 0.3 ppb'ye düştüğü görülmüştür.



Bunun üzerine yazarlar, incirlerde UV ışık altında incelendiğinde görülebilen BGYF ile aflatoksin kontaminasyonu arasında çok kuvvetli bir ilişkinin var olduğunu ileri sürmüşlerdir (Steiner et al., 1988).

Aflatoksijenik *Aspergillus* küflerinin istilasına bağlı olarak pamuk, mısır ve kuru incir gibi ürünlerde gerçekleşen aflatoksin kontaminasyonunun bu ürünlerde BGYF veren bir bileşiğin oluşmasına neden olduğu ve bu bileşiğin ancak uzun dalga boylu UV ışık altında incelendiğinde fark edilebileceği bildirilmiştir. BGYF veren bu bileşiğin bitkilerdeki peroksidaz enziminin, fungal bir metabolit olan kojik asit ile reaksiyonu sonucu ortaya çıktığı öne sürülmüştür (Zeringue et al., 1999).

Kojik asit sadece *A. flavus* ve *A. parasiticus* küf türlerinin değil, aynı zamanda diğer birçok *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsine ait türlerin de ürettiği bir metabolittir. Ayrıca kojik asit üreten *A. flavus* suşlarının hepsinin aynı zamanda aflatoksin ürettiğini söylemek yanlış olur. Ancak şimdiye kadar yapılan çalışmalarla aflatoksin üreten *A. flavus* suşlarının hepsinin aynı zamanda kojik asit ürettiği ortaya konmuştur (Parrish et al., 1966; Steiner et al., 1988).

Floresans veren tüm incirlerin ayıklanması halinde bile yığında halen aflatoksin içeren taneler bulunabilmektedir. Bazı incirlerin aflatoksin ile kontamine olduğu halde BGYF vermemelerinin nedenleri arasında incirlerin güneş ışığına maruz kalması sonucu floresans veren bileşiğin yapısının bozulması veya bu bileşiğin yağın yağmurlarla yıkanıp gitmesi sayılabilir. Ayrıca bazı incirlerin iç kısmında yoğun floresans görülmesine karşın dış kısmında floresans yoğunluğunun azalabildiği bildirilmiştir. Ayrıca şimdiye kadar saptanamayan ve aflatoksin üreten kojik asit üretmeyen bazı suşların doğada var olabileceği de ileri sürülmüş ve tüm bunların aflatoksinle kontamine bazı incirlerin BGYF vermemesinin nedeni olabileceği bildirilmiştir (Steiner et al., 1988).

Doster ve Michailides (1998) de doğal infekte incirlerde görülen BGYF'nin *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. tamarii* ve *A. alliaceus* türleriyle ilişkili olduğunu belirtmişler ve bunlarla infekte bazı incirlerin BGYF göstermediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu

durumun küf suşu ve izolatından kaynaklanmadığını ileri sürmüşlerdir. Çünkü BGYP gözlenmeyen meyvelerden izole edilen bu küfleri başka meyvelere aşladıklarında BGYP oluştuğunu saptamışlardır. Aynı çalışma kapsamında elde edilen diğer bir sonuç da BGYP vermeyen bazı incirlerde aflatoksin bulunabildiği ve BGYP veren bazı incirlerin de aflatoksin içermeyebildiğidir.

Ülkemizde Demir ve diğ. (1990) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da BGYP veren 92 kuru incir örneğinin 54'ünün saptanabilir miktarın (1 ppb'nin) altında aflatoksin içerdiği bildirilmiştir. Bu sonuç, aslında aflatoksinle kontamine olmayan incirlerin, BGYP göstermesi nedeniyle, sanki aflatoksinle kontamineymiş gibi muamele gördüğünü ortaya koymaktadır.

UV ışık veren lamba altında BGYP gösteren tanelerin ayıklanması metodu ülkemizde incir işletmelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu metot; BGYP veren tüm incirlerin aflatoksinli grup içinde kabul edilmesi sonucu ürün kaybına yol açması, aflatoksinle kontamine bazı incirlerin BGYP vermemesi nedeniyle fark edilmemesi sonucu yığından ayıklanmaması ve incirlerin tek tek incelenmesi için yoğun iş gücü gerektirmesi gibi olumsuzlukları da beraberinde getirir. Ayrıca UV lamba altında ayrılan incirlerin insan gıdası veya hayvan yemi olarak tüketilme olasılıklarının bulunmaması da ekonomik açıdan önemli kayıplara neden olmaktadır.

İşte bu nedenlerle UV lamba altında fiziksel yolla ayırmaya alternatif olarak, fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler veya bunların kombine uygulamalarıyla incirlerdeki aflatoksinlerin giderilmesine dair çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Altuğ et al. (1990) incirlerde aflatoksin degradasyonu için sodyum bisülfid, ısı, hidrojen peroksit ve UV radyasyonun ayrı ayrı veya kombine etkilerinin denendiği bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada 250 ppb aflatoksin B<sub>1</sub> ile kontamine edilmiş kuru incirler % 1'lik sodyum bisülfid çözeltisine daldırılmış ve bu maddenin tek başına ve hidrojen peroksit, ısı ve UV radyasyonu ile birlikte etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda kuru incirlerin tek başına % 1'lik sodyum bisülfid çözeltisiyle muamelesinde 25 °C'de 2 gün bekletme ile % 25, 3 gün bekletme ile % 28 oranında bir degradasyon

elde edildiğini bildirmişlerdir. % 1'lik sodyum bisülfid çözeltisine daldırılmış incirlere 1 saat süreyle 45, 55 ve 65 °C sıcaklık uygulandığında aflatoksin B<sub>1</sub> seviyesinde sırasıyla % 48.3, % 56.9 ve % 68.4 oranında degradasyon elde edildiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada % 1'lik sodyum bisülfid içeren incir örnekleri % 0.2'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi ile 10 dakika süre ile muamele edildikten sonra 25°C'de 24, 48 ve 72 saat bekletilmiş ve bekleme süreleri sonunda sırasıyla % 25, 59.7 ve 65.5 oranında degradasyon gerçekleştiği bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada incirlerdeki aflatoksini degrade etmede 385 nm'de UV radyasyonu ile 30 dakika süreyle muamelenin etkisini araştırmak amacıyla örnekler yalnızca UV radyasyonu ile muamele edildiklerinde aflatoksin B<sub>1</sub>'in degradasyon oranı % 45.7 olarak saptanmıştır. Bu oran % 1'lik sodyum bisülfid içerecek şekilde muamele görmüş incirlerde % 48.6, % 1'lik sodyum bisülfid içeren ve daha sonra % 0.2'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile muamele edilen örneklerde ise % 42.8 olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak sodyum metabisülfidin incirlerdeki aflatoksinin degradasyonunda tek başına fazlaca etkili olmadığını ancak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve ısı kullanımının bu etkiyi büyük ölçüde arttırdığını belirtmişlerdir.

Benzer bir çalışmada (İçibal ve Altuğ, 1992) kontamine edilmiş kuru incirlerde kükürt dioksidin tek başına ve ısı, UV radyasyon ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile birlikte aflatoksin degradasyonunda etkinlikleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda test edilen muameleler içinde en düşük degradasyon oranları 750 ppm SO<sub>2</sub> işlemi ile muamele sonunda tüm aflatoksinler (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>) için % 14.28 olarak bulunmuştur. Kuru incirlerde aflatoksin degradasyonunda en etkin teknik olarak belirlenen 2000 ppm SO<sub>2</sub>+% 0.2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+55°C'lik ısı işlemi ile aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub>'de sırasıyla % 92.85, % 96.42, % 96.42 ve % 93 oranında degradasyon elde edilmiştir.

Bir başka çalışmada da (Elmacı ve Altuğ, 1994), SO<sub>2</sub> gazının tek başına ve ısı, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve yıkama uygulamaları ile birlikte kuru incirlerde aflatoksin degradasyonuna etkisi endüstriyel boyutta incelenmiştir. Bu amaçla 2000 ve 4500 ppm olmak üzere 2 farklı konsantrasyonda SO<sub>2</sub> gazı, 65 °C'de 2 saat ısı işlemi, % 0.2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve kaynak suyu, klorlanmış kaynak suyu ve potasyum sorbat solüsyonu olmak üzere 3 farklı yıkama sıvısı 6800 ppb ve 900 ppb toplam aflatoksin içeriğine sahip kuru incirlere uygulanmıştır. Klorlanmış kaynak suyu+4500 ppm SO<sub>2</sub> gazı+65 °C'de 2 saat ısı işlemi

aflatoksin degradasyonunda en etkin uygulama olarak saptanmıştır. Bu uygulama ile 6800 ppb toplam aflatoksin içeren incirlerde % 63, 900 ppb toplam aflatoksin içeren incirlerde ise % 78 oranında degradasyon sağlanmıştır.

İncirlerde aflatoksin probleminin çözümünde, son dönemlerde başlatılan ve günümüze değin süre gelen çalışmalar da söz konusudur. Sözelimi; 2001 yılında Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA)'na *A. flavus* kontrolü ile incirlerin aflatoksin ile kontaminasyonunu azaltmak amacıyla bir proje verilmiştir. Bu proje kapsamında *A. flavus* kontrolü, toksijenik olmayan bir suşun yayılmasıyla gerçekleştirilmeye çalışılacaktır. Toksik olmayan bu suşun incir bahçelerinde toksijenik *A. flavus* suşlarının yerini alması için çalışılacaktır. Ayrıca bir çok incir varyetesi de aflatoksijenik *A. flavus* suşlarına karşı dirençleri bakımından incelenecektir. 2006'da tamamlanması düşünülen bu proje ile incirlerdeki aflatoksin sorununa kökten bir çözüm getirilmesine çalışılacaktır (Anon., 2004g).

Günümüzde incirde uygulanan yöntemlere ek olarak daha önce birçok gıdada ve yemde denenmiş bazı kimyasal yöntemlerin incirlerde aflatoksinleri elemine etmek için kullanımının araştırılması yararlı ve pratik bir uygulama olacaktır.

### **1.3. İncirlerde Diğer Fungal Yapılar**

İncir, doğal hassas yapısı ve kurutma prosesi boyunca geçirdiği riskli periyotlar nedeniyle başta küfler olmak üzere çok çeşitli organizmaların istilasına uygun bir meyvedir. BÖLÜM 1.2.2'de de bahsedildiği üzere, gerçekleştirilen çalışmalarla incirde sadece aflatoksin üreten küflerin değil, diğer bazı mikotoksinlerin ve başka fungal yapıların etmeni olabilecek birçok küf türüne rastlanmıştır. Belli zaman aralıklarıyla gerçekleştirilen birçok çalışmayla (Aşkın ve diğ., 1977; Zohri ve Abdel-Gawad, 1993; Aziz ve Moussa, 2002) potansiyel okratoksin A üreticisi olduğu bilinen (Körük, 2001) *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium verrucosum* ve *P. aurantiogriseum*'un, yine potansiyel patulin üreticisi olduğu bilinen (Hasan, 2000) *P. expansum*, *P. chrysogenum*, *P. griseofulvum* ve *A. terreus*'un ve hücre duvarında ergosterol içerdiği bilinen (Ghiretti

et al., 1995) *Alternaria alternata*, *Aspergillus oryzae*, *Botrytis cinerea* ve *Penicillium chrysogenum*'un incir meyvesinde gelişme imkanı bulabildiği gösterilmiştir.

### 1.3.1. İncirlerde Görülen Diğer Mikotoksinler

Küflenme ortamındaki mikotoksinin çeşidi ve yoğunluğu küflenmeye katılan mantarların türüne, sayısına, gelişme düzeyine ve mikroekolojik koşullara göre değişebilir. Aynı türden olan bütün mantar suşları mikotoksin sentezleyemediği gibi uygun koşullar oluşmadıkça toksijenik mantar türleri de mikotoksin üretemeyebilirler (Şanlı ve diğ., 1990).

Son yıllarda kuru incirlerde aflatoksinlerin yanı sıra başka bir mikotoksin çeşidi olan okratoksin A da, varlığıyla sorun yaratıp ön plana çıkmaktadır. Bu nedenle kuru incirler gerek ülkemizde gerekse yurt dışında bu toksin yönünden de incelenmektedir. Bu amaçla gerçekleştirilen bazı çalışmaların sonuçları Çizelge 1.5'te verilmiştir.

Çizelge 1.5: Kuru incirlerde okratoksin A mikotoksininin incelendiği çalışmaların sonuçları

Araştırmacı (Yıl)	Örnek sayısı	Okratoksin A ile kontamine örnek sayısı	Kontaminasyon düzeyi (ppb)
Demir ve diğ. (1990)	282	16	iz-62.9
Zohri ve Abdel-Gawad (1993)	4	4	60-120
Çoksöyler ve diğ. (1996)	92	1	10
Doster et al. (1996)	15	6	0-9600
Anon. (1999)	20	belirtilmemiş	0.2-0.8
Anon. (2002a)	21	1	151

Çizelge 1.5'teki sonuçlardan yola çıkarak aflatoksin sorununun yanı sıra okratoksin A oluşumunun da kuru incir üretiminde ve ihracatında sorun olabileceği düşünülmektedir.

Ayrıca Aziz ve Moussa (2002) gerçekleştirdikleri çalışma sonucunda aflatoksin ve okratoksin A mikotoksinlerinden farklı olarak, inceledikleri 10 adet incir örneğinin birinin 60 ppb seviyesinde sitrinin mikotoksini içerdiğini bildirmişlerdir.

### **1.3.2. Farklı Mikotoksinlerin Bir Arada Bulunması (Co-occurrence)**

Gıdalarda ve yemlerde gerçekleşen küf gelişimi ve mikotoksin oluşumunun karmaşık ekolojisi, bu ürünlerde birden fazla çeşit mikotoksinin bir arada bulunması (Co-occurrence) ile sonuçlanabilmektedir. Farklı mikotoksinlerin bir arada bulunuşu gerek her bir mikotoksinin üretilen miktarları gerekse kontamine materyalin toksisitesi üzerine etkilidir (Miller, 1991).

Farklı mikotoksinleri eş zamanlı olarak bünyesinde bulunduran bir gıdanın tüketilmesi, vücuda mikotoksin bakımından bir kompleksin alımı olarak değerlendirilebilir. Bu noktada temel soru: insan sağlığı bakımından farklı mikotoksinleri bir arada almakla oluşacak tehlikenin, bu mikotoksinlerin ayrı ayrı alınmasıyla oluşacak tehlikelerden daha büyük olup olmadığıdır. Farklı mikotoksinlere eş zamanlı maruz kalmakla vücutta oluşabilecek potansiyel interaksiyonlar ve muhtemel sinerjik toksik etkiler halen bilinmemektedir. Ancak son dönemlerde gerçekleştirilen çalışmalarla, aynı cins veya familya tarafından üretilen ve benzer kimyasal yapılar arz eden mikotoksinlerin etki mekanizmalarının ve toksisite profillerinin benzer olabileceği ortaya konmuştur (Vargas et al.,2001; Speijer ve Speijer, 2004).

Birçok tarımsal ürünün, gıdanın ve hayvan yeminin birden fazla mikotoksin çeşidiyle eş zamanlı kontamine olması durumu ve boyutlarını yansıtan birçok bilimsel çalışma söz konusudur. Mısırdaki fumonisinler, aflatoksinler, zearalenon, nivalenol ve deoksinivalenolün bir arada bulunduğunu bildiren Ali et al. (1998), buğday ve mısırdaki okratoksin A ve sitrinin bir arada bulunduğunu bildiren Vrabcheva et al. (2000),

fıstıklarda siklopiazonik asit ve aflatoksinlerin bir arada bulunduğunu bildiren Pinto et al. (2001), mısır ve arpada aflatoksin B<sub>1</sub>, fumonisin B<sub>1</sub> ve okratoksin A'nın bir arada bulunduğunu bildiren Park et al. (2002) ve elmalarda patulin ve sitrininin bir arada bulunduğunu bildiren Martins et al. (2002)'in raporları bu çalışmalara örnek olarak verilebilir.

Şanlı ve diğ. (1990) kuru incirleri farklı mikotoksin türleriyle eş zamanlı kirlenmeleri yönünden incelemişlerdir. Ankara piyasası ve Aydın yöresinden sağlanan 54 adet kuru incir örneğini 4 çeşit aflatoksin (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>) ve okratoksin A mikotoksinleri yönünden incelemişlerdir. İncelenen örneklerin % 29.9'unun mikotoksinlerle kontamine olduğu belirlenmiştir. Kirlenme çeşitliliği yönünden yapılan değerlendirmelerde örneklerin 12'sinde tek çeşit (aflatoksin B<sub>1</sub> veya okratoksin A), 2'sinde iki çeşit (aflatoksin B<sub>1</sub> ve B<sub>2</sub>; aflatoksin B<sub>1</sub> ve okratoksin A), 2'sinde üç çeşit (aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> veya G<sub>2</sub>) ve 1 örnekte de 4 çeşit (aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>) mikotoksin varlığına rastlanmıştır. Yazarlara göre bu durum kuru incir meyvesinin *A. flavus* ve *A. parasiticus* küfleri için olduğu kadar diğer bazı mantar türleri için de uygun bir üreme ortamı oluşturabileceğini ortaya koymaktadır.

Hasan (2000), sağlam ve çürük elmaların mikoflorasını ve mikotoksin içeriğini saptamak amacıyla bir çalışma gerçekleştirmiştir. İncelenen 100 adet sağlam elma örneğinde *A. flavus*, *A. niger* ve *P. expansum* türlerine sırasıyla % 100, % 63 ve % 50 oranında rastlanırken incelenen aynı sayıdaki çürük elma örneğinde ise *A. niger*, *A. flavus*, *R. stolonifer* ve *P. expansum* türlerine sırasıyla % 83, % 67, % 58 ve % 53 oranında rastlanmıştır. Aynı çalışma kapsamında incelenen 30 adet elma örneğinde ise elmaların çürümüş ve çürümemiş bölgelerinde ayrı ayrı mikotoksin analizleri yapılmıştır. Patulin mikotoksinine çürük bölgelerde 500-1000 ppb seviyelerinde rastlanırken, çürümemiş bölgelerde 150-400 ppb seviyelerinde rastlanmıştır. Çürümemiş bölgelerde aflatoksine rastlanmazken çürük bölgelerde 110-350 ppb seviyelerinde toplam aflatoksin tespit edilmiştir. Gerek elma florasında aflatoksin ve patulin üreticisi küf türlerine eş zamanlı olarak rastlanması gerekse elmaların çürük kısmında aflatoksin ve patulin mikotoksinlerinin eş zamanlı olarak saptanması bu iki

mikotoksin türünün eş zamanlı olarak üretilebileceği doğal bir ortamın varlığını gözler önüne sermektedir.

Farklı tür mikotoksin üreticisi küf türleri de dahil birçok küf türünü florasında barındıran incir meyvesinin de çeşitli mikotoksin türlerinin üretilmesine uygun olabilecek ve böylece farklı tür mikotoksinleri bünyesinde barındırabilecek bir ortam olabileceği düşünülmektedir. Farklı tür mikotoksinlerin bir arada bulunduğu gıdaların insanlar tarafından tüketilmesiyle doğabilecek muhtemel sağlık sorunları düşünüldüğünde bu konunun etraflıca araştırılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

### **1.3.3. Küf ve Mikotoksin İndikatörü Olarak Ergosterol**

Toksin oluşumunun öncesinde bir gıdadaki toksik fungusların varlığı, o gıdanın insan sağlığı ve kalite açısından kabul edilebilirliğinin bir göstergesi olarak kullanılabilir. Gıdalardaki küflerin fark edilmesi, karşılaşılabilecek tehlikelerin erken bir belirteci olabilmektedir (Büyüksirin, 1993).

Bir gıdadaki küf varlığını ve aktivitesini araştırmak için geleneksel plak sayım metotları uzun zamandan beri kullanılmaktadır. Uzun zaman alıcı olmalarının yanı sıra bu metotlarla canlı olmayan misel parçacıklarının ve ısıl işlemden zarar görmüş küf yapılarının değerlendirilememesi nedeniyle son yıllarda bu amaç doğrultusunda bazı yeni kimyasal ve biyokimyasal metotlar geliştirilmiştir. Küflerin spesifik, yapısal bileşenlerinden biri olan ve teşhisi 1 saat gibi kısa bir sürede gerçekleşen ergosterol sterolünün ölçülmesi de bu yeni metotlardan birisidir (Gourama ve Bullerman, 1995 ve Saxena et al., 2001).

Ergosterol birçok fungus türünün hücre duvarının önemli bir bileşenidir. Bakterilerde, yüksek bitkilerde ve böceklerde ya bulunmaz ya da iz miktarda bulunur (Saxena et al., 2001 ve Kadakal et al., 2005). Bu da ergosterolün funguslar için spesifik bir hücre bileşeni olmasını sağlar. Ergosterol funguslardaki baskın sterol olmasına rağmen her fungusta da bulunmaz. Örneğin aquatic *phycomycetes*'ler ve pas fungusları bünyelerinde ergosterol içermezler (Gourama ve Bullerman, 1995)



Konu ile ilgili eski bir çalışmada üçü aflatoksin üreticisi 5 *A. flavus* ve biri aflatoksin üreticisi 3 *A. parasiticus* izolatının suni besiyerinde gelişmeleri sırasında ürettikleri steroller incelenmiştir. Test edilen tüm suşların kolesterol, 5,7-ergostadienol ve ergosterol sterollerini içerdiği bildirilmiştir (Rambo ve Bean, 1974).

İncelenen birçok gıdada küf varlığı ile o gıdanın ergosterol içeriği arasında bir ilişkinin mevcudiyeti birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Seitz et al., 1977; Seitz et al., 1979; Melcion et al., 1997; Taniwaki et al., 2001). Ergosterolün; aflatoksin B<sub>1</sub> (Gourama ve Bullerman, 1995), okratoksin A (Olsson et al., 2002; Varga et al., 2002), patulin (Kadalkal et al., 2005), zearalenon (Zill et al., 1988), DON (Lamper et al., 2000) gibi çeşitli mikotoksinlerle yüksek korelasyonlar gösterdiği de bildirilmiştir. Ayrıca ergosterolün aflatoksin B<sub>1</sub>'den önce tespit edilebildiğini bildiren Gourama ve Bullerman (1997) ve sterigmatosistin, okratoksin A ve sitrininden önce tespit edilebildiğini bildiren Abramson et al. (1999), çeşitli mikotoksinlerin sentezinde ergosterolün “erken uyarı habercisi” olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Zill et al. (1988), suni besiyeri ortamında *Fusarium graminearum* küfünün gelişimini ve ürettiği zearalenon mikotoksinini, sentezlenen ergosterol miktarını belirleyerek izlemişlerdir. İnkübasyonun ilk 2 haftasında küf misellerinin hızlı gelişimi nedeniyle ergosterol seviyesinin hızla arttığı gözlenmiştir. Bu hızlı artışı daha yavaş bir artış takip etmiştir ki bu da küfün durağan gelişme fazına girdiğinin bir göstergesidir. Adı geçen küfün mikotoksini olan zearalenon oluşumunun inkübasyonun birinci haftasının sonunda yavaş yavaş başladığı ve bu anda miselladaki ergosterol içeriğinin yaklaşık 50 mg/kg olduğu saptanmıştır. Gelişmenin ileriki safhalarında (inkübasyonun 14. gününden sonra) zearalenon üretiminde hızlı bir artış gözlenmiştir. Bu durumda diğer birçok ikincil metabolit gibi bu mikotoksinin de küf tarafından durağan gelişme fazında üretildiğini göstermektedir.

Pirincin substrat olarak kullanıldığı zenginleştirilmiş besiyeri ortamında 3 farklı konsantrasyonda aşılana 2 farklı küf suşunun 15 günlük inkübasyonu boyunca sentezledikleri ergosterol ve okratoksin A mikotoksini arasında herhangi bir ilişkinin var olup olmadığı araştırılmıştır. Gerek ergosterol gerekse okratoksin A ilk olarak

inkübasyonun üçüncü günü tespit edilmiştir. Maksimum konsantrasyonlarına inkübasyonun 7-10. günü ulaşmışlardır. Daha sonra 2 bileşiğin de konsantrasyonlarında bir azalma gözlenmiştir (Saxena et al., 2001).

Kadalkal et al. (2005) sağlam ve farklı oranlarda yüzey çürüklüğüne sahip elmalardan elde ettikleri ham meyve sularının patulin ve ergosterol içeriklerini incelemiştir. Çalışma sonunda ham meyve sularındaki ergosterol ve patulin miktarlarının artan çürüklük oranı ile birlikte artış gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca incelenen tüm örneklerde patulin ve ergosterolün doğrusal bir korelasyon içinde olduğu saptanmış ve ergosterol, patulinle birlikte, elma sularında yeni bir kalite parametresi olarak önerilmiştir.

Gourama ve Bullerman (1995), farklı konsantrasyonlarda küf sporlarıyla aşıladıkları pirinç tanelerindeki küf gelişimini ergosterol ve plak sayım yöntemiyle ölçmüşler ve bu parametreler ile üretilen aflatoksin miktarı arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmışlardır. Düşük seviyelerde küf sporuyla ( $<10^4$  spor/kap) aşıl原因 örneklerde canlı küf sporları, ergosterol ve aflatoksin B<sub>1</sub> inkübasyonun 3. gününe kadar saptanamamıştır. Hem aflatoksin B<sub>1</sub> hem de ergosterol inkübasyonun 6. günü civarında maksimum seviyelere ulaşmış ve inkübasyonun sonuna doğru bir azalış sergileyerek aynı eğilimi göstermişlerdir. Yüksek seviyelerde küf sporuyla ( $>10^4$  spor/kap) aşıl原因 örneklerde ise canlı küf sporları ve ergosterol, aflatoksin B<sub>1</sub>'den önce saptanmıştır. İnkübasyon periyodu boyunca ergosterol içeriği ile üretilen aflatoksin B<sub>1</sub> miktarı arasında kurulan böylece bir ilişkinin ergosterol ile aflatoksin G<sub>1</sub> arasında kurulamadığı bildirilmiştir.

Castro et al. (2002), 2 farklı su aktivitesi değerine (0.87 ve 0.95) sahip mısır tanesi örneklerini toksijenik *A. flavus* suşlarıyla aşılayıp 25 °C'de inkübasyona tabi tutmuşlardır. İnkübasyon boyunca saptanan maksimum ergosterol miktarının 0.87 ve 0.95 su aktivitesi değerleri için sırasıyla 12.1 ve 73.4 ppm olduğu bildirilmiştir. 2 su aktivitesi değeri için de ergosterol ve aflatoksin B<sub>1</sub> içerikleri aynı eğilimi göstermişlerdir. Ancak bu eğilim benzerliğinin ergosterol ile aflatoksin B<sub>2</sub> arasında söz konusu olmadığı bildirilmiştir.

Görüldüğü gibi, farklı gıdalarda gerçekleştirilen çalışmalarla küf varlığının bir indikatörü olan ergosterol, farklı mikotoksin türleriyle de ilişkilendirilmiştir. Elimizdeki literatür bilgilerine göre kuru incirlerde böyle bir ilişkilendirmeyi içeren bir çalışma bulunmamaktadır. Gerek ülkemizde gerekse dünyada aflatoksin kontaminasyon düzeyiyle zaman zaman aşılması güç problemler yaratan kuru incirlerde böyle bir çalışmanın bulunmaması bir eksikliklerdir. Ayrıca doğal hassas yapısı ve kuruma prosesi boyunca geçirdiği riskli periyotlar nedeniyle çok çeşitli küflerin istilasına uygun bir meyve olan incirde oluşması muhtemel diğer mikotoksinlerin de araştırılması gerekmektedir. Elma ve ürünleri başta olmak üzere bir çok meyve ve meyve ürününde problem oluşturduğu bilinen patulin üreticisi fungusların incirdeki küf florasında bulunduğu daha önce gerçekleştirilen flora tespiti çalışmalarıyla ortaya konmuştur. Bu durum, mikotoksin oluşumuna karşı hassas olan incir meyvesinde patulin oluşumu riskini gözler önüne sermektedir.

İhracat ve yurt içi tüketiminde zaman zaman gündeme gelen kuru incirlerde aflatoksin probleminin çözümü ülkemiz gündemi ve insan sağlığı açısından öncelikli gereksinimlerden biridir. İncirlerde aflatoksin probleminin çözümünde küf bulaşmasının ve mikotoksin üretiminin önlenmesi en mantıklı yol gibi görünse de pratikte pek de uygulanabilir nitelikte değildir. Ayrıca kuru incirlerde aflatoksin probleminin çözümünde yaygın olarak kullanılan UV lamba altında BGYF veren incirlerin ayıklanması yöntemi; gerek aflatoksinli incirleri aflatoksinsizmiş gibi sayıp insan sağlığı açısından tehlikeli, gerekse aflatoksinsiz incirleri aflatoksiniymiş gibi sayıp ülke ekonomisi açısından olumsuz sonuçlara yol açabilmektedir. Bu nedenle incirde, günümüzde uygulanan bu yöntem ek olarak daha önce birçok gıdada ve yemde denenmiş bazı kimyasal yöntemlerin incirlerde aflatoksinleri elemine etmek için kullanımının araştırılması yararlı olacaktır.

İşte bu düşüncelerle aşağıda sıralanan amaçlar doğrultusunda bu çalışma gerçekleştirilmiştir:

- Kuru incirlerde ergosterol düzeyinin tespitinin, küf gelişimine bağlı gerçekleşen aflatoksin oluşumunu ölçmek için uygun bir test olup olmadığını saptamak

- İncirin, farklı bir mikotoksin olan patulin üretilebilmesi için ne denli uygun bir ortam olduğunu araştırmak, patulin üreticisi küfler ile incirde esas sorun teşkil eden aflatoksin üreticisi küfler arasındaki etkileşim hakkında fikir sahibi olmak
- Farklı kimyasallar ve fiziksel yöntemlerin kombine etkisinin incirlerde aflatoksinlerin azaltılmasında ne derece etkin olduğunu araştırmaktır.

Ayrıca bu araştırma sonucunda elde edilecek verilerin sonuçlarına bağlı olarak ileride bu konuda yapılması muhtemel çeşitli araştırmalara ışık tutulabilecektir.

# İKİNCİ BÖLÜM

## MATERYAL VE METOT

### 2. MATERYAL VE METOT

Araştırma iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada farklı nitelikteki kuru incir örneklerinde aflatoksin, patulin ve ergosterol miktarları belirlenerek bu maddeler arasındaki ilişki ortaya konmaya çalışılmıştır. İkinci aşamada ise kuru incir ekstraktlarına farklı miktarlarda asit veya baz ilave edilerek farklı sıcaklıklarda farklı süreler ısıtma işlemi uygulanmasıyla aflatoksin miktarındaki değişim araştırılmıştır.

#### 2.1. Kuru İncir Örneklerinde Aflatoksin, Patulin ve Ergosterol Tayini

##### 2.1.1. Materyal

Araştırmanın tümünde, az çekirdekli ve ince kabuklu olması nedeniyle kurutmalık olarak ülkemizde tercih edilen “Sarılop” incir çeşitlerinin kuruları kullanılmıştır.

Kuru incir örnekleri incir işletmelerindeki uygulamaya paralel olarak 3 farklı kategoride temin edilmiş ve araştırma bu örnekler üzerinden yürütülmüştür.

I. Kategori (FLORESANS VEREN İNCİRLER): İncir işletmelerindeki aflatoksin kontrol çadırlarında UV lambalar altında BGYF vermesi üzerine aflatoksinli olduğu gerekçesiyle ayrılan ve işletmelerden alınıp imha edileceği depolara gönderilen kuru incirlerdir.

II. Kategori (HURDALIK İNCİRLER): Gelişmesi, kuruması veya işletmeye taşınması sırasında muhtemelen uğradığı fiziksel zararlanmalar sonucu çürük, çatlak, hasarlı vb. olduğu gerekçesiyle ayrılan, olumsuz görünüşünden dolayı bütün halinde doğrudan insan tüketimine uygun olmadığı düşünülen ve daha çok etil alkol ve pekmez üretiminde değerlendirilen düşük kaliteli incirlerdir.

III. Kategori (SOFRALIK İNCİRLER): İncir işletmelerinde yıkama işlemine kadarki kontrollerde BGYF verdiği veya hurdalık olduğu gerekçesiyle ayrılmayan ve insan tüketimine uygun olarak değerlendirilen iyi kalitedeki incirlerdir.

Şekil 2.1, 2.2 ve 2.3'te 3 farklı kategoride temin edilmiş incir örneklerinin fotoğrafları görülmektedir.

Kuru incir örnekleri, 2004 yılının Şubat ayı içinde Ege Bölgesi'nde kurulu 4 farklı incir işletmesinden her bir kategori için yaklaşık 5 kg olacak şekilde toplanmıştır. Örneklerin alındığı incir işletmelerinin biri Merkez/İzmir'de, ikisi Köşk/Aydın'da ve biri de Nazilli/Aydın'da bulunmaktadır.

### **2.1.2. Metot**

4 incir işletmesinden her kategori için alınan yaklaşık 5'er kg'lık örnekler kıyım makinesinden (Esmak Topaloğulları, İstanbul/Türkiye) ayrı ayrı geçirilmiştir. Bu kıyılmış incir kitleleri iyice yoğrulmuş ve böylece aranacak maddelerin (aflatoksin, patulin ve ergosterolün) kitle içinde homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Bu incir kitlelerinin yaklaşık 2 kg'lık kısmı aflatoksin, patulin ve ergosterol analizlerinde kullanılmak üzere derin dondurucuda (Uğur, 300L, Nazilli-Aydın/Türkiye) -18 °C'de muhafaza edilmiştir. Arta kalan incir kitlesinde ise incirin genel kalitesini ortaya koymak amacıyla suda çözünen kuru madde (briks), pH ve titre edilebilir asitlik tayinleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.1: UV lamba altında floresans veren incir örnekleri



Şekil 2.2: Hurdalık incir örnekleri



Şekil 2.3: Sofralık incir örnekleri

### **2.1.2.1. Genel Kalite Analizleri**

#### **2.1.2.1.1. Suda Çözünen Kuru Madde (Briks) Tayini**

Kıyılıp yoğrulmuş kuru incir örneklerinden 10 g kadar tartılıp 40 ml kadar suyla beraber laboratuvar karıştırıcısında (Waring, 34BL99, Connecticut U.S.A.) yüksek devirde 3 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra bu karışım kaba filtre kağıdından süzölmüş ve abbe refraktometre (Atago Co. Ltd., Nar-1T, Japan) ile suda çözöünen kuru madde miktarı belirlenmiştir (Cemeroğlu, 1992). Sonuçlar seyreltme faktörü dikkate alınarak verilmiştir.

#### **2.1.2.1.2. pH Tayini**

Kuru incir örneklerinde pH tayini potansiyometrik olarak pH metre (WTW, pH 330, Weilheim/Germany) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Cemeroğlu, 1992).

#### **2.1.2.1.3. Titre Edilebilir Asitlik Tayini**

25 g kıyılmış kuru incir kitlesi, 250 ml'lik ölçü balonuna aktarılmış, balon saf su ile hacmine tamamlanmış ve şiddetlice çalkalanmıştır. Daha sonra balon içeriği kaba filtre kağıdından süzölmüştür. Bu süzöntüden 25 ml alınarak 0.1 N'lik sodyum hidroksit (NaOH, Merck, Darmstad/Germany) çözeltisi ile titre edilmiştir. Titrasyon dönüm noktası potansiyometrik olarak belirlenmiş ve harcanan baz çözeltisi miktarı saptanıp sonuçlar susuz sitrik asit cinsinden (g/l) hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 1992).

#### **2.1.2.2. Kuru İncir Örneklerinde Aflatoksinlerin Tayini**

Kuru incir örneklerinde aflatoksin analizleri Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Denizli İl Kontrol Laboratuvarı kapsamındaki Mikotoksin Analiz Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.



### 2.1.2.2.1. Ekstraksiyon ve Temizleme

Analiz metodu olarak Stroka et al. (2000)'in önerdiği yöntem kullanılmıştır. Yöntem immuno affinite kolon (IAC) sağlayıcı firmanın direktifleri doğrultusunda modifiye edilmiştir (Anon., 2001). 25 g parçalanmış kuru incir örneği 400 ml'lik Stomacher aygıtı örnek torbasının içine tartılmış ve 5 g sodyum klorür (NaCl, Merck, Darmstad/Germany) ve 125 ml % 80'lik metanol (CH<sub>3</sub>OH, Merck, Darmstad/Germany):su (8:2) karışımı örnek torbasının içine eklenmiştir. Örnek torbası laboratuvar karıştırıcısının (Stomacher 400, England) içine yerleştirilmiş ve karıştırıcı yüksek devirde 120 saniye çalıştırılmıştır. Daha sonra torba içeriği filtre kağıdından (Whatman No:4, Maidstone/England) süzülmüştür. Süzüntüden 15 ml alınıp 30 ml fosfat tampon çözeltisi (phosphate buffer solution=PBS) (pH: 7.3) ile seyreltilmiştir. PBS; 8 g NaCl, 0.2 g potasyum klorür (KCl, Carlo Erba, Milano/Italy), 0.2 g potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Merck, Darmstad/Germany), 1.16 g disodyum hidrojen fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, susuz, Merck, Darmstad/Germany) ve 900 ml suyun karıştırılıp oluşan çözeltinin pH'sının NaOH ile 7.3'e ayarlanmasıyla elde edilmiştir.

Seyreltilmiş incir ekstraktından 15 ml alınıp oda sıcaklığında 3 ml/dakikalık sabit akış hızında aflatoksin immuno affinite kolondan (IAC) (AflaTest, Vicam Watertown, MA, U.S.A.) geçirilmiştir. Daha sonra IAC yaklaşık 20 ml bidistile su ile yıkanmış ve kuruluk sağlanması için şırınga ile birkaç defa hava geçirilmiştir. Kolonda tutulmuş aflatoksinler 1 ml HPLC (high pressure liquid chromatography=yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) saflığında metanol (Merck, Darmstad/Germany) ve 1 ml % 1'lik asetik asit (Merck, Darmstad/Germany) çözeltisi ile elue edilmiş ve bir şişede toplanmıştır.

### 2.1.2.2.2. HPLC Analizleri

İncirlerden ekstrakte edilmiş ve temizlenmiş örneklerin kantitatif analizleri HPLC cihazı (Agilent, 1100 series, U.S.A.) ve buna bağlı çalışan bir floresans dedektörde (Agilent, 1100 series, U.S.A., G1321A) gerçekleştirilmiştir. Sıvı kromatografisinde kullanılan sulu çözeltiler, aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'in floresans yayınımlarını oldukça düşürmektedirler. Bu olumsuzluğu gidermek amacıyla aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'in kimyasal

yapılarında değişiklik yapılarak floresans yayınımlarının dedektör tarafından kolayca teşhis edilebilmesi için türevlendirme işlemleri gerçekleştirilmiştir. HPLC kolonu ile floresans dedektör arasına yerleştirilen bir hücrede (Kobra Cell, Rhône Diagnostics Technologies Ltd., Lyon, France) elektrokimyasal olarak üretilen bromin ile aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>, daha yüksek floresans özellik gösteren türevleri B<sub>2a</sub> ve G<sub>2a</sub>'ya dönüştürülmüştür. Örnekler cihaza mikrosiringa (Hamilton, Bonaduz/Switzerland) ile (100 µl) enjekte edilmiştir.

Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> analizlerinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizlerdeki kromatografi koşulları Çizelge 2.1'de verilmiştir.

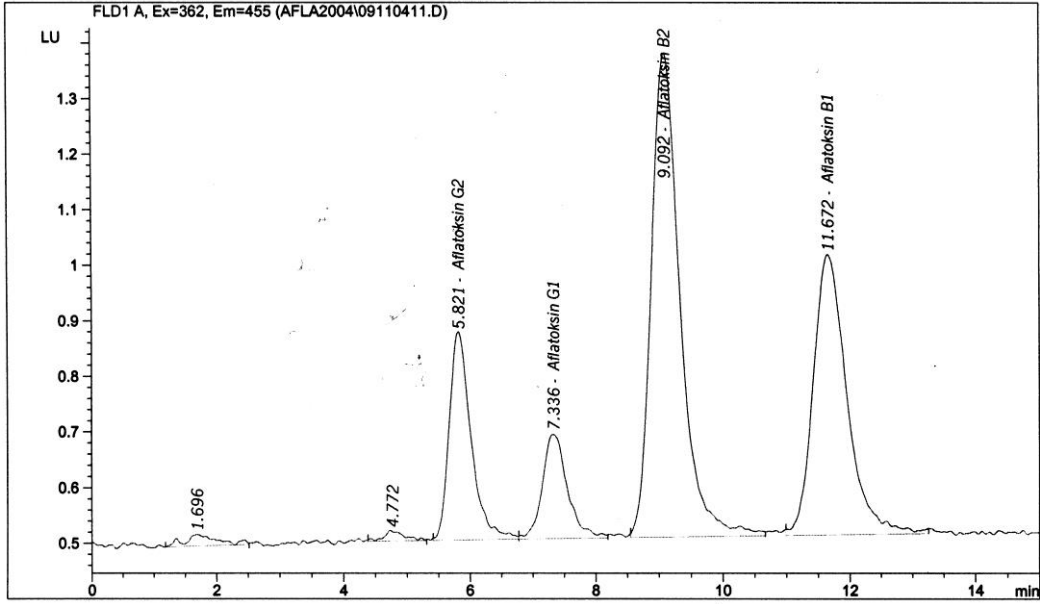
Çizelge 2.1: Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> analizlerinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizlerdeki kromatografi koşulları

HPLC	Agilent, 1100 series, U.S.A.
Kolon	ODS, partikül çapı: 2µm, 250*4.6 mm iç çap
Pompa	Quaternary pompa (Agilent 1100 series, G1311A)
Degasser	Vakum degasser (Agilent 1100 series, G1322A)
Kolon fırını	25 °C'de sabitlenmiş (Agilent 1100 series, Colcom, G1316A)
Dedektör	Floresans Dedektör (Agilent 1100 series, G1321A) (Tahrik=excitation dalga boyu 362 nm'ye, yayım=emission dalga boyu 455nm'ye ayarlanmış)
Mobil faz	İsokratik; metanol:su (45:55)
Akış hızı	1 ml/dakika

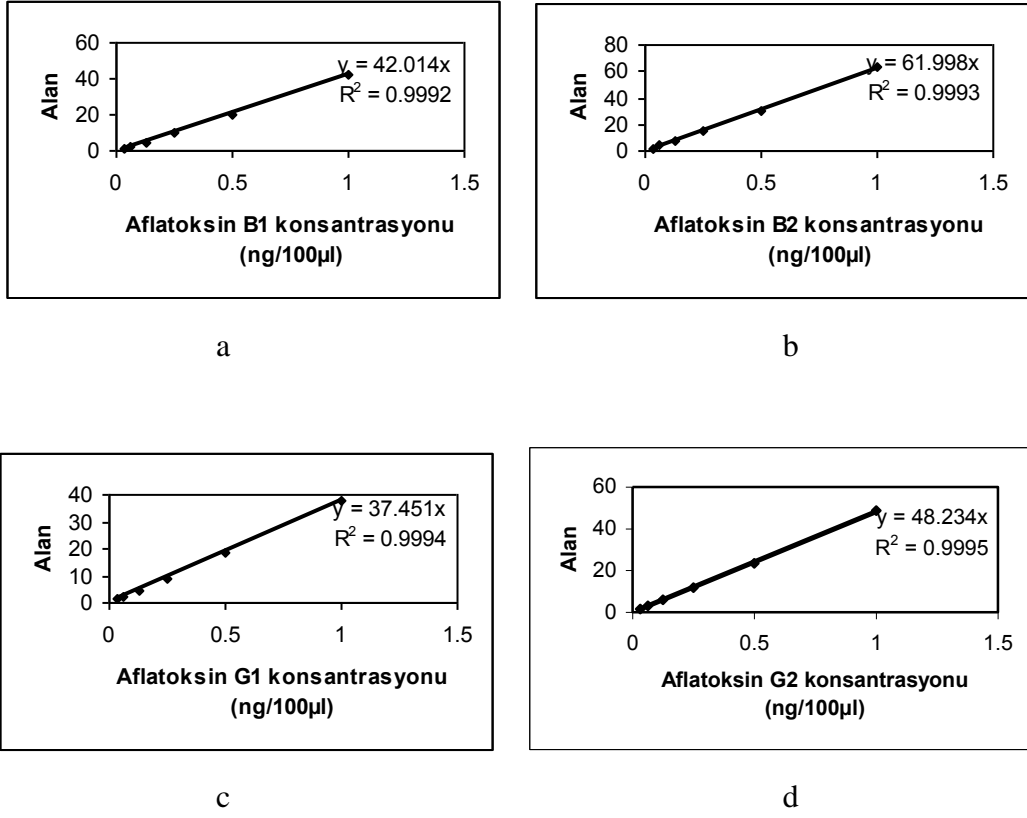
### 2.1.2.2.3. Aflatoksin Standart Çözeltilerinin Uygulanması

Aflatoksin standardı olarak mililitresinde her bir aflatoksin çeşidi (Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub>)'nden 250'şer nanogram içeren 6 ml metanol içerisinde çözülmüş toplam aflatoksin standart çözeltisi (r-Biopharm Rhone Ltd., Glasgow/Scotland) kullanılmıştır. Aflatoksinler sabit akış hızındaki geliş zamanları dikkate alınarak tespit edilmiştir.

Şekil 2.4'te toplam aflatoksin standart çözeltisinin oluşturduğu kromatogram görülmektedir. Şekilden görüldüğü üzere belirtilen kromatografi şartlarında aflatoksin G<sub>2</sub> 5-6. dakikalar arasında, aflatoksin G<sub>1</sub> 7-8. dakikalar arasında, aflatoksin B<sub>2</sub> 9-10. dakikalar arasında ve aflatoksin B<sub>1</sub> 11-12. dakikalar arasında pik vermektedir. Şekil 2.5'te ise aflatoksin standart çözeltileri ile çizilen kalibrasyon eğrileri görülmektedir.



Şekil 2.4: Toplam aflatoksin standart çözeltisine ait kromatogram



Şekil 2.5: Aflatoksin standart çözeltileri ile çizilen kalibrasyon eğrileri (a): Aflatoksin B<sub>1</sub>'in kalibrasyon eğrisi, (b): Aflatoksin B<sub>2</sub>'nin kalibrasyon eğrisi, (c): Aflatoksin G<sub>1</sub>'in kalibrasyon eğrisi, (d): Aflatoksin G<sub>2</sub>'nin kalibrasyon eğrisi

#### 2.1.2.2.4. Aflatoksin Ekstraktlarında Geri Alma Denemeleri

Aflatoksin ekstraksiyon yönteminin verimini belirlemek amacıyla her bir aflatoksin çeşidi için kontaminasyon düzeyi aynı yöntem ve cihaz kullanılarak önceden belirlenmiş 3 adet örneğe konsantrasyonları bilinen aflatoksin standart çözeltilerinden belirli miktarlarda ilave edilmiştir. Örnekler iyice karıştırılıp 2 saat kadar oda sıcaklığında bekletilmişlerdir. Daha sonra aynı yöntemle örneklerin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve HPLC cihazına enjeksiyonları yapılmıştır. İşlem sonunda ortalama geri kazanım oranları aflatoksin B<sub>1</sub> için % 83, B<sub>2</sub> için % 77, G<sub>1</sub> için % 83 ve G<sub>2</sub> için % 60 bulunmuştur. Kuru incir örneklerinin HPLC'de okutulmasıyla elde edilmiş veriler ortalama geri kazanım oranları dikkate alınarak hesaplanmış ve sonuçlar bu şekilde verilmiştir.

### **2.1.2.3. Kuru İncir Örneklerinde Patulin Tayini**

Kuru incir örneklerinde patulin analizleri Konfrut Gıda San. ve Tic. A.Ş.'ye ait Meyve Suyu Fabrikası'nın (Akkent, Çal/Denizli) Mikrobiyoloji ve Mikotoksin Analiz Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

#### **2.1.2.3.1. Ekstraksiyon**

Kuru incir örneklerinde patulin tayini HPLC kullanılarak, elma sularında kullanılması önerilen metoda göre gerçekleştirilmiştir (Anon., 1993). Yöntem HPLC kolonu sağlayıcı firmanın direktifleri doğrultusunda modifiye edilmiştir. Kıyılıp yoğrulmuş incir kitesinden 25 g tartılıp örnek torbasına konmuştur. Torbanın içine 25 ml etil asetat (Merck, Darmstad/Germany) ilave edilmiş ve torba laboratuvar karıştırıcısına (Stomacher) yerleştirilip karıştırıcı yüksek devirde 120 saniye çalıştırılmıştır. Daha sonra torba içeriği kaba filtre kağıdından süzölmüş ve süzöntü 100 ml'lik bir ayırma hunisine alınmıştır. Filtre kağıdının üzerinde kalan kuru incir parçaları aynı örnek torbasına geri alınıp 25 ml taze etil asetat ile tekrar ekstrakte edilmiş ve aynı filtre kağıdından süzölmüştür. Bu işlem her bir örnek için 3 kere tekrarlanmış ve en sonunda kalan incir parçaları atılmıştır. Ayırma hunisine süzölen filtratın üzerine 10 ml % 3'lük sodyum karbonat (Carlo Erba, Milano/Italy) çözeltisi ilave edilmiş ve 1 dakika çalkalanmıştır. Süre sonunda ayrılan fazlardan alttaki başka bir ayırma hunisine alınıp taze etil asetat ile yeniden ekstrakte edilmiş ve işlem sonunda alt faz atılmıştır. Elde edilen üst fazlar birleştirilmiş ve içine 5 damla glasiyel asetik asit (Merck, Darmstad/Germany) ilave edilerek 250 ml'lik bir evaporasyon balonunda toplanmıştır. Balon içeriği 40 °C'deki su banyosu içinde rotary evaporatörde (Buchi Rotavapor, R-114, Switzerland) 1-2 ml kalıncaya kadar vakum altında evapore edilmiştir. Balondaki kalıntı, her seferinde 1 ml etil asetat kullanarak birkaç sefer yıkanıp 10 ml hacmindeki, tüpe aktarılmıştır. Azot gazı altında kuruluğa kadar buharlaştırılan tüp 1.5 ml mobil faz [40 ml tetrahidrofuranın (Merck, Darmstad/Germany) 1000 ml'ye % 3'lük asetonitril (Merck, Darmstad/Germany) çözeltisi ile tamamlanmasıyla hazırlanmıştır.] ile yıkanmış ve oluşan çözeltiler eppendorf tüplerine alınmıştır. Örnekler HPLC'de analiz edilene dek -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

### 2.1.2.3.2. HPLC Analizleri

-18 °C’de muhafaza edilen patulin ekstraktları oda koşullarına bırakılmış ve sıcaklıkları oda sıcaklığına ulaşınca 0.45 µm çapında gözeneklere sahip polipropilen mikrofiltrelerden (Schleicher&Schuell, Dassel/Germany) başka bir eppendorf tüpüne süzülerek HPLC’ye (Shimadzu, Japan) mikroşırınga (Hamilton, Bonaduz/Switzerland) ile (20 µl) enjekte edilmiştir. Kullanılan HPLC cihazının özellikleri ve patulin analizi için kromatografi koşulları Çizelge 2.2’de verilmiştir.

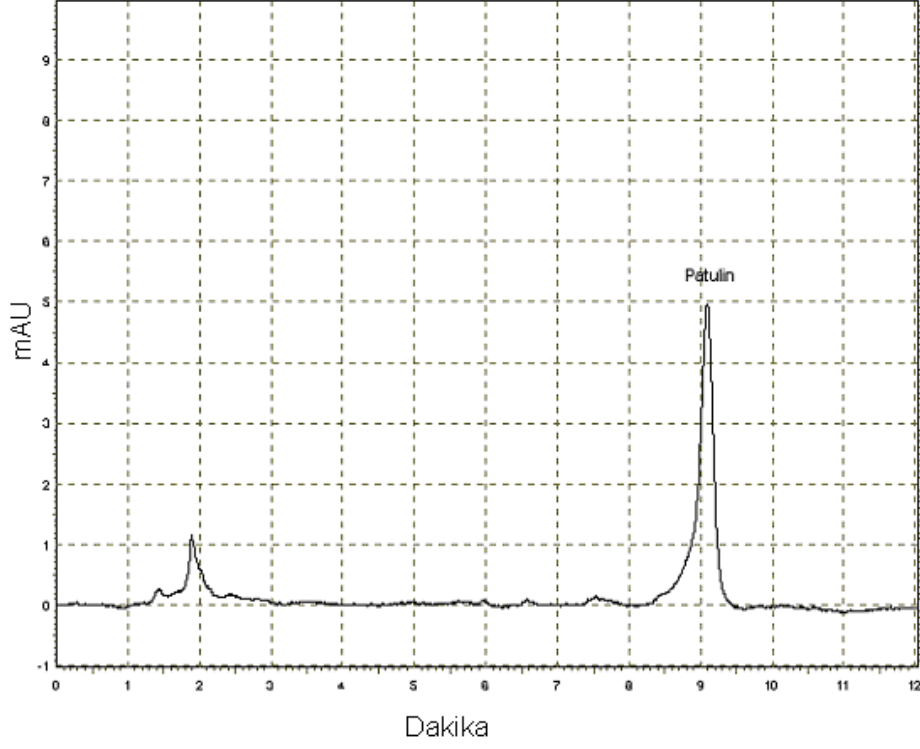
Çizelge 2.2: Patulin analizinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizdeki kromatografi koşulları

HPLC	Shimadzu, Japan
Kolon	Phenomenex, C18 100A, partikül çapı:5 µm, 250*4.6 mm iç çap
Pompa	Shimadzu LC (Liquid Chromatography)-10AT-VP
Degasser	Shimadzu DGU-14A
Dedektör	UV-VIS Shimadzu Photo Diode Array Detector (SPD-M 10A-VP) Ölçümün gerçekleştirildiği dalga boyu: 272 nm.
Sistem Kontroller	Shimadzu SCI-10A-VP
Mobil faz	İsokratik; 40 ml tetrahidrofuranın 1000 ml’ye % 3’lük asetonitril çözeltisi ile tamamlanmasıyla hazırlanmıştır.
Akış hızı	0.5 ml/dakika

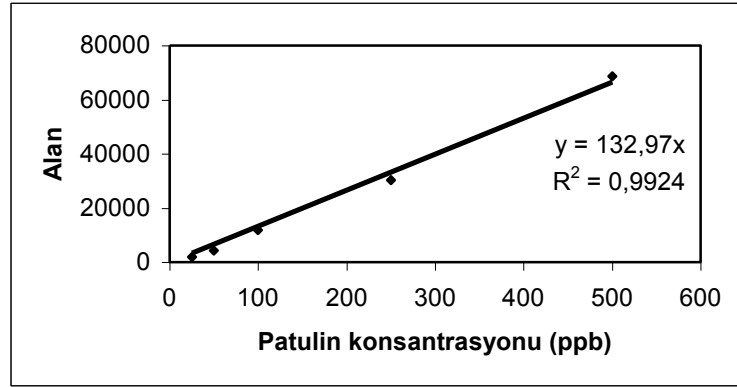
### 2.1.2.3.3. Patulin Standart Çözeltilerinin Uygulanması

Analizde 5 mg’lık patulin standardı (Sigma, P1639) kullanılmıştır. Standarttan mobil faz ile hazırlanan 25, 50, 100, 250 ve 500 ppb’lik çözeltiler sırasıyla cihaza enjekte edilmiş ve standart kalibrasyon eğrisi çizilmiştir ( $r^2=0.9924$ ,  $y=132.97x$ ). Şekil 2.6’da patulin standart çözeltisinin (500 ppb) oluşturduğu kromatogram görülmektedir. Şekilden görüldüğü üzere patulin piki belirtilen kromatografi şartlarında 9. dakikanın

başında gelmektedir. Şekil 2.7’de ise patulin standart çözeltileri ile çizilen kalibrasyon eğrisi görülmektedir.



Şekil 2.6: Patulin standart çözeltilisine (500 ppb) ait kromatogram



Şekil 2.7: Patulin standart çözeltileri ile çizilen kalibrasyon eğrisi

#### **2.1.2.3.4. Patulin Ekstraktlarında Geri Alma Denemeleri**

Örneklerden patulinin ne derece verimli bir şekilde ekstrakte edildiğini belirlemek için, aynı yöntem ve cihaz kullanılarak kontaminasyon düzeyi önceden belirlenmiş 3 adet örneğe konsantrasyonları bilinen patulin standart çözeltilerinden belirli miktarlarda ilave edilmiştir. Örnekler iyice karıştırılıp 2 saat kadar oda sıcaklığında bekletilmişlerdir. Daha sonra aynı yöntemle örneklerin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve HPLC cihazına enjeksiyonları yapılmıştır. İşlem sonunda ortalama geri kazanım oranı % 83 bulunmuştur. Kuru incir örneklerinin HPLC’de okutulmasıyla elde edilmiş veriler bu ortalama geri kazanım oranı dikkate alınarak hesaplanmış ve sonuçlar bu şekilde verilmiştir.

#### **2.1.2.4. Kuru İncir Örneklerinde Ergosterol Tayini**

Kuru incir örneklerinde ergosterol analizleri Konfrut Gıda San. ve Tic. A.Ş.’ye ait Meyve Suyu Fabrikası’nın (Akkent, Çal/Denizli) Mikrobiyoloji ve Mikotoksin Analiz Laboratuvarı’nda gerçekleştirilmiştir.

##### **2.1.2.4.1. Ekstraksiyon**

Ergosterol ekstraksiyonu Ghiretti et al. (1995)’in önerdiği yöntemine göre yapılmıştır. Kırılıp yoğrulmuş incir kitlesinden 10 g tartılıp 500 ml’lik ekstraksiyon balonuna aktarılmıştır. Aktarma işleminde 50 ml saf su kullanılmıştır. Daha sonra üzerine 50 ml etanol (Merck, Darmstad/Germany), 75 ml metanol (Merck, Darmstad/Germany) ve 10 g pellet halindeki potasyum hidroksit (KOH, Merck, Darmstad/Germany) ilave edilmiş ve geri soğutucuda 45 dakika ekstraksiyon uygulanmıştır. Şişe içeriği soğuduktan sonra kaba filtre kağıdından süzölmüş ve süzöntü bir erlenmayere alınmıştır. Geri soğutucu balonu 25 ml metanol ile çalkalanmış ve aynı filtre kağıdından süzölmüştür. Süzöntü 500 ml’lik ayırma hunisine aktarılmıştır. Ayırma hunisine 50 ml n-heksan (Merck, Darmstad/Germany) ilave edildikten sonra 1 dakika süre ile çalkalanmıştır. Üzerine tekrar 40 ml n-heksan ilave edilmiş ve 1 dakika daha çalkalanmıştır. İki fazın ayrılması için yaklaşık 10 dakika beklendikten sonra alt faz bir erlene alınmış üst faz ise susuz



sodyum sülfat üzerinden 250 ml'lik evaporasyon balonuna süzölmüştür. Erlene alınmış alt faz aynı ayırma hunisine aktarılarak 50 ml n-heksan ile tekrar ekstraksiyona tabi tutulmuştur. İki fazın ayrılmasından sonra alt faz atılmış, üst faz ise yine sodyum sülfat üzerinden süzölmüştür. Birleştirilen ekstraktlar balonda yaklaşık 2 ml kalıncaya kadar rotary evaporatörde 40 °C'lik su banyosunda evapore edilmiştir. Daha sonra balon her seferinde 1'er ml n-heksan ile birkaç kez çalkalanarak 10 ml'lik test tüpüne aktarılmıştır. Tüp içeriği azot gazı altında evapore edilmiş, daha sonra 5 ml'lik n-heksan içinde çözüldürölmüştür. Bu çözeltilinin 1.5 ml'si HPLC'ye uygulanmak üzere eppendorf tüplerine alınıp derin dondurucuda -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

#### 2.1.2.4.2. HPLC Analizleri

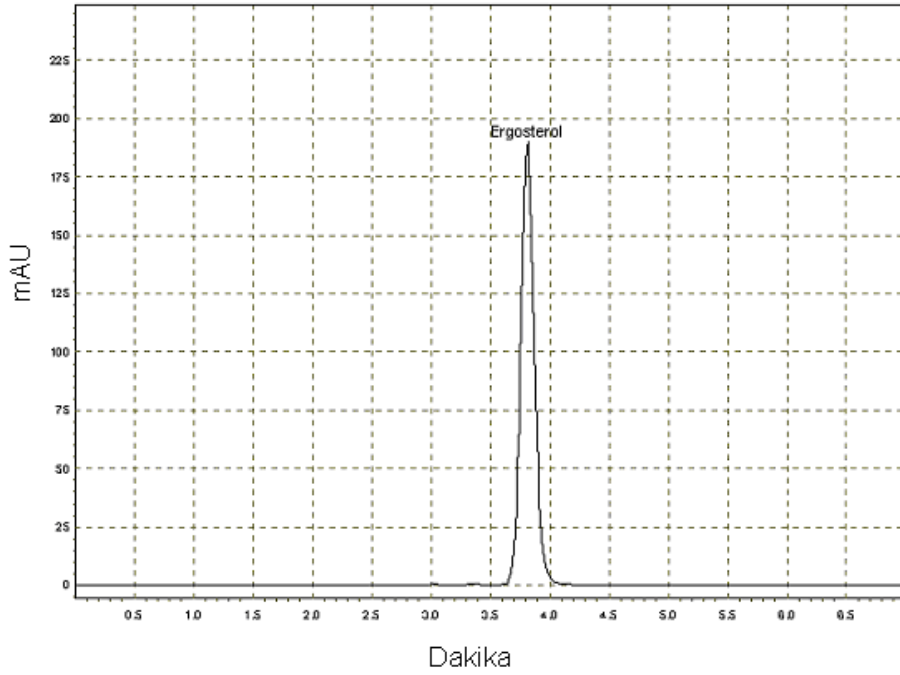
-18 °C'de muhafaza edilen ergosterol ekstraktları oda koşullarına bırakılmış ve sıcaklıkları oda sıcaklığına ulaşınca 0.45 µm çapında gözeneklere sahip polipropilen mikrofiltrelerden başka bir eppendorf tüpüne süzölerek HPLC'ye (Shimadzu, Japan) mikroşırınga ile (20 µl) enjekte edilmiştir. Kullanılan HPLC cihazının özellikleri ve ergosterol analizi için kromatografi koşulları Çizelge 2.3'te verilmiştir

Çizelge 2.3: Ergosterol analizinin gerçekleştirildiği HPLC cihazının özellikleri ve analizdeki kromatografi koşulları

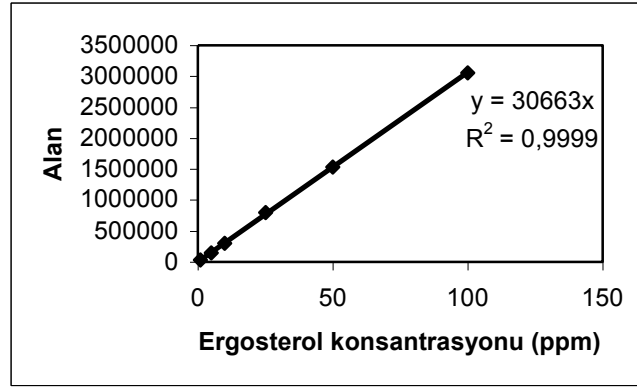
HPLC	Shimadzu, Japan
Kolon	Macherey-Nagel, Nucleosil 100-10 C18, partikül çapı:5 µm, 250*4.6 mm iç çap
Pompa	Shimadzu LC (Liquid Chromatography)-10AT-VP
Degasser	Shimadzu DGU-14A
Dedektör	UV-VIS Shimadzu Photo Diode Array Detector (SPD-M 10A-VP) Ölçümün gerçekleştirildiği dalga boyu: 282 nm.
Sistem Kontroller	Shimadzu SCI-10A-VP
Mobil faz	İsokratik; n-hekzan:isoamil alkol (95:5)
Akış hızı	2 ml/dakika

### 2.1.2.4.3. Ergosterol Standart Çözeltilerinin Uygulanması

Ergosterol analizlerinde standart olarak 5, 7, 22-ergostatrien-3 $\beta$ -ol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Sigma E-6510, Traufkichen/Germany) kullanılmıştır. Standart maddeden mobil faz içinde hazırlanan 1, 5, 10, 25, 50, 100 ppm'lik çözeltiler cihaza enjekte edilerek standart kalibrasyon eğrisi çizilmiştir ( $r^2=0.9999$ ,  $y=30663x$ ). Şekil 2.8'de ergosterol standart çözeltisinin (50 ppm) oluşturduğu kromatogram görülmektedir. Şekilden görüldüğü üzere ergosterol piki belirtilen kromatografi şartlarında 3.5-4.0 dakikalar arasında gelmektedir. Şekil 2.9'da ise ergosterol standart çözeltileri ile çizilen kalibrasyon eğrisi görülmektedir.



Şekil 2.8: Ergosterol standart çözeltisine (50 ppm) ait kromatogram



Şekil 2.9: Ergosterol standart çözeltileri ile çizilen kalibrasyon eğrisi

#### 2.1.2.4.4. Ergosterol Ekstraktlarında Geri Alma Denemeleri

Ergosterol ekstraksiyon yönteminin verimini belirlemek amacıyla, aynı yöntem ve cihaz kullanılarak kontaminasyon düzeyi önceden belirlenmiş 3 adet örneğe konsantrasyonları bilinen ergosterol standart çözeltilerinden belirli miktarlarda ilave edilmiştir. Örnekler iyice karıştırılıp 2 saat kadar oda sıcaklığında bekletilmişlerdir. Daha sonra aynı yöntemle örneklerin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve HPLC cihazına enjeksiyonları yapılmıştır. İşlem sonunda ortalama geri kazanım oranı % 81 bulunmuştur. Kuru incir örneklerinin HPLC’de okutulmasıyla elde edilmiş veriler ortalama geri kazanım oranı dikkate alınarak hesaplanmış ve sonuçlar bu şekilde verilmiştir.

#### 2.1.2.5. İstatistik Analizleri

Kuru incirlerin toplam aflatoksin, patulin ve ergosterol seviyeleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için Minitab-Mstat bilgisayar programı (Freed, 1991) kullanılmıştır. Farklı nitelikteki kuru incir örneklerinin toplam aflatoksin, patulin ve ergosterol içerikleri arasında regresyon analizleri gerçekleştirilmiştir.

## **2.2. Kuru İncirlerde Mevcut Aflatoksinlerin Parçalanma Düzeyinin Belirlenmesi**

### **2.2.1. Materyal**

Çalışmanın bu kısmında materyal olarak işletmelerde UV ışık altında BGYF verdiği için aflatoksinli olduğu gerekçesiyle ayrılan kuru incirler kullanılmıştır. Bu amaçla, farklı işletmelerden gelen muhtemelen aflatoksinle kontamine incirlerin toplandığı ve Ege Bölgesi'nden ihracat yapan firmaların oluşturduğu birliğe ait bir depodan farklı firmalara ait yaklaşık 20 kg kuru incir 2004'ün Şubat ayı içinde alınmıştır.

### **2.2.2. Metot**

#### **2.2.2.1. Kuru incirlerin degradasyon çalışmalarına hazırlanmaları**

Aflatoksin degradasyonu çalışmalarını gerçekleştirmek amacıyla, BGYF veren incirlerin toplandığı depodan alınan ve farklı firmalara ait olduğu bilinen yaklaşık 20 kg kuru incirin tümü kıyma makinesinden geçirilmiştir. Bu kıyılmış incir kitlesi iyice yoğrulmuştur. Sonra 400 ml'lik örnek torbalarına 100'er gramlık porsiyonlar halinde konmuştur. Bu incir kitlelerini 1'e 3 oranında seyreltmek amacıyla her bir 100 g'lık porsiyon için 300 ml saf su örnek torbasının içine konmuştur. Örnek torbası laboratuvar karıştırıcısının (Stomacher) içine yerleştirilmiş ve karıştırıcı yüksek devirde 120 saniye çalıştırılmıştır. Daha sonra örnek torbası içeriği kaba filtre kağıdından süzülmüştür. Her porsiyon için elde edilen süzüntüler bir bidonda biriktirilmiş ve degradasyon çalışmaları bu süzülmüş incir ekstraktlarında gerçekleştirilmiştir.

#### **2.2.2.2. İncir ekstraktlarına uygulanan asitlendirme veya alkalileştirme ve ısı işlemler**

Sulandırılıp süzülen kuru incir ekstraktları % 0.5 ve % 1 oranında sitrik asit ilavesiyle asitlendirilmiş veya 5N'lik NaOH çözeltisi kullanılarak alkalileştirilmiştir.

Daha sonra farklı süre ve sıcaklıklarda ısıtılma uygulanan bu ekstraktlarda aflatoksin analizleri gerçekleştirilmiş ve aflatoksinlerin parçalanma düzeyleri belirlenmiştir.

İncir ekstraktlarının asitlendirilmesinde sitrik asit (Merck, Darmstadt/Germany) kullanılmıştır. Terazide (Sartorius AG, Göttingen/Germany) % 0.5 sitrik asit ilavesi için 1 g ve %1 sitrik asit ilavesi için 2 g sitrik asit tartılmış ve bu tartılan sitrik asitler oda sıcaklığındaki 200 ml incir ekstraktı içinde çözündürülmüştür. Bu işlemler sonunda incir ekstraktlarının pH'larının % 0.5 sitrik asit ilavesiyle 3.5'e ve % 1 sitrik asit ilavesiyle 3.1'e düştüğü pH metre ile belirlenmiştir. Daha sonra rotary evaporatörde uygulanacak ısıtılma için şişe içeriği bir evaporasyon balonuna boşaltılmıştır.

İncir ekstraktlarının alkalileştirilmesinde ise 5 N'lik NaOH çözeltisi kullanılmıştır. Bir beher içindeki 200 ml incir ekstraktı manyetik karıştırıcı ile sürekli karıştırılırken üzerine 5 N'lik NaOH çözeltisinden damla damla ilave edilmiştir. Bu sırada incir ekstraktının pH'sı pH metre ile sürekli kontrol edilmiştir. İncir ekstraktlarının pH'ları 6, 8 ve 10'a ayarlanmıştır. Daha sonra beher içeriği bir evaporasyon balonuna boşaltılmıştır.

Asitleri ilave edilen veya pH'ları ayarlanan ekstraktlara, rotary evaporatörde sıcaklığı 50, 75 ve 100 °C'ye ayarlanmış su banyosu içinde 1 ve 2 saatlik ısıtılma işlemleri uygulanmıştır. Isıtılma işlemi görmüş incir ekstraktları derin dondurucuda -18 °C'de analiz edilene dek muhafaza edilmiştir.

### **2.2.2.3.İşlem görmüş incir ekstraktlarında aflatoksin analizleri**

Derin dondurucudan çıkarılan incir ekstraktları oda sıcaklığında bırakılarak çözündürülmüştür. 100 g incir ekstraktı (25 g kuru incire tekabül eder) 50 ml metanol ile karıştırılmış ve filtre kağıdından (Whatman No:4) süzümüştür.

Bu aşamadan sonra BÖLÜM 2.1.2.2'de anlatıldığı üzere PBS ile seyreltme, IAK'da temizleme ve HPLC analizleri gerçekleştirilerek asitlendirme veya alkalileştirme ve ısıtılma işlemi uygulanmış incir ekstraktlarının aflatoksin içerikleri belirlenmiştir.

# ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 3.1. Kuru İncir Örneklerinin Aflatoksin, Patulin ve Ergosterol İçerikleri

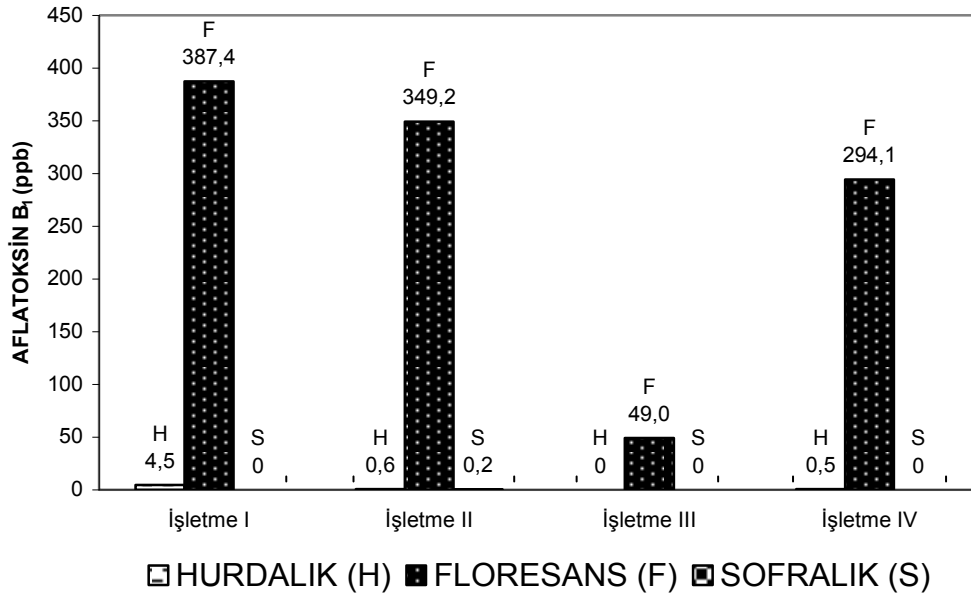
Araştırmanın bu bölümünde, incirlerin toksin içeriğine ışık tutmak amacıyla 4 farklı işletmeden alınan ve niteliklerinden dolayı 3 farklı kategoriye ayrılan (floresans veren, hurdalık ve sofralık) kuru incir örneklerinin aflatoksin, patulin ve ergosterol içerikleri tespit edilmiştir. Örnekler, biri Merkez/İzmir’de, ikisi Köşk/Aydın’da ve biri de Nazilli/Aydın’da bulunan işletmelerden alınmıştır. İzmir Merkez’de bulunan incir işletmesi “İşletme I”, Aydın Köşk’te bulunan incir işletmeleri “İşletme II” ve “İşletme III”, Aydın Nazilli’de bulunan incir işletmesi ise “İşletme IV” şeklinde kodlanmış ve sonuçlar bu kodlarla verilmiştir.

İncelenen farklı nitelikteki kuru incir örneklerinin suda çözünen kuru madde (briks), pH ve titrasyon asitliği değerleri Çizelge 3.1’de verilmiştir. Briks değerleri floresans veren incirler için 67.5-73.8, hurdalık incirler için 65-72.5 ve sofralık incirler için 67.5-73.8 aralığında bulunmuştur. Kuru incirlerde pH metre ile potansiyometrik olarak saptanan pH değerlerinin ise floresans verenlerde 4.30-4.50, hurdalıklarda 3.86-4.34, sofralıklarda ise 4.14-4.34 aralığında olduğu saptanmıştır. Titrasyon asitliği değerlerine bakıldığında sofralık incirlerde saptanan değerlerin hurdalık ve floresans veren incirlerde saptanan değerlere göre daha düşük olduğu göze çarpmaktadır. Titrasyon asitliği değerleri floresans veren incirlerde 0.86-1.06, hurdalık incirlerde 0.96-1.22, sofralık incirlerde ise 0.77-0.86 g sitrik asit (susuz)/100 g olarak bulunmuştur.

Çizelge 3.1: Kuru incir örneklerinde suda çözünen kuru madde (briks), pH ve titrasyon asitliği değerleri

		Suda çözünen kuru madde (Briks) (%)	pH	Titrasyon asitliği (% susuz sitrik asit cinsinden)
FLORESANS VEREN İNCİRLER	İşletme I	67.5	4.30	1.02
	İşletme II	67.5	4.37	1.06
	İşletme III	70	4.50	0.86
	İşletme IV	73.8	4.31	0.99
HURDALIK İNCİRLER	İşletme I	72.5	4.34	0.96
	İşletme II	72.5	4.23	1.12
	İşletme III	65	3.95	1.22
	İşletme IV	72.5	3.86	1.29
SOFRALIK İNCİRLER	İşletme I	70	4.20	0.83
	İşletme II	67.5	4.34	0.77
	İşletme III	67.5	4.14	0.86
	İşletme IV	73.8	4.34	0.83

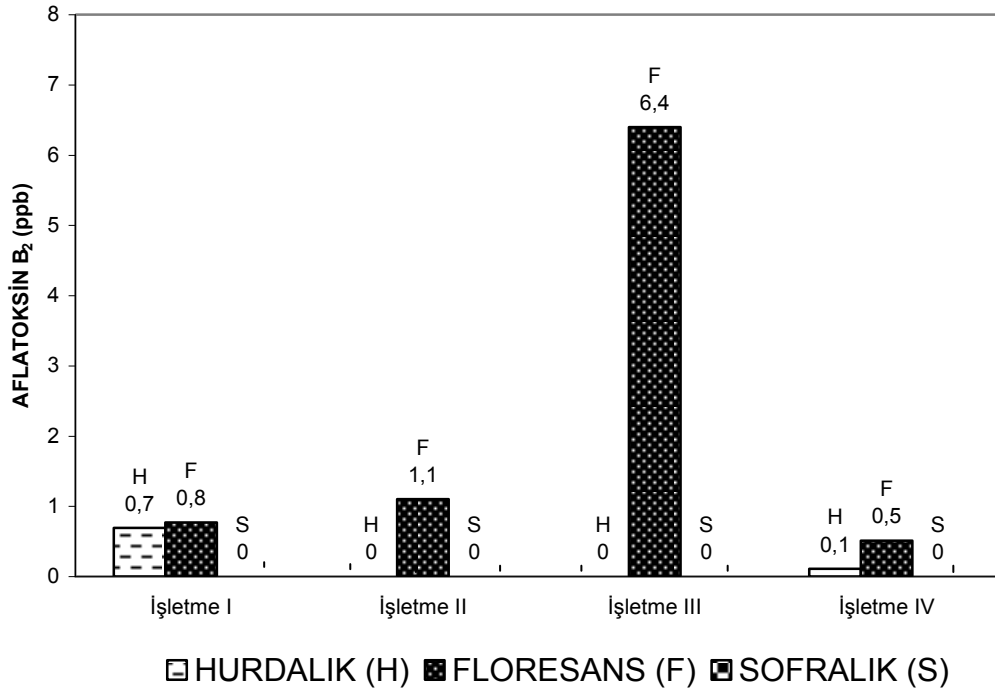
Farklı nitelikteki kuru incirlerde saptanan aflatoksin B<sub>1</sub> miktarları Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Aflatoksin B<sub>1</sub> düzeylerinin; floresans gösteren incirlerde 49.0-387.4 ppb, hurdalık incirlerde 0-4.5 ppb ve sofralık incirlerde 0-0.2 ppb aralığında olduğu saptanmıştır. 4 işletmenin 3’ünden alınan floresanslı incirlerin aflatoksin B<sub>1</sub> içeriği 250 ppb’den yüksek bulunmuş, bir işletmenin (İşletme III’ün) incirlerinde aynı toksinin düzeyi 49.0 ppb olarak saptanmıştır. Hurdalık incirler için aflatoksin B<sub>1</sub> konsantrasyonu bir işletmeden (İşletme I’den) alınan örneklerde 1 ppb’den yüksek (4.5 ppb), diğer 3 işletmeden alınan örneklerde 1 ppb’den düşük bulunmuştur. 4 işletmenin 3’ünden alınan sofralık incirlerde tespit edilebilir düzeyin (0.1 ppb’nin) üzerinde aflatoksin B<sub>1</sub> saptanmazken sadece bir işletmeden (İşletme II’den) alınan sofralık incirlerin aflatoksin B<sub>1</sub> ile kontaminasyon düzeyi 0.2 ppb olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.1: Kuru incir örneklerinde saptanan aflatoksin B<sub>1</sub> miktarları

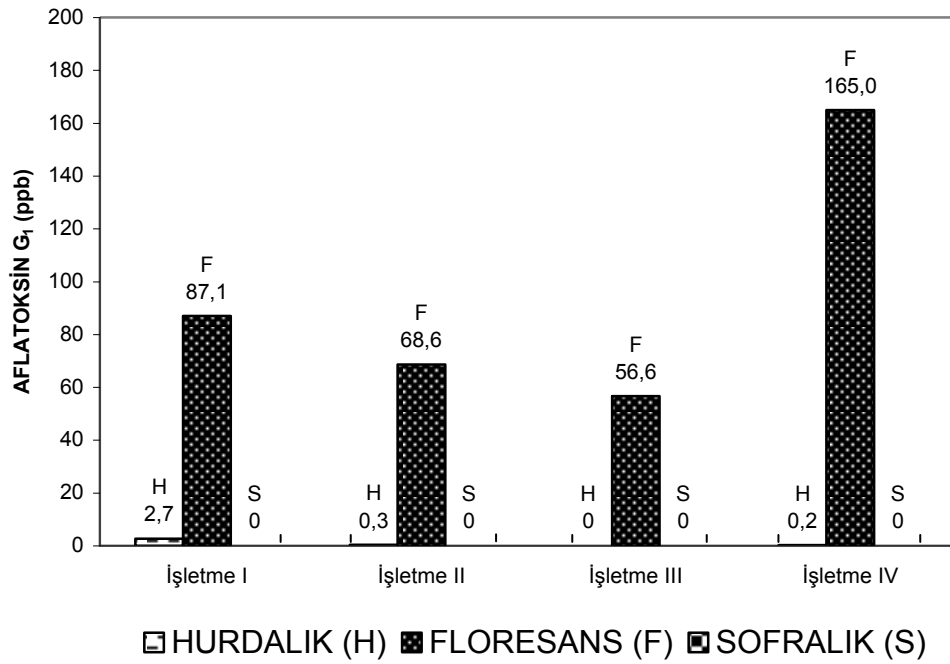


4 farklı işletmeden alınan kuru incir örneklerinde saptanan aflatoksin B<sub>2</sub> miktarları Şekil 3.2’de görülmektedir. İncelenen floresanslı incirlerin 0.5-6.4 ppb aralığında değişen düzeylerde aflatoksin B<sub>2</sub> ile kontamine olduğu saptanmıştır. Bu örneklerin birinde (İşletme III’de) rastlanan düzey (6.4 ppb) diğer örneklerde rastlanan düzeylerden oldukça yüksektir. 4 işletmenin ikisinden alınan hurdalık incir örneklerinde tespit edilebilir limitin üzerinde aflatoksin B<sub>2</sub> kontaminasyonu saptanmazken diğer 2 örneğin ise 0.1 ppb ve 0.7 ppb düzeylerinde aflatoksin B<sub>2</sub> ile kontamine olduğu bulunmuştur. İşletmelerden alınan sofralık incir örneklerinin hiçbirinin aflatoksin B<sub>2</sub> ile kontamine olmadığı saptanmıştır.



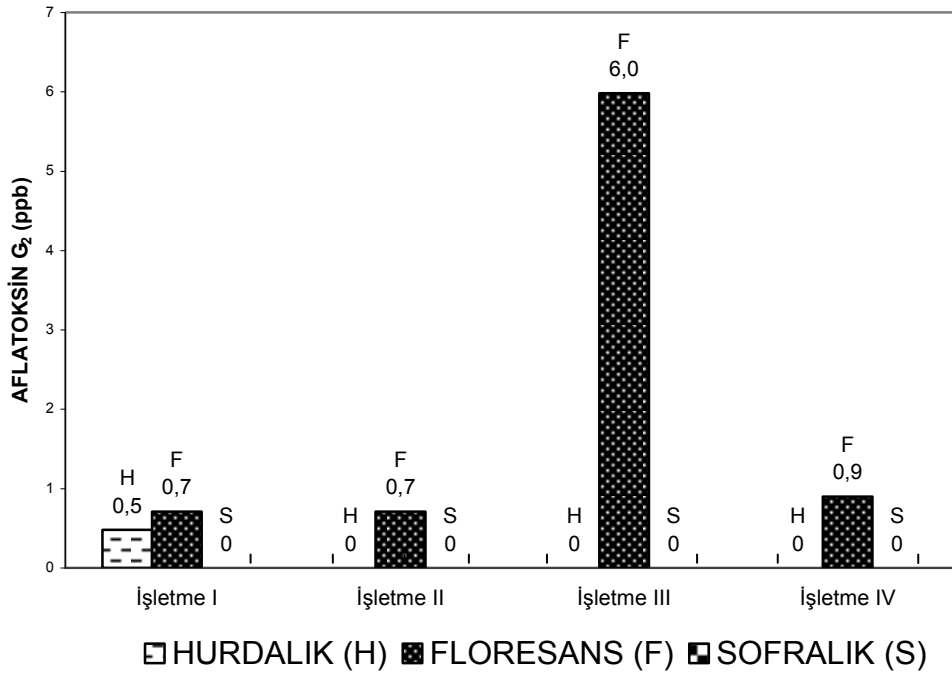
Şekil 3.2: Kuru incir örneklerinde saptanan aflatoksin B<sub>2</sub> miktarları

Şekil 3.3’de kuru incir örneklerinin aflatoksin G<sub>1</sub> ile kontaminasyon düzeyleri görülmektedir. Floresans gösteren incirlerde aflatoksin G<sub>1</sub> düzeylerinin 56.6-165.0 ppb aralığında değiştiği saptanmıştır. Bu örnekler arasından biri (İşletme IV’ten alınan) yüksek aflatoksin G<sub>1</sub> konsantrasyonuyla (165 ppb) öne çıkmıştır. Aflatoksin G<sub>1</sub> hurdalık incir örneklerinin 3’ünde saptanırken birinde ise saptanmamıştır. Sofralık incir örneklerinin hiçbirinde aflatoksin G<sub>1</sub> tespit edilebilir limitin üzerinde bulunmamıştır.



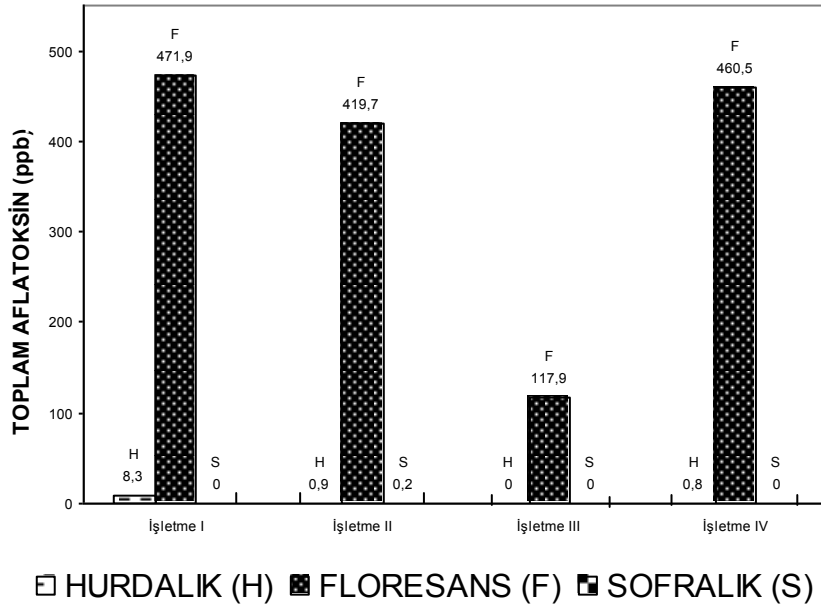
Şekil 3.3: Kuru incir örneklerinde saptanan aflatoksin G<sub>1</sub> miktarları

Şekil 3.4'te ise farklı nitelikteki kuru incir örneklerinde saptanan aflatoksin G<sub>2</sub> miktarları verilmiştir. Aflatoksin G<sub>2</sub> düzeylerinin, floresans veren incir örneklerinde 0.7-6.0 ppb aralığında değiştiği saptanmıştır. Bu örneklerin birinde (İşletme III'de) rastlanan düzeyin (6.0 ppb) diğer örneklerde rastlanan düzeylerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hurdalık incir örneklerinin sadece birinde (İşletme I'de) 0.5 ppb düzeyinde aflatoksin G<sub>2</sub> saptanırken diğer işletmelere ait hurdalık incir örneklerinin ve dört işletmeye ait sofralık incir örneklerinin hiçbirinin tespit edilebilir limitin üzerinde aflatoksin G<sub>2</sub> içermediği saptanmıştır.



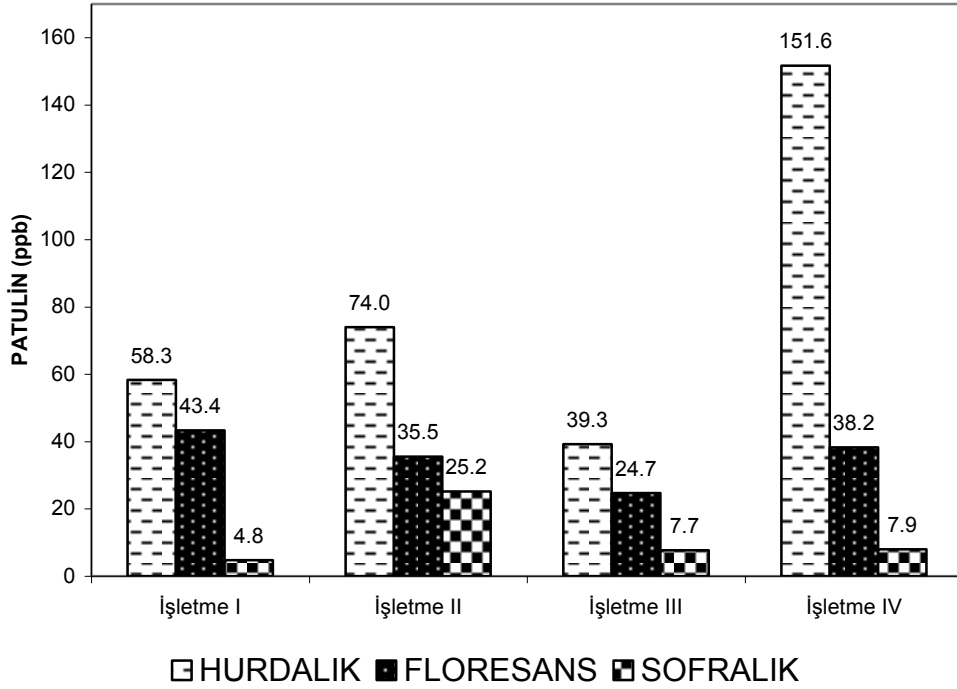
Şekil 3.4: Kuru incir örneklerinde saptanan aflatoksin G<sub>2</sub> miktarları

İşletmelerden alınan farklı nitelikteki kuru incir örneklerinin, incelenen 4 farklı çeşit aflatoksinin (aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>'nin) miktarının toplamı olan toplam aflatoksin düzeyi ile kontaminasyon durumu Şekil 3.5'te görülmektedir. Toplam aflatoksin düzeyleri; floresans gösteren kuru incir örneklerinde 117.9-471.9 ppb, hurdalık incir örneklerinde 0-8.3 ppb ve sofralık incir örneklerinde 0-0.2 ppb aralığında bulunmuştur.



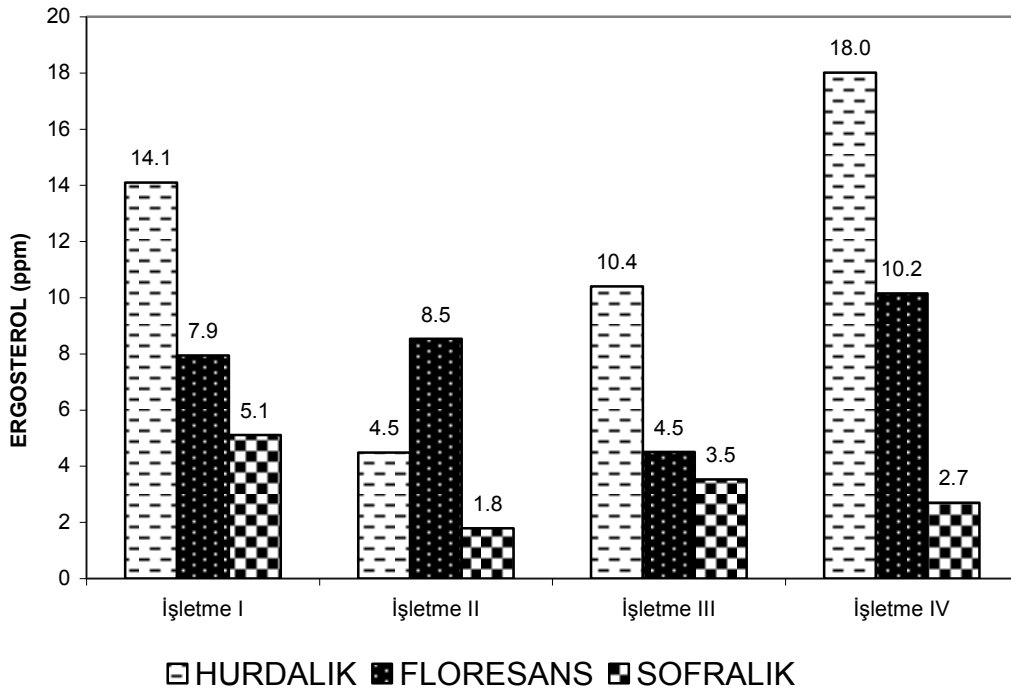
Şekil 3.5: Kuru incir örneklerinde saptanan toplam aflatoksin miktarları

İşletmelerden alınan kuru incir örneklerinde 4 aflatoksin çeşidinin dağılımı yukarıda verildiği şekilde gerçekleşirken bir başka mikotoksin olan patulinin farklı nitelikteki incirlerde bulunma durumu Şekil 3.6'da gösterilmiştir. Tüm işletmeler için, hurdalık incir örneklerinde saptanan patulin miktarları, diğer incir kategorilerinde saptanan miktarlardan daha yüksek bulunmuştur. Hurdalık incirlerdeki patulin seviyelerinin 39.3-151.6 ppb aralığında değiştiği saptanmıştır. Bu aralık, floresans veren incirler için 24.7-43.4 ppb, sofralık incirler için ise 4.8-25.2 ppb olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.6: Kuru incir örneklerinde saptanan patulin miktarları

Şekil 3.7’de ise incelenen kuru incir örneklerinde ergosterol dağılımı görülmektedir. Kategoriler arasında en yüksek ergosterol seviyesine hurdalık incirlerde rastlandığı, örnekleri incelenen 4 işletmeden 3’ü için söylenebilir. Ergosterol seviyelerinin hurdalık incirlerde 4.5-18.0 ppb, floresans veren incirlerde 4.5-10.2 ppb ve sofralık incirlerde 1.8-5.1 ppb aralığında değiştiği saptanmıştır.



Şekil 3.7: Kuru incir örneklerinde saptanan ergosterol miktarları

Farklı nitelikteki kuru incir örneklerinde saptanan toplam aflatoksin, patulin ve ergosterol seviyelerinin ortalamaları Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2: Farklı nitelikteki kuru incir örneklerindeki toplam aflatoksin, patulin ve ergosterol seviyelerinin ortalamaları

	<b>Toplam Aflatoksin (ppb)</b>	<b>Patulin (ppb)</b>	<b>Ergosterol (ppm)</b>
<b>Floresans veren</b>	367.5	35.5	7.8
<b>Hurdalık</b>	2.5	80.8	11.8
<b>Sofralık</b>	0.05	11.4	3.3

4 incir işletmesinden alınıp incelenen sofralık kuru incir örneklerinde saptanan aflatoksin B<sub>1</sub> ve toplam aflatoksin miktarları, gerek ülkemizde yürürlükte olan “Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ” (Anon., 2002b) ile gerekse Avrupa’da “Avrupa Topluluğu Yönetmeliği” (Anon., 2002a) ile belirlenmiş limitlerin çok altında bulunmuştur (Aflatoksin B<sub>1</sub> ve toplam aflatoksin için ülkemizde yürürlükte olan yönetmelik sırasıyla 5 ve 10 ppb; Avrupa Topluluğu Yönetmeliği ise sırasıyla 2 ve 4 ppb’lik sınırlamalar getirmiştir). Aynı örneklerin patulin içeriklerinin WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından bildirilen 50 ppb’lik limitin (Artık ve diğ., 2001) altında olduğu saptanmıştır. Ayrıca gıdalarda küflenmenin ve küflenme düzeyinin belirlenmesinde kullanılabilme potansiyeli üzerine Bertoni et al. (1994) tarafından domates ve ürünleri için önerilen 15 ppm’lik ergosterol limit değeri de hiçbir sofralık kuru incir örneğinde aşılmamıştır. İşte tüm bu bulgular, insan tüketimine uygun olarak nitelendirilen ve iç piyasaya sunulması veya ihraç edilmesi düşünülen sofralık kuru incirlerde beklenen olumlu sonuçları yansıtmaktadır.

Floresans veren örneklerde aflatoksin B<sub>1</sub> ve toplam aflatoksin seviyelerinin sırasıyla 49.0-387.4 ppb ve 117.9-471.9 ppb aralığında olduğu saptanmıştır. Bu kadar yüksek aflatoksin seviyelerde kontamine olma hali, floresans veren incirler için beklenen bir durumdur. Kuru incirlerin aflatoksin içeriği ile uzun dalga boylu UV ışık altında verdiği BGYF arasındaki ilişki daha önceki çalışmalarla ortaya konmuştur (Steiner et al., 1988;

Demir ve diğ., 1990). Zaten floresans veren incirler işletmelerde aflatoksinli olduğu gerekçesiyle ayıklanmaktadır.

Hurdalık incirlerdeki aflatoksin B<sub>1</sub> ve toplam aflatoksin seviyelerinin sırasıyla 0-4.5 ppb ve 0-8.3 ppb aralığında olduğu saptanmıştır. Bu değerler Türkiye'deki 5 ppb'lik aflatoksin B<sub>1</sub> ve 10 ppb'lik toplam aflatoksin sınırları dahilinde olup Avrupa'daki 2 ppb'lik aflatoksin B<sub>1</sub> ve 10 ppb'lik toplam aflatoksin sınır değerlerinin üzerindedir. Hurdalık olarak nitelendirilen incirler UV kontrolünden geçmiş incirlerdir. O halde bu durum bazı incirlerin aflatoksin içerdiği halde UV ışık altında BGYF göstermediğini ortaya koymaktadır. Nitekim benzer bir durum Doster ve Michailides (1998) tarafından da bildirilmiştir.

İşletmelerden alınan farklı nitelikteki kuru incir örneklerinde 4 aflatoksin çeşidinin yanı sıra bir başka mikotoksin olan patulin de incelenmiştir. Bu incelemeler sonunda, daha çok pekmez ve alkol yapımında kullanılan düşük kaliteli hurdalık incir örneklerinde 151.6 ppb gibi yüksek seviyelerde patuline rastlanmıştır. Bu durum, kuru incir meyvesinin aflatoksin üreticisi *Aspergillus* türü küfler için olduğu kadar diğer bazı küf türleri için de uygun bir üreme ortamı oluşturabileceğini ileri süren Şanlı ve diğ. (1990)'in görüşünü desteklemektedir. Aflatoksinlere floresans veren incirlerde, patuline ise hurdalık incirlerde yüksek seviyelerde rastlanması, bu mikotoksinlerin üreticisi küflerin farklı ortam koşullarında gelişip toksin üretebildiğini göstermektedir. Ayrıca çalışma bulgularından çeşitli etkiler sonucu fiziksel yaralanmaya maruz kalmış incir tanelerinde, sağlam incir tanelerine göre patulin üreticisi küflerin, kuruma periyodunda daha kolay gelişme ve toksin üretme imkanı bulabileceği sonucu çıkarılabilir.

Kuru incirlerden yapılan incir pekmezinin gerek doğrudan tüketimi gerekse gıda sanayinde dolaylı olarak kullanımı söz konusudur. Hurdalık kuru incirlerde kanserojen, mutajen ve teratojen etkili patuline yüksek seviyelerde rastlanması, yapımında hurdalık kuru incirlerin sıklıkla kullanıldığı incir pekmezi başta olmak üzere birçok incir ürünüde farklı bir tehlikenin var olabileceğini gözler önüne sermektedir.



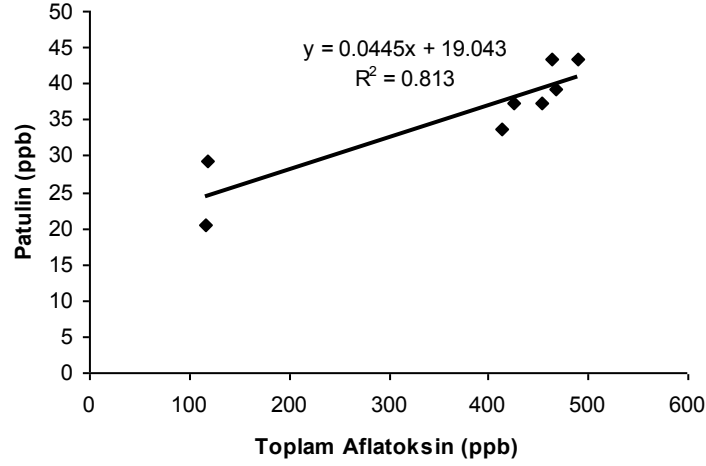
Gerçekleştirilen geniş çaplı literatür araştırmasında, incir ve ürünlerinde patulin varlığından söz eden herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Varlığı ile elma ve elma suyu başta olmak üzere birçok meyve ve meyve ürünüde problem oluşturan, çeşitli toksik etkilere sahip patulinin kuru incirlerde de üretilmiş olabileceği bulgusu ilk kez bu çalışmayla ortaya konmuştur.

4 işletmeden alınıp incelenen floresanslı incirlerde eş zamanlı olarak 24.7-43.4 ppb aralığında patulin ve 117.9-471.9 ppb aralığında toplam aflatoksin bulunmuştur. Hurdalık incir örneklerinde de 39.3-151.6 ppb aralığında patulin ve 0-8.3 ppb aralığında toplam aflatoksinin birlikte bulunduğu saptanmıştır. Hangi incirlerde hangi mikotoksinin baskın bulunacağı, muhtemelen o mikotoksinlerin üreticisi küfler arasındaki rekabetin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Aflatoksin ve patulin mikotoksinlerinin kuru incir örneklerinde bir arada bulunması, birden fazla mikotoksini bünyesinde bulunduran gıdaların tüketilmesiyle ortaya çıkabilecek sıra dışı sağlık sorunları tehlikesinin de göz ardı edilmemesi gerektiğini düşündürmektedir.

Çalışma kapsamında örnekleri incelenen tüm işletmeler için, hurdalık incirlerde saptanan patulin miktarları, diğer incir kategorilerinde saptanan miktarlardan daha yüksek bulunmuştur. En yüksek ergosterol seviyesine de hurdalık incirlerde rastlandığı, örnekleri incelenen 4 işletmeden 3'ü için söylenebilir. Bu durum, bir küf bileşeni olan ergosterol ile bir küf metaboliti olan patulin arasında bir ilişkinin kurulabileceğini göstermektedir. Nitekim böyle bir ilişkinin, farklı çürüklük oranına sahip elmalardan üretilen elma sularında söz konusu olduğu Kadakal et al. (2005) tarafından da bildirilmiştir.

Hurdalık ve floresans veren örneklerde saptanan toplam aflatoksin, patulin ve ergosterol seviyeleri arasında regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Bu maddelerin herhangi ikisinin seviyesi arasında hurdalık incir örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Floresans veren incirlerde de patulin ve ergosterol seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki söz konusu değildir.

Floresans veren incirlerde; toplam aflatoksin ile patulin arasında çizilmiş dağılım grafiği Şekil 3.8’de verilmiştir.



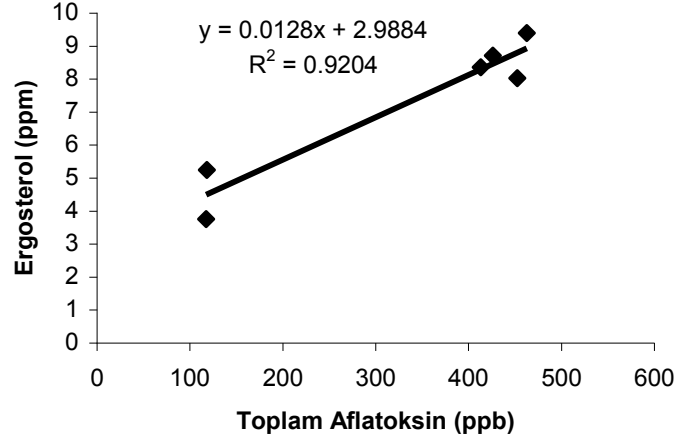
Şekil 3.8: Floresans veren incirlerde toplam aflatoksin ile patulin arasındaki ilişki

Floresans veren incirlerde toplam aflatoksin ve patulin grupları arasındaki ilişki pozitifdir ( $R^2=0.813$ ) ve bu ilişki regresyon analizi sonucu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $F=26.081$ ,  $p<0.002$ ).

Bu sonuç, incirlerde aflatoksin üreten küflerin gelişmesi ve aflatoksin üretimi için uygun koşulların oluşması halinde, başka küflerin de incirde gelişmesi ve patulin gibi farklı mikotoksinlerin üretilmesi için de uygun koşulların oluşabileceğini göstermektedir.

Floresans veren incirlerde; toplam aflatoksin ile ergosterol arasında çizilmiş dağılım grafiği ise Şekil 3.9’da verilmiştir.

Floresans veren incirlerde toplam aflatoksin ve ergosterol grupları arasındaki ilişki pozitifdir ( $R^2=0.920$ ) ve bu ilişki regresyon analizi sonucu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $F=46.243$ ,  $p<0.002$ ).



Şekil 3.9: Floresans veren incirlerde toplam aflatoksin ile ergosterol arasındaki ilişki

Aflatoksin üreticisi küflerin, inkübasyon boyunca oluşturduğu ergosterol miktarı ile sentezlediği aflatoksin miktarı arasında bir ilişkinin var olduğu daha önce gerçekleştirilen çalışmalarla ortaya konmuştur (Gourama ve Bullerman, 1995; Castro et al., 2002). Bu çalışmada elde edilen sonuç ise küf tarafından oluşturulan ergosterol ve sentezlenen aflatoksin miktarları arasındaki bu ilişkinin sadece inkübasyon süresince değil, içinde ve/veya üzerinde küf gelişimi gerçekleşmiş ürünlerde de söz konusu olabileceğini göstermektedir.

### 3.2. Kuru İncirlerde Mevcut Aflatoksinlerin Parçalanma Düzeyleri

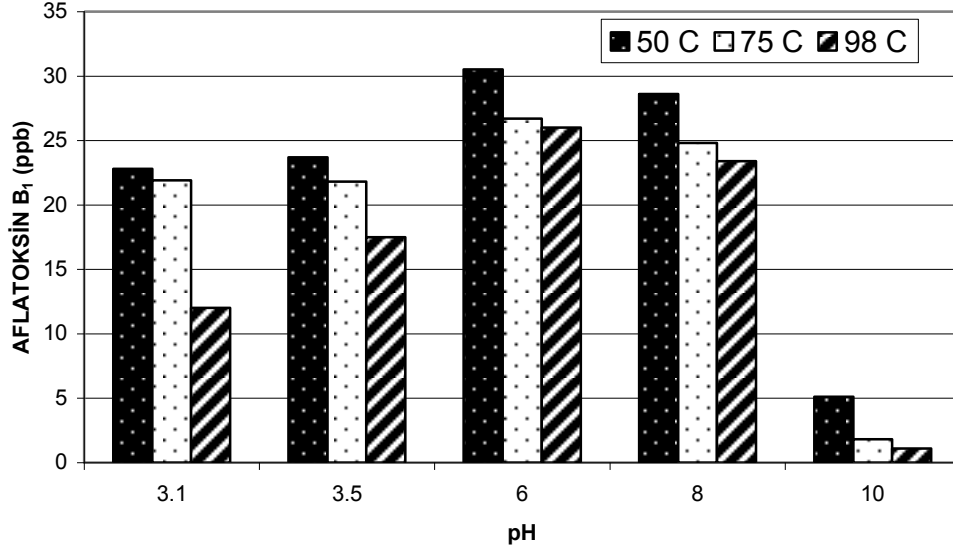
Çalışmanın bu aşamasında, kuru incir ekstraktlarına farklı miktarlarda asit veya baz ilave edilerek farklı sıcaklıklarda, farklı süreler ısı işlem uygulamasıyla aflatoksin miktarlarındaki değişim araştırılmıştır. Çalışmanın başında henüz hiçbir işlem uygulanmamış incir ekstraktlarının HPLC’de analiz edilmeleriyle aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> düzeylerinin sırasıyla 34.5, 3.7, 8.9 ve 1.8 ppb olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonunda incir ekstraktlarında kalan toksin seviyeleri ve uygulanan işlemlerle toksin seviyelerinde gerçekleşen % azalmalar Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3: Kuru incir ekstraktlarına uygulanan asitlendirme veya alkalileştirme ve ısıtma işlem uygulamaları sonuçları (\*: Parantez içindeki sayılar başlangıç konsantrasyonuna göre % azalmaları vermektedir.)

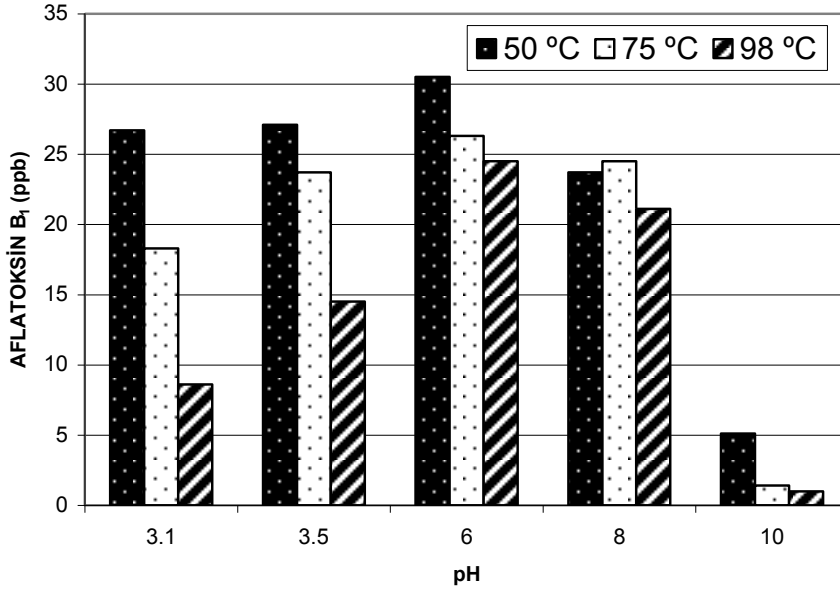
	SICAKLIK	ASİT UYGULAMALARI				BAZ UYGULAMALARI					
		pH 3.1		pH 3.5		pH 6		pH 8		pH 10	
		1 saat	2 saat	1 saat	2 saat	1 saat	2 saat	1 saat	2 saat	1 saat	2 saat
Aflatoxin B <sub>1</sub> (ppb) [başlangıç konsantrasyonu=34,5]	50 °C	22,8 (%34)*	26,7 (%23)	23,7 (%31)	27,1 (%21)	30,5 (%12)	30,5 (%12)	28,6 (%17)	23,7 (%31)	5,1 (%85)	5,1 (%85)
	75 °C	21,9 (%37)	18,3 (%47)	21,8 (%37)	23,7 (%31)	26,7 (%23)	26,3 (%24)	24,8 (%28)	24,5 (%29)	1,8 (%95)	1,4 (%96)
	98 °C	12,0 (%65)	8,6 (%75)	17,5 (%49)	14,5 (%58)	26,0 (%25)	24,5 (%29)	23,4 (%32)	21,1 (%39)	1,1 (%97)	1,0 (%97)
Aflatoxin B <sub>2</sub> (ppb) [başlangıç konsantrasyonu=3,7]	50 °C	2,8 (%24)	3,1 (%16)	2,7 (%27)	3,0 (%19)	3,3 (%11)	3,3 (%11)	3,0 (%19)	2,6 (%30)	0,9 (%78)	0,5 (%87)
	75 °C	2,9 (%22)	2,8 (%24)	2,4 (%35)	3,1 (%16)	3,0 (%19)	2,9 (%22)	2,8 (%24)	2,7 (%27)	2,1 (%43)	1,7 (%54)
	98 °C	2,9 (%22)	3,2 (%14)	2,5 (%32)	2,8 (%24)	2,6 (%30)	2,3 (%38)	2,3 (%38)	2,0 (%46)	1,2 (%68)	1,2 (%68)
Aflatoxin G <sub>1</sub> (ppb) [başlangıç konsantrasyonu=8,9]	50 °C	5,9 (%34)	6,9 (%23)	6,0 (%33)	6,9 (%23)	6,6 (%26)	6,6 (%26)	4,8 (%46)	4,0 (%66)	0 (%100)	0 (%100)
	75 °C	5,6 (%37)	4,7 (%47)	5,7 (%36)	6,2 (%30)	6,3 (%29)	5,8 (%35)	4,0 (%66)	3,6 (%60)	1,0 (%89)	0,7 (%92)
	98 °C	3,6 (%60)	2,3 (%74)	4,8 (%46)	3,8 (%57)	4,8 (%46)	4,0 (%66)	2,0 (%78)	1,2 (%87)	0 (%100)	0 (%100)
Aflatoxin G <sub>2</sub> (ppb) [başlangıç konsantrasyonu=1,8]	50 °C	1,4 (%22)	1,5 (%17)	1,5 (%17)	1,6 (%13)	1,6 (%13)	1,6 (%13)	1,4 (%22)	1,2 (%33)	0 (%100)	0 (%100)
	75 °C	1,5 (%17)	1,4 (%22)	1,4 (%22)	1,7 (%10)	1,6 (%13)	1,4 (%22)	1,2 (%33)	1,2 (%33)	0,3 (%83)	0 (%100)
	98 °C	1,5 (%17)	1,5 (%17)	1,3 (%28)	1,6 (%13)	1,3 (%28)	1,0 (%44)	0,8 (%56)	0,7 (%61)	0 (%100)	0 (%100)
Toplam aflatoxin (ppb) [başlangıç konsantrasyonu=48,9]	50 °C	32,9 (%33)	38,2 (%22)	33,9 (%31)	38,6 (%21)	42,0 (%14)	42,0 (%14)	37,8 (%23)	31,5 (%36)	6,0 (%88)	5,6 (%89)
	75 °C	31,9 (%35)	27,2 (%44)	31,3 (%36)	34,7 (%29)	37,6 (%23)	36,4 (%26)	32,8 (%33)	32,0 (%35)	5,2 (%89)	3,8 (%92)
	98 °C	18,0 (%63)	15,6 (%68)	26,1 (%46)	22,7 (%54)	34,7 (%29)	31,8 (%35)	28,5 (%42)	25,0 (%49)	2,3 (%95)	2,2 (%96)

Şekil 3.10'da pH'ları sitrik veya NaOH çözeltileriyle ayarlanmış incir ekstraktlarında 3 farklı sıcaklık ve 2 farklı süre ile ısıtma işlem uygulamaları sonrasında kalan aflatoksin B<sub>1</sub> miktarları verilmiştir. Aflatoksin B<sub>1</sub> düzeyinde en az degradasyonun her 2 ısıtma işlem süresi için de pH'sı 6'ya ayarlanmış örneklerde gerçekleştiği görülmüştür. Uygulanan her sıcaklık derecesi için pH 6'dan 3.1'e doğru ve 10'a doğru gittikçe toksin degradasyonu artmıştır. pH'ları farklı değerlere ayarlanmış örneklerde, ısıtma işlemde uygulanan sıcaklık derecesi arttıkça aflatoksin B<sub>1</sub>'in parçalanma oranı da genel olarak bir artış göstermiştir. Isıtma işlem süresinin 1 saatten 2 saate çıkarılması ise aflatoksin degradasyonunun bazı örneklerde (pH'sı 3.1, 3.5, 6 ve 8'e ayarlanıp 98 °C'de ısıtma işlem uygulanmış örneklerde) artmasına ve bazı örneklerde (pH'sı 3.1 ve 3.5'e ayarlanıp 50 °C'de ve pH'sı 3.5'e ayarlanıp 75 °C'de ısıtma işlem uygulanmış örneklerde) azalmasına neden olmuştur.

Şekil 3.11'de farklı pH değerlerine ayarlanmış incir ekstraktlarının farklı sıcaklık ve süre ısıtma işlemine maruz bırakıldıktan sonra ekstraktta kalan aflatoksin B<sub>2</sub> miktarları verilmiştir. Aflatoksin B<sub>2</sub> seviyesinde en az degradasyonun her iki ısıtma işlem süresi için de pH'sı 6'ya ayarlanmış örneklerde gerçekleştiği görülmüştür. Uygulanan iki ısıtma işlem süresinde de pH'sı 3.1, 3.5, 6 ve 8'e ayarlanmış örneklerin degradasyon sonuçları arasında çok büyük farklılıklar gözle çarpmamaktadır. Aflatoksin B<sub>1</sub> için gerçekleşen, sıcaklık artışıyla toksinin degradasyon oranının artmasının, aflatoksin B<sub>2</sub>'nin incelendiği bazı örneklerden (örneğin pH'sı 3.1, 3.5 ve 10'a ayarlanmış ekstraktlardan) elde edilen sonuçlara bakıldığında bu toksin için söz konusu olmadığı görülmektedir. Isıtma işlem süresinin artışıyla pH'sı 3.1 ve 3.5'e ayarlanmış örneklerin aflatoksin B<sub>2</sub> seviyesinde dikkat çekici bir değişim saptanamazken, pH'sı 6'ya ayarlanmış örneklerde 75 ve 98 °C için ve pH'ları 8 ve 10'a ayarlanmış örneklerde uygulanan tüm sıcaklıklar için ısıtma işlem süresinin artışıyla aflatoksin B<sub>2</sub> degradasyonu da artmıştır. Uygulanan her iki ısıtma işlem süresi için de en yüksek degradasyon oranı tüm sıcaklık değerleri için pH'sı 10'a ayarlanmış örneklerde gerçekleşmiştir.

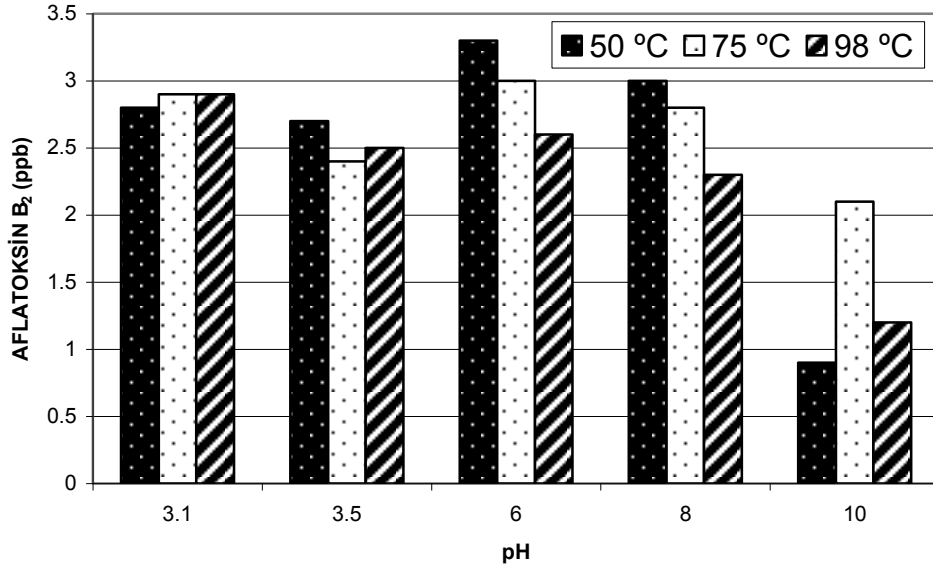


(a)

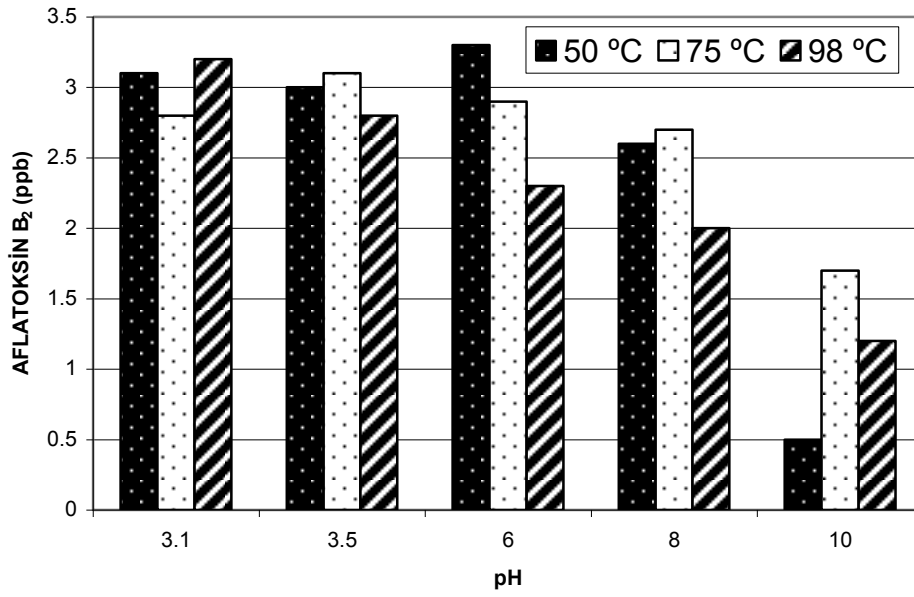


(b)

Şekil 3.10: Farklı pH'lara ayarlanmış incir ekstraktlarında farklı sıcaklıklarda ısıtma uygulamaları sonrasında kalan aflatoxin B<sub>1</sub> miktarları, (a): 1 saatlik ısıtma işlemi (b): 2 saatlik ısıtma işlemi



(a)



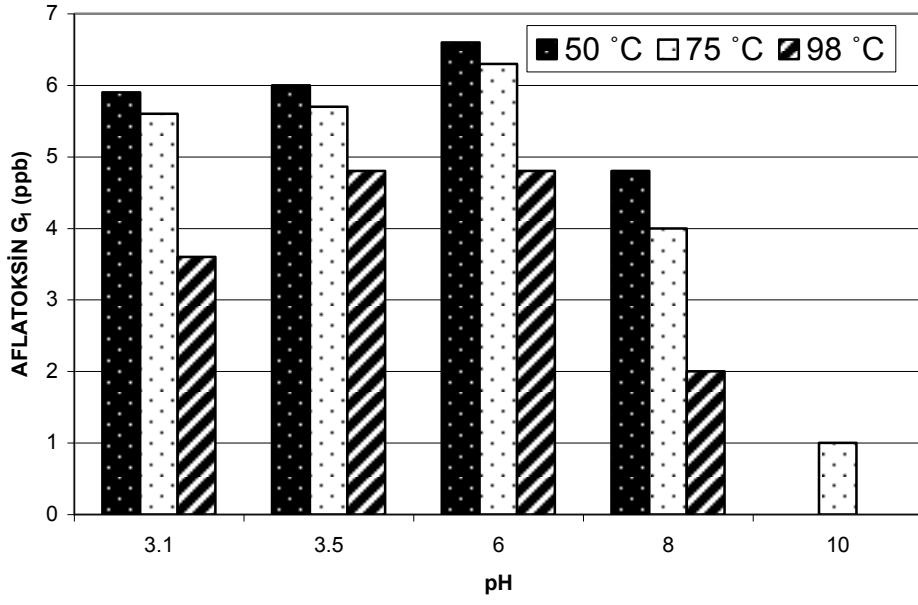
(b)

Şekil 3.11: Farklı pH'lara ayarlanmış incir ekstraktlarında farklı sıcaklıklarda ısıtma uygulamaları sonrasında kalan aflatoksin B<sub>2</sub> miktarları, (a): 1 saatlik ısıtma işlemi (b): 2 saatlik ısıtma işlemi

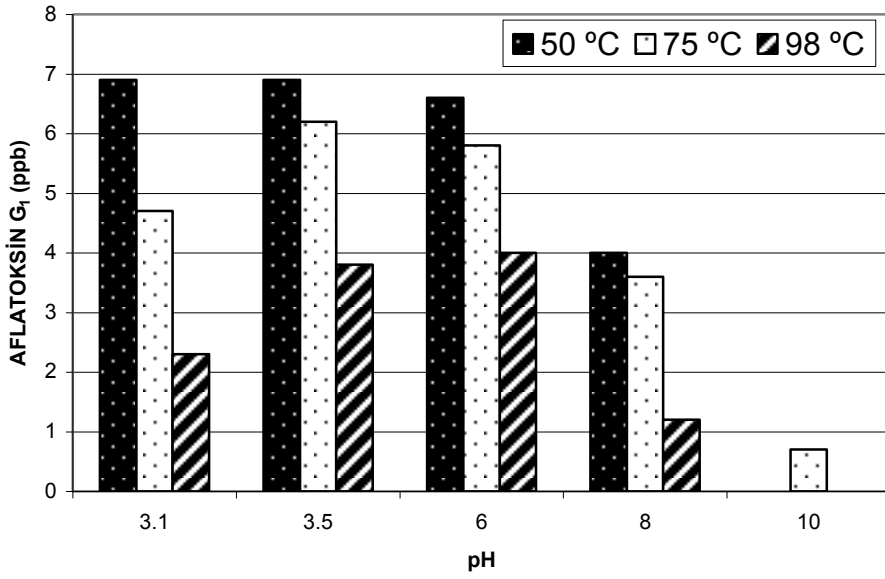
Şekil 3.12’de sitrik asit ilavesi ve NaOH çözeltileriyle pH’ları ayarlanmış incir ekstraktlarının farklı sıcaklık ve sürelerde ısıtılma maruz bırakılmaları sonrasındaki aflatoksin G<sub>1</sub> miktarları verilmiştir. Şekil 3.12 incelendiğinde görülebileceği gibi pH’ları 3.1, 3.5 ve 6’ya ayarlanmış incir ekstraktlarında ısıtılma uygulamaları sonrasında kalan aflatoksin G<sub>1</sub> miktarları değişse de bu değişimin sistematik olmadığı saptanmıştır. pH’nın, 6’dan 10’a doğru artması ile aflatoksin G<sub>1</sub> parçalanması artmıştır. Hemen hemen tüm örneklerde, her iki ısıtılma süresi için de ısıtılma sıcaklığının artmasıyla aflatoksin G<sub>1</sub>’deki parçalanma oranı da artmıştır. Bu genel eğilimi bozan tek örnek pH’sı 10’a ayarlanmış incir ekstraktları olmuştur. Bu örneklerde hem 1 hem de 2 saatlik ısıtılma süreleri için aflatoksin G<sub>1</sub> seviyesinin 50 ve 98 °C’lik sıcaklık uygulamalarıyla saptanabilir limit olan 0.1 ppb’lik seviyenin altına düştüğü, 75 °C’lik ısıtılma uygulamaları ile ise 1 saat sonunda 1.0 ppb’ye, 2 saat sonunda ise 0.7 ppb’ye düştüğü saptanmıştır. Saptanan bu seviyelerin, tespit limitinin 0.1 ppb olduğu analiz yöntemi için çok da önemsenecek büyüklükte olmadığı düşünülmektedir.

Şekil 3.13’de ise farklı pH değerlerine ayarlanmış incir ekstraktlarının farklı sıcaklık ve sürelerle ısıtılma maruz bırakıldıktan sonra ekstraktta kalan aflatoksin G<sub>2</sub> miktarları görülmektedir. 3.1, 3.5 ve 6 pH değerlerine sahip örneklerde aflatoksin B<sub>2</sub> ve aflatoksin G<sub>1</sub> için gerçekleşen ve sistematik olmayan toksin degradasyonu aflatoksin G<sub>2</sub> için de söz konusudur. pH’sı 8’e ayarlanmış örneklerin ısıtılma tabii tutulmaları ardından toksin seviyesinde düzenli bir degradasyon sağlanmıştır. pH’sı 10’a ayarlanmış örneklerde ise 75 °C’de 1 saatlik ısıtılma uygulaması hariç diğer tüm örneklerde ise aflatoksin G<sub>2</sub> seviyesi tespit edilebilir limitin altına düşürülmüştür. Bu istisnai durumun aflatoksin G<sub>1</sub> toksininin geri alımı testlerinde elde edilen düşük geri alma oranı (% 60)’ndan kaynaklandığı düşünülmektedir. Isıtılma sıcaklığının ve süresinin artırılması, ekstraktlardaki aflatoksin G<sub>2</sub>’nin parçalanmasında genel bir eğilim oluşturacak düzenli bir değişikliğe yol açmamıştır.



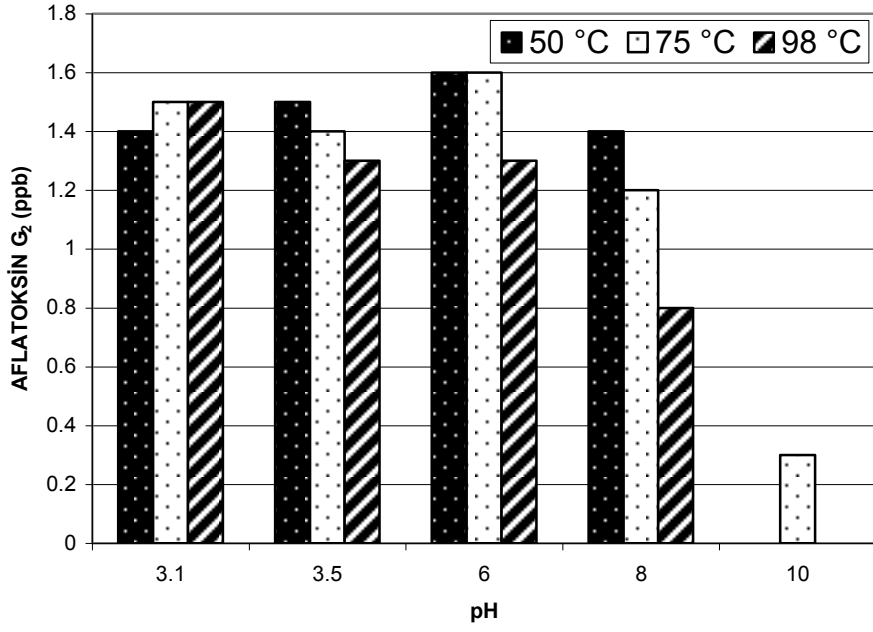


(a)

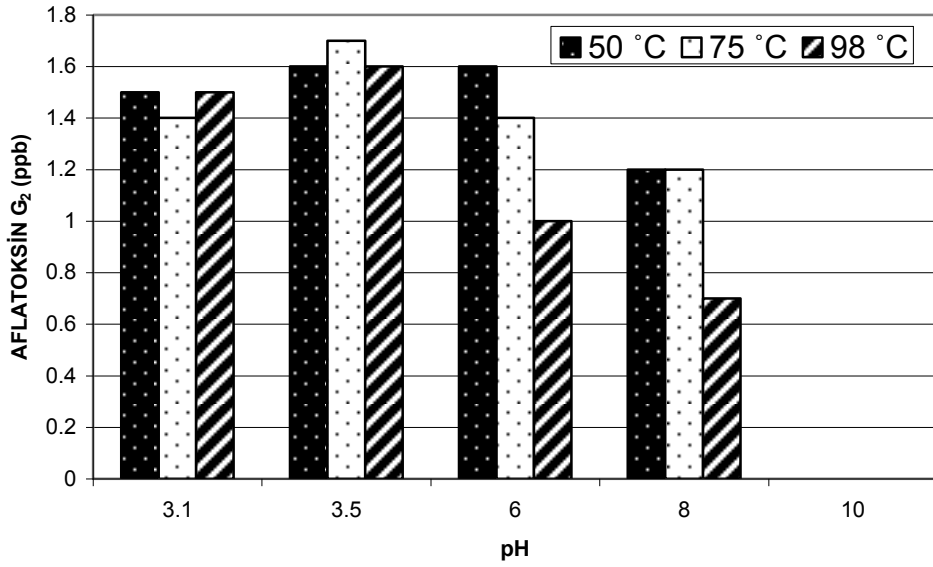


(b)

Şekil 3.12: Farklı pH'lara ayarlanmış incir ekstraktlarında farklı sıcaklıklarda ısıl işlem uygulamaları sonrasında kalan aflatoxin G<sub>1</sub> miktarları, (a): 1 saatlik ısıl işlem (b): 2 saatlik ısıl işlem



(a)

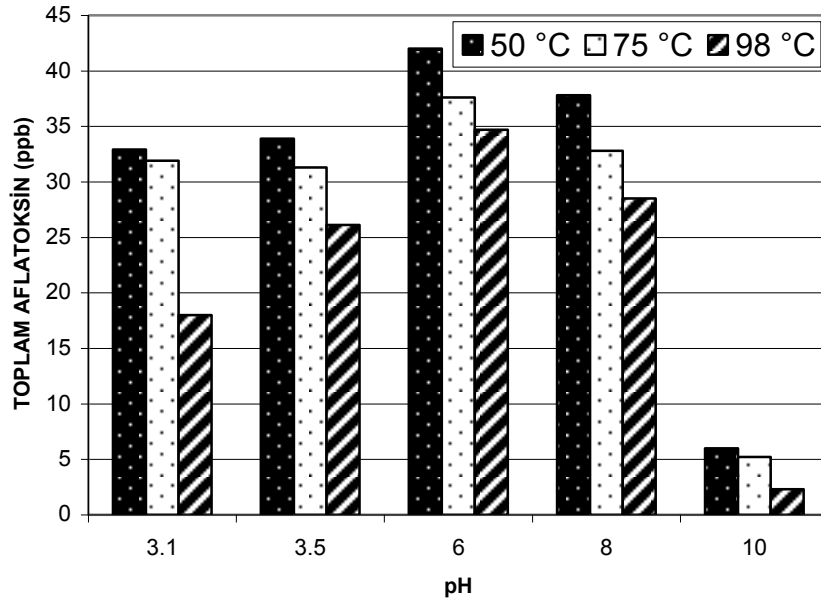


(b)

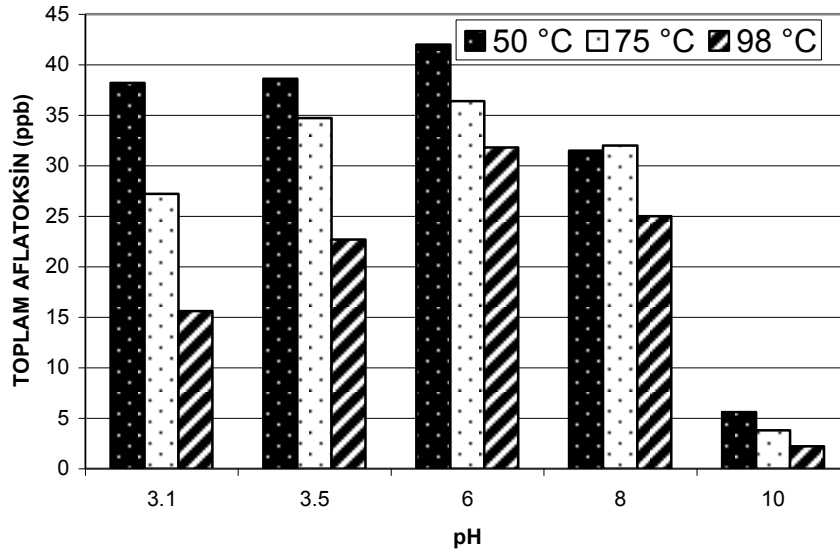
Şekil 3.13: Farklı pH'lara ayarlanmış incir ekstraktlarında farklı sıcaklıklarda ısıl işlem uygulamaları sonrasında kalan aflatoxin G<sub>2</sub> miktarları, (a): 1 saatlik ısıl işlem (b): 2 saatlik ısıl işlem

Şekil 3.14'de pH'ları sitrik asit ve NaOH çözeltileriyle ayarlanmış incir ekstraktlarında farklı süre ve sıcaklıklarda ısıtılma işlem uygulamaları sonrası kalan ve aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub>'nin toplamından oluşan toplam aflatoksin miktarları verilmiştir. Şekilden en düşük degradasyonun pH'sı 6'ya ayarlanmış örneklerde gerçekleştiği görülmektedir. pH'sı 3.1 ve 3.5'e ayarlanmış örneklerde, örnek pH'sının ve ısıtılma işlem süresinin değişimiyle toplam aflatoksin degradasyonunda düzenli olmayan değişimler gözlenmiştir. Diğer örneklerde ise pH 10'a doğru gidildikçe ve ısıtılma işlem süresi uzadıkça toplam aflatoksin degradasyonunda genel bir artış eğilimi saptanmıştır. Elde edilen bir başka sonuç da uygulanan ısıtılma işlem sıcaklığının artmasıyla parçalanmış toplam aflatoksin oranının da artış gösterdiği'dir.

Asitlerin sulu çözeltileri ile muamele sonucu aflatoksin B<sub>1</sub>'den onun hidroksi analogu Aflatoksin B<sub>2a</sub> ve aflatoksin G<sub>1</sub>'den onun analog türevi aflatoksin G<sub>2a</sub> oluştuğu bilinmektedir. Doyle ve Marth (1978a) gerçekleştirdikleri bir çalışmada pH'ları HCl'nin sulu çözeltisiyle ayarlanan örneklerdeki aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'de pH 4'te sırasıyla % 2.3 ve % 2.6, pH 3'te % 6.4 ve % 5.1 ve pH 2'de % 19.3 ve % 19.8 degradasyon gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Bahsi geçen çalışmada pH düştükçe gerçekleşen aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'deki degradasyon artışı tarafımızdan gerçekleştirilen bu çalışmada pH 6'dan 3'e doğru gidildikçe elde edilen sonuçlarla uyumludur. Ancak bazı örneklerde elde edilen sonuçlar (örneğin 2 saatlik ısıtılma işlem uygulaması ile aflatoksin G<sub>1</sub> seviyesinde gerçekleşen degradasyon) bu genel eğilime uymamaktadır. Bu durumun asitlendirmede kullanılan sitrik asitten kaynaklandığı düşünülmektedir. Bisüfitlerin oksidasyonunu geciktirerek aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'in degradasyon hızını düşürdüğü daha önce Doyle ve Marth (1978c) tarafından rapor edilen sitrik asidin farklı mekanizmalarla kuru incirlerde mevcut aflatoksinlerin degradasyonu üzerine olumsuz etkileri söz konusu olabilir.



(a)



(b)

Şekil 3.14: Farklı pH'lara ayarlanmış incir ekstraktlarında farklı sıcaklıklarda ısıtma işlem uygulamaları sonrasında kalan toplam aflatoxin miktarları, (a): 1 saatlik ısıtma işlem (b): 2 saatlik ısıtma işlem

Pons et al. (1972) gerçekleştirdikleri çalışma sonucu, aflatoksin B<sub>1</sub>'in hidroksi analogu olan aflatoksin B<sub>2a</sub>'ya % 95 oranında dönüşmesi için pH 3'te 100 °C'de 6 saatlik bir uygulama gerektiğini bildirmişlerdir. Tarafımızdan gerçekleştirilen bu çalışmada da pH 3.1'de 98 °C'de (yaklaşık 100 °C'de) 1 saat ısıtma işlemi uygulaması sonucu % 65, 2 saat ısıtma işlemi uygulaması sonucu ise % 75 aflatoksin B<sub>1</sub> degradasyonu elde edilmiştir.

Tabata et al. (1994), aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> içeren standart çözeltileri % 1'lik HCl ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltileri ile 40 °C'de 16 saat muamele etmişler ve işlem sonunda aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'in tümünün B<sub>2a</sub> ve G<sub>2a</sub>'ya dönüştüğünü, aflatoksin B<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub>'de ise herhangi bir değişim gözlenmediğini tespit etmişlerdir. Bildirilen bu sonuçlardan asit uygulamasının aflatoksin B<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub>'den ziyade B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub> üzerinde etkili olduğu çıkarımı yapılabilir. Tarafımızdan gerçekleştirilen çalışmada da bu çıkarıma paralel sonuçlar elde edilmiştir. Uygulanan tüm ısıtma süreleri ve sıcaklıkları için asit ilavesiyle pH'sı 3.5'e ayarlanmış örneklerde aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'de sırasıyla % 21-58 ve % 23-57 degradasyon elde edilirken aflatoksin B<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub> degradasyonları sırasıyla % 19-35 ve % 13-28 aralığında kalmıştır. Yine tüm süreler ve sıcaklıklar için pH'sı 3.1'e ayarlanmış örneklerde aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'de sırasıyla % 23-75 ve % 23-74 degradasyon sağlanırken aflatoksin B<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub>'de ise sırasıyla % 16-24 ve % 17-22 aralığında degradasyon gerçekleşmiştir.

Yukarıda bahsi geçen çalışmalarda, örneklerin pH'larını ayarlamak için HCl ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gibi kuvvetli asitler kullanılmıştır. Bu asitlerin pH'yı düşürmekten başka kendine has özelliklerinin de söz konusu olabileceği ve bu özelliklerin de aflatoksin degradasyonunda etkili olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Aflatoksinleri alkali çözeltilerle muamele etmek de aflatoksin seviyelerinde azalmalara yol açmaktadır. Parker ve Melnick (1966)'ya göre bu durum aflatoksinlerin lakton halkasının açılmasıyla suda çözünebilir bileşiklere (aflatoksinlerin β-keto asitlerine) dönüşmesinden kaynaklanır. Alkali koşulların yüksek sıcaklıklar (yaklaşık 100 °C) ile birlikte uygulanması durumunda lakton halkasının açılmasını

dekarboksilasyon takip eder. Hatta reaksiyon daha da ilerler ve aromatik halkadan metoksi grubunun kaybı da söz konusu olabilmektedir (Anon., 2004c).

Tabata et al. (1994); aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> içeren standart çözeltileri, % 1'lik NaOH çözeltisi ile 40 °C'de 16 saat muamele ettikten sonra incelemişlerdir. Çözeltinin pH'sının 13'e yükseldiğini ve çözeltideki tüm aflatoksinlerin seviyelerinin sıfıra düştüğünü saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise sıfır seviyesine yani tespit edilebilir limitin altına, sadece pH'sı 10'a ayarlanmış bazı örneklerdeki aflatoksin G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub>'de rastlanmıştır.

Üretim prosesinde, hammaddesi mısırın alkali bir çözelti ile muamele edilmesi de dahil birçok işlem basamağını içeren ve daha çok Latin Amerika'da tüketilen bir gıda olan tortilla üretiminde, doğal kontamine mısırlardan kaynaklanan aflatoksinlerin degradasyonu üzerine bazı çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Price ve Jorgensen (1985), tortilla üretiminde farklı yöntemler uygulamışlar ve çalışma sonucunda toplam aflatoksin seviyesinde % 46'ya varan azalmalar saptamışlardır. Yakın geçmişte Torres et al. (2001) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada da tortilla üretiminde ticari ve geleneksel olmak üzere iki farklı yöntem uygulanmıştır. Ticari yöntem, aflatoksinle doğal kontamine mısırların ve baz olarak Ca(OH)<sub>2</sub>'in kaynayan suya atılıp karıştırılması ve 14 saat kadar bekletilmesinden ibarettir. Geleneksel yöntemde ise doğal kontamine mısırların ve Ca(OH)<sub>2</sub>'in, önceden 98 °C'ye ısıtılmış suyun içine atılması ve 40 dakika süreyle kaynatılması söz konusudur. Bu kaynatma işlemi ile mısırların pH'sının 5.83'ten 6.79'a yükseldiği, aflatoksin düzeylerinde ise yaklaşık % 30 azalma meydana geldiği saptanmıştır. Tarafımızdan gerçekleştirilen çalışmada da pH'sı 6'ya ayarlanmış kuru incir ekstraktlarının 98 °C'de 1 ve 2 saat ısıtılma maruz bırakılmasıyla toplam aflatoksin seviyesinde sırasıyla % 29 ve % 35 degradasyon sağlanmıştır.

Aflatoksinle kontamine ürünlerin bazlarla muamelesi sonucunda gerçekleşen aflatoksin degradasyonu her ne kadar olumlu bir sonuç gibi görünse de, söz konusu ürünlerde meydana gelebilecek olumsuz değişiklikler de göz ardı edilmemelidir. Nitekim mısırların NaOH ile muamelesi sonucu, yüzeylerinde yapışkan bir tabaka meydana geldiği bildirilmiştir (Moerck et al., 1980). Bu durumun, mısırların amonyak

ile muamelesi sonucunda da söz konusu olduğu ve ürünün işlenmesinde problemler oluşturabileceği bildirilmiştir. Ayrıca bazlar ile muamele edilen gıdaların besleyicilik özelliğinde de azalmalar söz konusu olabilir. Dollear et al. (1968) aflatoksinle kontamine bir fıstık gıdasının NaOH ile muamelesinin ardından fizikokimyasal özellikleri ile ölçülen protein kalitesinde azalmalar gerçekleştiğini bildirmişlerdir (Moerck et al., 1980).

Ayrıca alkali çözeltilerle muamelenin ardından, aflatoksinlerin lakton halkasının açılması ve suda çözünebilir bileşiklere dönüşmesi reaksiyonu çift yönlüdür. Yani ortam tekrar asidik hale getirildiğinde aflatoksin molekülleri yeniden oluşabilir. Nitekim bazı araştırmacılar bu durumun gerçekleştiğini çalışmalarlarıyla ispat etmişlerdir (Price ve Jorgensen, 1985; Tabata et al., 1994). Bu da aflatoksin tehlikesinin yeniden oluşması anlamına gelmektedir.

## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

# SONUÇ VE ÖNERİLER

### 4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kuru incirlerde aflatoksin probleminin çözümüne katkıda bulunması amacıyla gerçekleştirilen bu yüksek lisans çalışması iki aşamada gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın birinci aşamasında 4 farklı işletmeden alınan 3 farklı kategorideki (floresans veren, hurdalık ve sofralık) incirlerin aflatoksin patulin ve ergosterol içerikleri tespit edilmiştir. Örnekler, biri Merkez/İzmir'de, ikisi Köşk/Aydın'da ve biri Nazilli/Aydın'da bulunan işletmelerden alınmıştır. İşletmelerin bulunduğu yerleşim merkezlerinin birbirine uzaklığı 150 km'den fazla değildir. Ayrıca bu işletmeler Ege Bölgesi'ndeki muhtelif bahçelerde yetiştirilen incirleri hammadde olarak kullanmaktadır. İşte bu nedenlerle çalışma bulguları değerlendirilirken; mukayese, işletmeler arasında yapılmamış, farklı kategorilere ayrılan incir örnekleri arasında yapılmıştır.

İnsan tüketimine uygun olarak nitelendirilip iç piyasaya sunulması veya ihraç edilmesi düşünülen sofralık kuru incirlerde gerçekleştirilen analizler sonucunda, küf toksinlerinin çok düşük seviyelerde bulunduğu veya hiç bulunmadığı saptanmıştır. Küfler tarafından sentezlenen ve sağlık üzerine olumsuz etkileri ispatlanmış aflatoksin ve patulin toksinlerinin sofralık kuru incirlerde sırasıyla saptanan ortalama 0.05 ve 11.4 ppb'lik seviyelerinin, toplam aflatoksin için 10 ppb ve patulin için 50 ppb sınır değerleri düşünüldüğünde, herhangi bir tehlike oluşturmadığı düşünülmektedir. Bu durumun incir işletmelerinde hammadde alımı ve ayıklanması işlemleri sırasında gerçekleştirilen yoğun gayret ve kontroller sonucu ortaya çıkmış olması muhtemeldir. Sofralık kuru



incirlerdeki bu olumlu sonuçların sürekliliğinin, işletmelerde gösterilen bu gayret ve kontrolün devam etmesine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Günümüzde aflatoksin probleminin önüne geçebilmek için, UV ışık veren lamba altında floresans gösteren incirlerin ayıklanması yöntemi incir işletmelerinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Çalışma kapsamında, bu yöntem kullanılarak seçilmiş floresans veren kuru incirlerin aflatoksin düzeyleri doğal olarak yüksek (ortalama 367.5 ppb) çıkmıştır.

Çeşitli gıdalarda varlığıyla problem oluşturan patulin, fiziksel olarak zarar görmüş ve hurdalık olarak nitelendirilerek ayrılmış kuru incirlerde yüksek seviyelerde (ortalama 80.8 ppb) saptanmıştır. Hatta kontaminasyon seviyesinin yaklaşık 150 ppb gibi yüksek seviyelere ulaştığı tespit edilmiştir. Hurdalık incirler daha çok alkol ve pekmez üretiminde kullanılabilir. Bu durum, kuru incir ve ürünlerinde aflatoksin probleminin yanı sıra farklı küf toksinleri, özellikle de patulin probleminin varlığını ortaya koymaktadır.

İncir, kuruma sürecinde geçirdiği hassas periyotlar nedeniyle küf bulaşmasına son derece açık bir meyvedir. Farklı küf türleri incirde gelişebilir ve farklı toksinler üretebilirler. Farklı toksinlerle kontamine ürünlerin insanlar tarafından tüketilmesi ile, etkileri ve tedavileri şu an için net olarak ortaya konamayan sağlık sorunlarının ortaya çıkması muhtemeldir. Bu sorunların önüne geçmek için farklı küf türlerinin doğal ve suni besiyerlerinde gelişimleri ve toksin üretimleri sürecinde aralarında gerçekleşen rekabetin tüm boyutlarıyla ortaya konmasına dönük çalışmalar yararlı olacaktır.

Gerçekleştirilen çalışmayla elde edilen; floresans veren incirlerin yüksek düzeyde aflatoksinlerle, hurdalık incirlerin ise yüksek düzeyde patulinle kontamine olduğu bulgusu, çalışma kapsamında sadece “sofralık” olarak nitelendirilen kuru incirlerin insan tüketimine uygun olduğunu göstermektedir.

İncir işletmelerinde UV ışık veren lamba altında floresans gösteren incirler imha edilmek üzere kasalarda toplanır. Aflatoksinle muhtemelen kontamine bu incirlerin

herhangi bir şekilde kullanılmaması ve imha edilmesi ekonomik açıdan büyük kayıplara yol açmaktadır. Bu kaybın önlenmesine katkıda bulunmak amacıyla, çalışmanın ikinci aşamasında aflatoksinle kontamine kuru incirlerde aflatoksinlerin parçalanma düzeyinin belirlenmesine dönük denemeler gerçekleştirilmiştir.

Çalışma kapsamında kuru incir ekstraktlarına farklı miktarlarda asit veya baz ilave edilerek, farklı sıcaklıklarda farklı süreler ısıtılarak işlem uygulanmıştır. Asitlendirme amacıyla incir meyvesinde baskın asit olan sitrik asit, alkalileştirme amacıyla ise gıda sanayinde yaygın kullanım alanı bulan NaOH kullanılmıştır.

Uygulanan işlemlerle, toplam aflatoksin seviyesinde % 14'ten % 96'ya varan oranlarda degradasyon gözlenmiştir. Genel olarak ısıtma işlem sıcaklığının artışıyla degradasyon oranı da artmıştır. Isıtma işlem süresinin artışıyla degradasyon oranında genelde sistematik bir değişiklik gözlenmemiştir. Başlangıçta 48.9 ppb olan ilk kontaminasyon seviyesi bazı uygulamalar (pH 10'da 75 °C'de 2 saatlik ısıtma işlem, 98°C'de 1 ve 2 saatlik ısıtma işlem) ile gerek Türkiye'deki limit (10 ppb) gerekse AB'deki limit (4 ppb) seviyelerinin altına düşürülmüştür. Yine bazı uygulamalar (pH 10'da 75 °C ve 98 °C'de 1 ve 2 saatlik ısıtma işlem) başlangıç konsantrasyonu 34.5 ppb olan aflatoksin B<sub>1</sub> seviyesinin Türkiye'deki limit (5 ppb) ve AB'deki limit (2 ppb) seviyelerinin altına düşmesini sağlamıştır. Ayrıca aflatoksin G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> seviyeleri de bazı uygulamalar (pH 10'da 50 °C ve 98 °C'de 1 ve 2 saatlik ısıtma işlem) sonucunda tespit edilebilir limitin altına düşmüştür.

Ancak gerçekleşen aflatoksin parçalanması sonucu yeni oluşan ürünlerin niteliği ve toksik olup olmadığı konusunda kesin bulgular mevcut değildir. Ayrıca aflatoksinin parçalanma reaksiyonunun çift yönlü olması yani alkalileştirilmiş ortamın yeniden asitlendirilmesiyle aflatoksinlerin tekrar şekillenebilmesi mümkündür (Tabata et al., 1994). Bu da aflatoksin tehlikesinin yeniden oluşması anlamına gelir. Aflatoksin degradasyon mekanizmasını ortaya çıkarmaya ve degradasyon sonucu oluşan ürünlerin niteliklerini belirlemeye dönük çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR

- Abramson, D., Hulasare, R., White, N.D.G., Jayas, D.S. and Marquardt, R.R., (1999), Mycotoxin Formation in Hulless Barley During Granary Storage at 15 and 19 % Moisture Content, *Journal of Stored Products Research* 35: 297-305.
- Ali, N., Sardjono, A., Yamashita A. and Yoshizawa, T., (1998), Natural Co-occurrence of Aflatoxins and *Fusarium* Mycotoxins (Fumonisin, Deoxynivalenol, Nivalenol and Zearalenone) in Corn From Indonesia, *Food Additives*, 15(4): 377-384.
- Altuğ, T., Yousef, A.E. and Marth, E.H., (1990), Degradation of Aflatoxin B<sub>1</sub> in Dried Figs by Sodium Bisulfite with or without Heat, Ultraviolet Energy or Hydrogen Peroxide, *Journal of Food Protection*, 53(7): 581-582.
- Anaç, H., (2003), Kuru İncir, *Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü-Bakış Dergisi*, Sayı:3, Nüsha:10, 1-4.
- Anonymous, (1993), Apple Juice, Apple Juice Concentrates and Drinks Containing Apple Juice Determination of Patulin Content, 1: Method Using High Performance Liquid Chromatography, ISO 8128.1, International Organization for Standardization, Genevre.
- Anonymous, (1996), Aflatoxin Surveillance of Retail and Imported Nuts, Nut Products, Dried Figs and Fig Products, MAFF UK Food Surveillance Information Sheets, No: 81.
- Anonymous, (1999), 1998 Survey of Retail Products for Ochratoxin A, MAFF UK Food Surveillance Information Sheets, No: 185.
- Anonymous, (2000a), Ergosterol, (<http://www.britannica.com>).

Anonymous, (2000b), Report of a Mission Carried out in Turkey from 4<sup>th</sup> to 8<sup>th</sup> September 2000, Commission of The European Communities, Health&Consumer Protection Directorate-General, Directorate F-Food and Veterinary Office, DG(SANCO)/1256/2000-MR Final.

Anonymous, (2001), Aflatoksin Analizleri, Kobra Cell Türevlendirme Ünitesi Eğitim Programı, 9 Mayıs, Ankara.

Anonymous, (2002a), Survey of Nuts, Nut Products and Dried Tree Fruits for Mycotoxins, Joint Food Safety and Standart Group, Food Surveillance Information Sheet, No: 21/02.

Anonymous, (2002b), Türk Gıda Kodeksi, Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ, 24885 Sayılı Resmi Gazete.

Anonymous, (2003), 3-8 Mart 2003 Tarihleri Arasında Ülkemizi Ziyaret Eden AB Misyonu Taslak Raporu Hakkında Ülkemiz Görüşleri, Bölüm-I, (<http://europa.eu.int>).

Anonymous, (2004a), Food Composition, Online Searchable Database of Foods, (<http://www.nal.usda.gov>).

Anonymous, (2004b), Aflatoksin, (<http://www.aflon.net>).

Anonymous, (2004c), Chemical Reactions of Aflatoxins, (<http://www.aflatoxin.info>).

Anonymous, (2004d), İncir İşletmemiz, (<http://www.taris.com.tr>).

Anonymous, (2004e), Fındığa AB Engeli, (<http://www.evrensel.net>).

Anonymous, (2004f), 01.03.2004 Tarihli Haber, (<http://www.tarim.gov.tr>).

Anonymous, (2004g), Aflatoxin Control in Figs: Biocontrol and New Resistant Cultivars, Plant Mycotoxin Research, Research Project, Project No: 5325-42000-031-01, (<http://www.usda.gov>).

Artık, N., Gökmen, V., Poyrazoğlu, E. ve Kahraman, N., (2001), Elma Suyu Üretiminde Farklı Durultma Tekniklerinin Üründeki Patulin ve Bazı Kalite Kriterlerine Etkisi, TÜBİTAK TOGTAG Projesi, Proje No: TARP 2049.

Ashworth, L.J.JR., Schroeder, H.W. and Langley, B.C., (1956), Aflatoxins: Environmental Factors Governing Occurrence in Spanish Peanuts. *Science*, 148: 1228-1229.

Aşkın, O. ve Köşker, Ö., (1976), İncirlerde Aflatoksin Teşekkülü Üzerinde Araştırmalar, Diploma Sonrası Yüksekokul İhtisas Tez Özetleri, 1: 226-246, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi.

Aziz, N.H. and Moussa, L.A.A., (2002), Influence of Gamma-Radiation on Mycotoxin Producing Moulds and Mycotoxins in Fruits, *Food Control*, 13: 281-288.

Bars, J.L., (1989), Contribution to a Practical Strategy for Avoidance of Aflatoxin in Dried Figs, *International Dried Figs and Aflatoxin Symposium*, Çeşme, İzmir.

Basappa, S.C. and Shantha, T., (1996), Methods for Detoxification of Aflatoxins in Foods and Feeds-A Critical Appraisal, *J. Food Sci. Technol.*, 33(2): 95-107.

Bata, A. and Lasztity, R., (1999), Detoxification of Mycotoxin-Contaminated Food and Feed by Microorganisms, *Trends in Food Science&Technology*, 10(6-7): 223-228.

Battilani, P., Chiusa, G., Trevisan, M. and Ghebbioni, C., (1996), Fungal Growth and Ergosterol Content in Tomato Fruits Infected by Fungi, *J. Food Sci.*, 8(4): 283-289.

- Baylas, B. and Gönül, Ş.A., (2000), Biological Control of Molds and Mycotoxins, Blacksea and Central Asian Symposium on Food Technology, pp: 74, 12-16 October, Ankara.
- Bertoni, P., Ghiretti G.P., Sandei, L., Strina, F. And Leoni, C., (1994), Ergosterol Content of Commercial Tomato Products as an Index of Raw Material Fungal Contamination and Proposal of a Tolerance Value, *Industria-Conserve*, 69(1): 18-25.
- Betina, V. (ed.), (1989), *Mycotoxins: Chemical, Biological and Environmental Aspects, Bioactive Molecules*, Elsevier Applied Science, London, 114-150.
- Bocchi, P., Ghiretti, G.P., Sandei, L., Spotti, E. and Leoni C., (1995), Ergosterol Production by Several Types of Yeasts Able to Colonize Tomatoes, *Industria-Conserve*, 70(4): 404-409.
- Boudra, H., Lebars J., Lebars, P. and Dupuy, J., (1994), Time of *Aspergillus flavus* Infection and Aflatoxin Formation in Ripening of Figs, *Mycopathologia*, 127(1): 29-33.
- Buchanan, J.R., Sommer, N.F. and Fortlage, R.J., (1975), *Aspergillus flavus* Infection and Aflatoxin Production in Fig Fruits, *Applied Microbiology*, 30(2): 238-241.
- Büyükşirin, S., (1993), Kuru İncirlerde Küf Florası ve Aflatoksijenik Küflerin Saptanması, Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Candlish, A.A.G., Pearson, S.M., Aidoo, K.E., Smith, J.E., Kelly, B. and Irvine, H., (2001), A Survey of Ethnic Foods for Microbial Quality and Aflatoxin Content, *Food Additives and Contaminants*, 18(2): 129-136.

Castro, M.F.P.M., Bragagnolo, N. and Valentini, S.R.D., (2002), The Relationship between Fungi Growth and Aflatoxin Production with Ergosterol Content of Corn Grains, *Brazilian Journal of Microbiology*, 33(1), 22-26.

Cemeroğlu, B., (1992), *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisinde Temel Analiz Metotları*, Biltav Yayınları, 381 s., Ankara.

Ciegler, A., Peterson, R.E., Lagoda, A.A. and Hall, H.H., (1966), Aflatoxin Production and Degradation by *Aspergillus flavus* in 20-Liter Fermentors, *Appl. Microbiol.*, 14: 826-833.

Coomes, T.J., Crowther, P.C., Feuell, A.J. and Francis, B.J., (1966), Experimental Detoxification of Groundnut Meals Containing Aflatoxin, *Nature*, 209: 406-407.

Çoksöyler, N., Özkaya, Ş., Taydaş, E.E. ve Başaran, A., (1996), *Gıda Katkı-Kalıntı ve Bulaşanların İzlenmesi: Gıda ve Yemlerde Mikotoksin Düzeylerinin Tespiti*, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Gıda Teknolojisi Araştırma Enstitüsü, Bursa.

Demir, S.T., Özar, A.İ., Gülseri, O., Çoksöyler, N., Konca, R., Aksoy, U., Düzbastılar, M, ve Sağdemir, A., (1990), *Ege Bölgesinde İncirlerde Görülen Aflatoksin ve Okratoksin Oluşumu ile Önlenmesi Üzerinde Araştırmalar*, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Projesi, Proje No: KKGA-B-03-F-052, Proje Nihai Raporu.

Derici, B., (1997), *Kuru İncirlerde Aflatoksin ve Okratoksin A Oluşumunun Bazı Besin Maddeleri ile İlişkileri Üzerinde Araştırmalar*, Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ege Üniversitesi, İzmir.

Dollear, F.G., Mann, G.E., Codifer, L.P., Gardner, H.K., Kotlun, S.P.Jr. and Vix, H.L.F., (1968), Elimination of Aflatoxins from Peanut Meal, *J. Am. Oil Chem., Soc.*, 45: 862-865.

Doster, M.A., Michailides, T.J. and Morgan, D.P., (1994), *Aspergillus* Molds and Aflatoxins in Figs, American Society for Microbiology, Las Vegas NV, U.C. Kearney Ag. Center.

Doster, M.A., Michailides, T.J. and Morgan, D.P., (1996), *Aspergillus* Species and Mycotoxins in Figs from California Orchards, *Plant Disease*, 80(5): 484-489.

Doster, M.A. and Michailides, T.J., (1997), Susceptibility of Maturing Calimyrna Figs to Decay by Aflatoxin-Producing Fungi in California, First International Symposium on Fig, 24-28 June, 187-191 p., İzmir, Turkey.

Doster, M.A. and Michailides, T.J., (1998), Production of Bright Greenish Yellow Fluorescence in Figs Infected by *Aspergillus* Species in California Orchards, *Plant Disease*, 82(6): 669-673.

Doyle, M.P. and Marth, E.H., (1978a), Aflatoxin at Several Initial Concentrations is Degraded by Different Amounts of Mycelium of *Aspergillus parasiticus*, *Z. Lebensm. Unters.-Forsch*, 166: 359-362.

Doyle, M.P. and Marth, E.H., (1978b), Bisulfite Degrades Aflatoxin: Effect of Temperature and Concentration of Bisulfite, *Journal of Food Protection*, 41: 774-780.

Doyle, M.P. and Marth, E.H., (1978c), Bisulfite Degrades Aflatoxin: Effect of Citric Acid and Methanol and Possible Mechanism of Degradation, *Journal of Food Protection*, 41(11): 891-896.

Doyle, M.P., Applebaum, R.S., Brackett, R.E. and Marth, E.H., (1982), Physical, Chemical and Biological Degradation of Mycotoxins in Foods and Agricultural Commodities, *Journal of Food Protection*, 45(10): 964-971.



Dunbay, O.D., (1995), Kükürtlenmiş ve Kükürtlenmemiş Kuru Kayıslarda Aflatoksin ve Okratoksin A'nın Niceliklerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ege Üniversitesi, İzmir.

Dutton, M.F. and Williams, K.E., (1988), Detoxification of Aflatoxin in Peanut Meal by Acid Hydrolysis, Food Rev., 15: 70-71.

Efendiler, H., (2000), İzmir ve Manisa İllerindeki Çeşitli Çekirdeksiz Kuru Üzüm Bağlarında Potansiyel Okratoksijenik Küflerin İzlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ege Üniversitesi, İzmir.

Elmacı, Y. and Altuğ, T., (1994), Aflatoxin Degradation in Dried Figs on Industrial Scale by Using Sulphur Dioxide Gas Alone and Together with Heat, Hydrogen Peroxide or Washing Treatments, Proceedings of The International Euro Food Tox. IV. Conference, Bioactive Substances in Food of Plant Origin, Volume:2, pp:290-296, 22-24 September, Olsztyn, Poland.

Erzurum, K., (1996), İnsan ve Hayvanlara Toksik Fungus Metabolitleri, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 1460, Derleme No: 65.

Erzurum, K., (1999) Gıdalarda Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü (Yayımlanmamış).

Färber, P., Geisen, R. and Holzapfel, W.H., (1997), Detection of Aflatoxigenic Fungi in Figs by a PCR Reaction, International Journal of Food Microbiology, 36: 215-220.

Fennell, D., Bothast, R., Lillehoj, E. and Peterson, R., (1973), Cereal Chem., 50: 404-414.

Freed, R.D., (1991), MSTATC: Microcomputer Statistical Programme, Experimental Design, Data Management and Data Analysis, Michigan State University, Michigan, U.S.A.

Gallali, Y.H., Abujnah, Y.S. and Bannani, F.K., (2000) Preservation of Fruits and Vegetables Using Solar Drier: A Comparative Study of Natural and Solar Drying, III; Chemical Analysis and Sensory Evaluation Data of The Dried Samples (Grapes, Figs, Tomatoes and Onions), Renewable Energy, 19: 203-212.

Ghiretti, G.P., Spotti, E., Strina, F., Sandei, L., Mori, G., Attolini, G. and Leoni, C., (1995), Ergosterol Production by Different Types of Moulds Able to Colonize Tomatoes, Industria-Conserve, 70(1): 3-12.

Gourama, H. and Bullerman, L.B., (1994), Relationship Between Aflatoxin Production and Mould Growth as Measured by Ergosterol and Plate Count, Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 28, 185-189.

Gourama, H. and Bullerman. L.B., (1997), Anti-aflatoxic Activity of *Lactobacillus casei pseudoplantarum*, International Journal of Food Microbiology, 34: 131-143.

Gökalp, H.Y., Nas, S. ve Certel, M., (2002), Biyokimya I.Temel Yapılar ve Kavramlar, Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları, Yayın No: 001, 400 s., Denizli.

Hafez, A.H. and Megalla, S.E., (1982), The Potential Value of Silage in Detoxifying Aflatoxin B<sub>1</sub>, Mycopathologia, 79: 31-34.

Hasan, H.A.H., (2002), Patulin and Aflatoxin in Brown Rot Lesion of Apple Fruits and Their Regulation, World Journal of Microbiology&Biotechnology 16: 607-612.

İçibal, N. and Altuğ, T., (1992), Degradation of Aflatoxins in Dried Figs by Sulphur Dioxide Alone and in Combination with Heat, Ultraviolet Energy and Hydrogen Peroxide, *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 25: 294-296.

İnceoğlu, Ö., (2004), Kişisel Görüşme, Cevdet Aksüt&Oğulları Kral İncir İşletmesi, Nazilli, Aydın.

Kadalkal, Ç., (2000), Elma Suyu Üretimi Esnasında Patulin İçeriğindeki Değişimler, Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Pamukkale Üniversitesi, Denizli.

Kadalkal, Ç., (2003), Domates Mamullerinde Ergosterolün Düzeyi ve Proseste Değişiminin Kinetiği, Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, Ankara.

Kadalkal, Ç., Nas, S., Ekinci, R., (2005), Ergosterol as a New Quality Parameter Together with Patulin in Raw Apple Juice Produced from Decayed Apples, *Food Chemistry*, 90: 95-100.

Kamimura, H., Nishijima, M., Tabata, S., Yasuda, K., Ushiyama, H. and Nishima, T., (1986), Survey of Mycotoxin Contamination in Edible Oil and Fate of Mycotoxins During Oil-Defining Process, *J. Food Hyg. Soc. Jpn.*, 27: 59-63.

Kılıç, O., Başoğlu, F., Çopur, Ö.U., (1997), Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi I, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları, No: 73, 192 s., Bursa.

Kocabaş, N., (1991), Aflatoksine Duyarlı Bazı Gıdaların Fungal Florası ve Aflatoksijenik Küflerin Saptanmasında Uygun Besiyeri ve İzolasyon Yöntemi Üzerine Bir Çalışma, Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ege Üniversitesi, İzmir.

Körük, B., (2001), Gıda Mikotoksinleri ve İnsan Sağlığı Açısından Önemi, Dönem Projesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, Ankara.

Lamper, C., Teren, J., Bartok, T., Komoroczy, R., Mesterhazy, A. and Sagi F., (2000), Prediction DON Contamination in Fusarium-Infected Wheat Grains via Determination of Ergosterol Content, Cereal Research Communications, 28(3): 337-344.

Loesecke, H.W., (1955), Drying and Dehydration of Foods, Chapman&Hall, 299 p., London.

Marsh, P., Simpson, M., Ferretti, J., Campbell, T. and Donoso, J., (1969), Relation of Aflatoxins in Cotton Seeds at Harvest to Fluorescence in the Fiber, J. Agric. Food Chem., 17: 462-467.

Martins, M.L., Gimeno, A., Martins, H.M. and Bernardo, F., (2002), Co-occurrence of Patulin and Citrinin in Portuguese Apples with Rotten Spots, Food Additives and Contaminants, 19(6): 568-574.

McBean, D.M.G., Joslyn, M.A. and Nury, F.S., (1971), The Biochemistry of Fruits and Their Products, (Hulme, A.C. ed.) Vol: 2, Academic Press, London.

Megalla, S.E. and Hafez A.M., (1982), Detoxification of Aflatoxin B<sub>1</sub> by Acidogenous Yoghurt (Feed and Food Contamination), Mycopathologia, 77: 89-91.

Melcion, D., Cahagnier, B. and Molard R.D., (1997), Study of the Biosynthesis of Fumonisin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and B<sub>3</sub> by Different Strains of *Fusarium moniliforme*, Letters in Applied Microbiology, 24: 301-305.

Miller, J.D., (1991), Significance of Grain Mycotoxins for Health and Nutrition, Fungi and Mycotoxins in Stored Products, (Champ, B.R., Higley, E., Hocking, A.D. and Pitt, J.I. eds.), No: 36, Canberra, Australia.

- Mislivec, P.B., Bruce, V.R. and Andrews, W.H., (1979), Mycological Survey of Selected Health Foods, *Applied and Environmental Microbiology*, 37(3): 567-571.
- Moerck, K.E., McElfresh, P., Wohlman, A. and Hilton, B.W., (1980), Aflatoxin Destruction in Corn Using Sodium Bisulfite, Sodium Hydroxide and Aqueous Ammonia, *Journal of Food Protection*, 43(7): 571-574.
- Morton, S.G., Eadie, T. and Llewellyn, G.C., (1979), Aflatoxigenic Potential of Dried Figs, Apricot, Pineapples and Raisins, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 62(4): 958-962.
- Olsson, J., Börjesson, T., Lundstedt, T. and Schnürer, J., (2002), Detection and Quantification of Ochratoxin A and Deoxynivalenol in Barley Grains by GC-MS and electronic nose, *International Journal of Food Microbiology*, 72: 203-214.
- Özkan, R., Öztürk, K., Kılınç, A., (2000), İncir ve Kayısıların Güneş Kolektörlü Sistemle Kurutulmaları ve Depolanma Teknikleri Üzerine Araştırmalar, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Projesi, Proje Kod No: TAGEM/GY/97/01/003.
- Özkaya, Ş., Başaran, A., Elden, E. ve Kaymak, T., (2002), Gıda Katkı-Kalıntı ve Bulaşanların İzlenmesi: Gıda ve Yemlerde Mikotoksin Düzeylerinin Tespiti, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Gıda Kontrol ve Merkez Araştırma Enstitüsü, Bursa.
- Park, D.L., Lee, L.S., Price, R.L. and Pahland, A.E., (1988), Review of The Decontamination of Aflatoxins by Ammoniation: Current Status and Regulations, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71: 689-703.
- Park, J.W., Kim, E.K., Shon, D.H. and Kim, Y.B., (2002), Natural Co-occurrence of Aflatoxin B<sub>1</sub>, Fumonisin B<sub>1</sub> and Ochratoxin A in Barley and Corn Foods from Korea, *Food Additives and Contaminants*, 19(11): 1073-1080.

- Parker, W.A. and Melnick, D., (1966), Absence of Aflatoxin from Refined Vegetable Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 43: 635-638.
- Parrish, F.W., Willey, B.J., Simmons, E.G. and Long, L., (1966), Jr. *Appl. Microbiol.*, 14(1): 139.
- Pinto, V.F., Patriarca, A., Locani, O. and Vaamonde, G., (2001), Natural Co-occurrence of Aflatoxin and Cyclopiazonic Acid in Peanuts Grown in Argentina, *Food Additives and Contaminants*, 18(11): 1017-1020.
- Pons, W.A.JR., Cucullu, A.F., Lee, L.S., Janssen, H.J. and Goldblatt, L.A., (1972), Kinetic Study of Acid-Catalyzed Conversion of Aflatoxins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> to B<sub>2a</sub> and G<sub>2a</sub>, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 49: 124-128.
- Price, R.L. and Jorgensen, K.V., (1985), Effects of Processing on Aflatoxin Levels and on Mutagenic Potential of Tortillas Made From Naturally Contaminated Corn, *Journal of Food Science*, 50: 347-349.
- Rambo, G.W. and Bean, G.A., (1974), Sterols and Fatty Acids of Aflatoxin and Non-Aflatoxin Producing Isolates of *Aspergillus*, *Phytochemistry*, 13: 195-198.
- Rustom, I.Y.S., Lopez-Leiva, M.H. and Nair, B.M., (1993), Effect of pH and Heat Treatment on The Mutagenic Activity of Peanut Beverage Contaminated with Aflatoxin B<sub>1</sub>, *Food Chemistry*, 46(1): 37-42.
- Rustom, I.Y.S., (1997), Aflatoxin in Food and Feed: Occurrence, Legislation and Inactivation by Physical Methods, *Food Chemistry*, 59(1): 57-67.
- Saldamlı, İ. (ed.), (2001), *Gıda Kimyası*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Hacettepe Üniversitesi Basımevi, 527 s., Ankara.

- Samaraeva, U., Sen, A.C., Cohen, M.D. and Wei, C.I., (1990), Detoxification of Aflatoxins in Foods and Feeds by Physical and Chemical Methods, *Journal of Food Protection*, 53: 489-501.
- Sargeant, K., Sheridan, A., O'Kelly, J. and Carnaghan, R.B.A., (1961), Toxicity Associated with Certain Samples of Groundnuts, *Nature*, 192: 1096-1097.
- Saxena, J., Munimbazi, C. and Bullerman, L.B., (2001), Relationship of Mould Count, Ergosterol and Ochratoxin A Production, *International Journal of Food Microbiology*, 71, 29-34.
- Schroeder, H.W., (1966), Effect of Corn Step Liquor on Mycelial Growth and Aflatoxin Production in *Aspergillus parasiticus*, *Appl. Microbiol.*, 14: 381-385.
- Seitz, L.M., Mohr, H.E., Burroughs, R. and Sauer, D.B., (1977), Ergosterol as an indicator of Fungal Invasion in Grains, *Cereal Chem.*, 54: 1207-1217.
- Seitz, L.M., Saner, D.B., Mohr, H.E. and Hubbard, J.D., (1979), Ergosterol as a Measure of Fungal Growth, *Phytopathology*, 69: 1202-1203.
- Sharman, M., Patey, A.L., Bloomfield, D.A. and Gilbert J., (1991), Surveillance and Control of Aflatoxin Contamination of Dried Figs and Fig Paste Imported into The United Kingdom, *Food Additives and Contaminants*, 8(3): 299-304.
- Speijers, G.J.A. and Speijers, M.H.M., (2004), Combined Toxic Effects of Mycotoxins, *Toxicology Letters*, 153: 91-98.
- Steiner, W.E., Rieker, R.H. and Battaglia, R., (1988), Aflatoxin Contamination in Dried Figs: Distribution and Association with Fluorescence, *J. Agric. Food Chem.*, 36(1): 88-91.

- Stroka, J., Anklam, E., Jörissen, U. and Gilbert, J., (2000), Immunoaffinity Column Cleanup with Liquid Chromatography Using Post-Column Bromination for Determination of Aflatoxins in Peanut Butter, Pistachio Paste, Fig Paste and Paprika Powder: Collaborative Study, *Journal of AOAC International*, 83(2): 320-340.
- Şanlı, Y., Yavuz, H. ve Akar, F., (1990), Kuru İncir Örneklerinde Mikotoksin Kirlilikleri, *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 37(2): 293-308.
- Tabata, S., Kamimura, H., Ibe, A., Hashimoto, H. and Tamura, Y., (1994), Degradation of Aflatoxins by Food Additives, *Journal of Food Protection*, 57(1): 42-47.
- Taniwaki, M.H., Hocking, A.D., Pitt, J.I. and Fleet, G.H., (2001), Growth of Fungi and Mycotoxin Production on Cheese Under Modified Atmospheres, *International Journal of Food Microbiology*, 68: 125-133.
- Taydaş, E.E., (1993), Kırmızı Biberlerde Aflatoksin ve Okratoksin Oluşumu Üzerine Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Torres, P., Guzman-Ortiz, M. and Ramirez-Wong, B., (2001), Revising The Role of pH and Thermal Treatments in Aflatoxin Content Reduction During The Tortilla and Deep Frying Processes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6): 2825-2829.
- Varga, J., Rigo, K., Lamber C., Teren, J. and Szabo, G., (2002), Kinetics of Ochratoxin A Production in Different *Aspergillus* Species, *Acta Biologica Hungarica*, 53 (3): 381-388.
- Vargas, E.A., Preis, R.A., Castro, L. and Silva, C.M.G., (2001), Co-occurrence of Aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, Zearalenone and Fumonisin B<sub>1</sub> in Brazilian Corn, *Food Additives and Contaminants*, 18(11): 981-986.



Vrabcheva, T., Usleber, E., Dietrich, R. and Märtlbauer, E., (2000), Co-occurrence of Ochratoxin A and Citrinin From Bulgarian Villages with a History of Balkan Endemic Nephropathy, *J. Agric. Food Chem.*, 48: 2483-2488.

Yağcıoğlu, A., (1999), *Tarım Ürünleri Kurutma Tekniği*, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Makineleri Bölümü Yardımcı Ders Kitabı, E.Ü. Ziraat Fak. Ofset Atelyesi, I. Basım, Bornova/İzmir.

Zeringue, H.J.JR., Shih, B.Y., Maskos, K. and Grimm, D., (1999), Identification of the Bright-Greenish-Yellow-Fluorescence (BGYF) Compound on Cotton Lint Associated with Aflatoxin Contamination in Cottonseed, *Phytochemistry*, 52: 1391-1397.

Zill, G., Engelhardt, G. and Wallnöfer, P.R., (1988), Determination of Fungal Ergosterol as a Measure of Fungal Growth Using Si 60 HPLC, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 187: 246-249.

Zohri, A.A. and Abdel-Gawad, K.M., (1993), Survey of Mycoflora and Mycotoxins of Some Dried Fruits in Egypt, *J. Basic. Microbiology*, 33(4): 279-288.

# ÖZGEÇMİŞ

<b>Adı Soyadı</b>	: Hakan KARACA
<b>Ana adı</b>	: Firdevs
<b>Baba adı</b>	: Mehmet Macit
<b>Doğum yeri ve yılı</b>	: Denizli, 1979
<b>Lisans eğitimi ve mezuniyet yılı</b>	: Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 2001
<b>Çalıştığı kurum</b>	: Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü
<b>Bildiği yabancı diller</b>	: İngilizce (iyi düzey) ve Almanca (orta düzey)
<b>Üyesi olduğu meslek odası</b>	: Gıda Mühendisleri Odası

## Yayımları:

- Karaca, H. ve Nas, S., (2003), Önemli İhraç Ürünümüz İncirde Aflatoksin Sorunu, CineTarım, 49: 34-35.
- Kadakal, Ç., Karaca, H., Nas, S. ve Artık, N., (2003), Elmanın Çürüklük Oranının Elma Suyunun Patulin Düzeyine Etkisi, I.Ulusal Mikotoksin Sempozyumu, 18-19 Eylül, İstanbul.
- Karaca, H. ve Nas, S., (2004), Ülkemiz Açısından Önemli Bazı Kuru Meyvelerde Toksik İkincil Metabolitler, Akademik Gıda, 8: 16-21.
- Karaca, H. ve Nas, S., (2004), Toxic Secondary Metabolites in Dried Fruits in Turkey, 11<sup>th</sup> International Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, 17-21 May, Bethesda, Maryland, U.S.A.