

**STANBUL İLİNDE SATI İA SUNULAN KURU
NC R VE KURU ÜZÜMLERDE AFLATOKS N
VE OKRATOKS N A VARLI İ**

Dilek DÜNDAR
Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisli i Anabilim Dalı
Danı man: Yrd. Doç. Dr. Tuncay GÜMÜ

TEK RDA , 2008

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**STANBUL İLİNDE SATIĞA SUNULAN KURU NARİNGİ VE KURU
ÜZÜMLERDE AFLATOKSİN VE OKRATOKSİNİN VARLIĞI**

Dilek DÜNDAR

GIDA MÜHENDİSLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Tuncay GÜMÜŞ

TEKRİR -2008

Yrd. Doç. Dr. Tuncay GÜMÜ danı manlı ında, Dilek DÜNDAR tarafından hazırlanan bu çalı ma 16/09/2008 tarihinde a a ıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisli i Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak oybirli i ile kabul edilmi tir.

Juri Ba kanı : Prof. Dr. Muhammet ARICI *mza :*

Üye : Yrd. Doç. Dr. Tuncay GÜMÜ *mza :*

Üye : Yrd. Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN *mza :*

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Orhan DA LIO LU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

STANBUL İLİNDE SATI A SUNULAN KURU İNCİR VE KURU ÜZÜMLERDE
AFLATOKSİN VE OKRATOKSİN A VARLIĞI

Dilek DÜNDAR

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Tuncay GÜMÜ

Bu araştırmada, İstanbul ilinde tüketime sunulan kuru incirlerde aflatoksin ve okratoksin A, kuru üzümde ise sadece okratoksin A varlığı incelenmiştir. Araştırmada kullanılan örnekler toptan/perakende satış noktaları ile üretim/paketleme tesislerinden alınmıştır. Aflatoksin ve okratoksin A analizleri HPLC ile yapılmıştır. 2006 yılında alınan 15 adet kuru incir örneğinden sadece ikisinde 46,92 µg/kg ve 47,46 µg/kg düzeylerinde toplam aflatoksin tespit edilmiştir. 2007 yılına ait 12 örnekten ise dördünde aflatoksin tespit edilmiştir. Tespit edilen toplam aflatoksin değerleri 10,25 µg/kg, 1,84 µg/kg, 155,26 µg/kg ve 6,28 µg/kg'dır. İncelenen 27 örnekte tespit edilen toplam aflatoksin değerlerinin yalnızca iki tanesi ilgili Tebliğ'de belirlenmiş olan yasal limit dahilinde iken, toksin tespit edilen diğer dört örnek yasal sınırların üzerindedir. Kuru incirde okratoksin A varlığını incelemek amacıyla 2007 yılında alınan 15 adet örnekten sekizinde toksin tespit edilmiştir. Tespit edilen değerler 1,63 µg/kg, 4,13 µg/kg, 2,56 µg/kg, 2,57 µg/kg, 3,02 µg/kg, 4,33 µg/kg, 1,01 µg/kg ve 1,01 µg/kg olup, tamamı ilgili Tebliğ ile belirlenen yasal limitler dahilindedir. Kuru üzüm örneklerinde okratoksin A varlığını belirlemek amacıyla alınan 52 adet örnekten 14 adedinde toksin tespit edilmiştir. Belirlenen en düşük değer 0,34 µg/kg iken en yüksek değer 4,64 µg/kg'dır. Tespit edilen toksin miktarları kuru üzüm için belirlenmiş olan maksimum okratoksin A seviyesinin altındadır.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin, Kuru incir, Kuru üzüm, Mikotoksin, Okratoksin A

2008, 64 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

AFLATOXIN AND OCHRATOXIN A CONTENTS IN DRIED FIGS AND DRIED GRAPE FRUITS SOLD IN ISTANBUL

Dilek DÜNDAR

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Main Science Division of Food Engineering

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Tuncay GÜMÜ

In this research, existence of aflatoxin and ochratoxin A in dried figs and ochratoxin A in dried grape fruits in Istanbul were determined. The samples used in this research were collected from retail and wholesale markets or packaging units. HPLC method was used. Aflatoxins were found out in 2 of the 15 dried fig samples which were collected in 2006. In these samples the total aflatoxin levels are 46.92 µg/kg and 47.46 µg/kg. In 2007, 4 of 12 dried fig samples contained aflatoxin. The total aflatoxin levels of these samples are 10.25 µg/kg, 1.84 µg/kg, 155.26 µg/kg and 6.28 µg/kg. Among 27 dried fig samples, only 2 of the detected aflatoxin levels are in accordance with legal limits. 6 of the detected aflatoxin levels exceeded the legal limits. In 2007, the ochratoxin A content of 15 dried fig samples were determined. 8 of 15 samples contained ochratoxin A and the detected levels are 1.63 µg/kg, 4.13 µg/kg, 2.56 µg/kg, 2.57 µg/kg, 3.02 µg/kg, 4.33 µg/kg, 1.01 µg/kg and 1.01 µg/kg. All of these toxin levels accord with legal limits. 52 dried grape fruits are examined for their ochratoxin A content and the toxin levels ranged from 0.36 µg/kg to 4.64 µg/kg. These detected levels are below the maximum legal limit which is determined for dried wine fruits, and raisins.

Key words: Aflatoxin, Dried figs, Dried grape fruits, Mycotoxins, Ochratoxin A

2008, 64 pages

TE EKKÜR

Yüksek lisans tez konusunun seçiminden tamamlanmasına kadar geçen süreçte her türlü bilgi ve yardımı tarafıma sağlayan de erli bölüm hocalarıma, tüm çalışmam süresince de erli tecrübelerinden ve fikirlerinden sürekli faydalandığım danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Tuncay GÜMÜŞ'e, tecrübelerini benimle paylaşan ve desteklerini esirgemeyen de erli meslektaşlarım Sayın Ayşe Öznur OCAK, Sayın Yasemin EREN, Sayın Didem ÜNAL ve tabiki çalışmam süresince benden sabır ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

Ç İNDEK İLER

	Sayfa No.
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TE EK KÜR	iii
KISALTMALAR D Z N	vi
EK LLER D Z N	vii
Ç ZELGELER D Z N	ix
1. G R	1
2. L TERATÜR B LG S	5
2.1. Aflatoksinlerin Yapısı ve Özellikleri	5
2.2. Aflatoksinlerin Sa lık Üzerine Etkileri	7
2.3. Aflatoksin Üreten Küfler ve Geli me artları	9
2.4. Kuru ncirde Aflatoksin Varlı ı	10
2.5. Okratoksinlerin Yapısı ve Özellikleri	12
2.6. Okratoksin A'nın Sa lık Üzerine Etkileri	13
2.7. Okratoksin A Üreten Küfler ve Geli me artları	15
2.8. Üzümde Okratoksin A Üreten Küflerin Varlı ı	16
2.9. Kuru ncirde Okratoksin A Üreten Küflerin Varlı ı	18
2.10. Kuru Meyvelerde Aflatoksin Miktarını Belirleyen Yasal Düzenlemeler	19
2.11. Kuru üzüm ve Kuru ncirde Okratoksin A Miktarını Belirleyen Yasal Düzenlemeler	20
3. MATERYAL ve METOD	21
3.1. Materyal	21
3.1.1 Kuru ncir	21
3.1.2 Kuru Üzüm	21
3.2. Metod	22
3.2.1 Kuru Yemi ler, Ya lı Kuru Meyveler ve Kuru ncirde Aflatoksin Analizi Metodu (HPLC metodu)	22
3.2.2. Kuru Üzüm ve Kuru ncirde Okratoksin A Analizi (HPLC metodu)	23
4.ARA TIRMA SONUÇLARI ve TARTI MA	27
4.1. Kuru incir Örneklerinde Toplam Aflatoksin ve Aflatoksin B ₁ Varlı ı	27
4.2. Kuru ncir Örneklerinde Okratoksin A Varlı ı	36
4.3. Kuru Üzüm Örneklerinde Okratoksin A Varlı ı	39

5. SONUÇ ve ÖNER LER

45

6. KAYNAKLAR

ÖZGEÇM

KISALTMALAR D Z N

ADI	Acceptable Daily Intake; kabul edilebilir günlük miktar
AOAC	Association of Analytical Communities
FAO	Food and Agriculture Organization
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IARC	International Agency for Research on Cancer (Uluslararası Kanser Ara tırma Kurulu u)
JECFA	FAO/WHO birli i ile Gıda Katkıları zerine çalı an Komite
NOEL	No Observable Effect; gözlenebilir etki olu turmayan düzey
ppb	Part per billion ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
ppm	Part per million ($\mu\text{g}/\text{g}$)
SCF	Avrupa Komisyonu Gıda Teknolojileri Komitesi
SGM	Sentetik zm Suyu Besiyeri
WHO	World Health Organization

EKLER DİZİNİ

	Sayfa No.
ekil 2.1 Aflatoksin B ₁ 'in Kimyasal Yapısı	6
ekil 2.2 Okratoksin A'nın Kimyasal Yapısı	12
ekil 4.1 2006 Yılı Satı Noktaları ve Üretim/paketleme Tesislerinden Alınan Kuru ncir Örneklerine ait Aflatoksin B ₁ Da ılımları.	29
ekil 4.2 2006 Yılı Satı Noktaları ve Üretim/paketleme Tesislerinden Alınan Kuru ncir Örneklerine ait Toplam Aflatoksin Da ılımları.	29
ekil 4.3 2007 Yılı Satı Noktaları ve Üretim/paketleme Tesislerinden Alınan Kuru ncir Örneklerine ait Aflatoksin B ₁ De erleri Da ılımı.	31
ekil 4.4 2007 Yılı Satı Noktaları ve Üretim/paketleme Tesislerinden Alınan Kuru ncir Örneklerine ait Toplam Aflatoksin De erleri Da ılımı.	31
ekil 4.5 2006 ve 2007 Yıllarında Satı Noktalarından Alınan Kuru ncir Örneklerinin Toplam Aflatoksin Da ılımları.	33
ekil 4.6 2006 ve 2007 Yıllarında Üretim/paketleme Tesislerinden Alınan Kuru ncir Örneklerinin Toplam Aflatoksin Da ılımları.	33
ekil 4.7 2006 ve 2007 Yılları Kuru ncir Örneklerinde Toplam Aflatoksin Yüzdeleri.	34
ekil 4.8 2006 ve 2007 Yılları Kuru ncir Örneklerinde Aflatoksin B ₁ Yüzdeleri.	34
ekil 4.9 2007 Yılına ait Kuru ncir Örneklerinin Okratoksin A Da ılımları.	37
ekil 4.10 2007 Yılına ait Kuru ncir Örneklerinin Okratoksin A Konsantrasyonlarına Göre Da ılımı.	38
ekil 4.11 2006 Yılı Kuru Üzüm Örneklerinin Okratoksin A Konsantrasyonları Da ılımı	41

ekil 4.12 2006 Yılı Toptan/perakende Satı Noktalarına ait Kuru Üzüm Örneklerinin Okratoksin A Da ılımları.	41
ekil 4.13 2006 Yılı Üretim/paketleme Tesislerine ait Örneklerin Okratoksin A Da ılımları.	42
ekil 4.14 2006 Yılı Okratoksin A Tespit Edilen, Satı ve Üretim/paketleme Tesislerine ait Örneklerin Toksin Da ılımları.	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No.
Çizelge 2.1 Aflatoksinlerin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	6
Çizelge 4.1 Kuru incir Örneklerine ait Toplam Aflatoksin ve Aflatoksin B ₁ Değerleri (µg/kg)	28
Çizelge 4.2 Kuru incir Örnekleri Toplam Analiz Sonuçları Tablosu	32
Çizelge 4.3 2007 Yılı Kuru incir Örneklerine ait Okratoksin A Miktarları (µg/kg)	37
Çizelge 4.4 Kuru Üzüm Örneklerine ait Okratoksin A Değerleri (µg/kg)	40

1. G R

nsan beslenmesinde kullanılan gıda maddeleri ile yem ve yem maddeleri üretim-tüketim zincirinin herhangi bir a masında uygun olmayan ko ullarda depolandıklarında küfler üreyerek ürünlerde istenmeyen de i ikliklere ve bozulmalara yol açmaktadırlar (Erdem ve Özen 1990).

nsanlar ilk ça lardan beri bazı küflerden yiyeceklerini olgunla tırmada yararlanmı lardır. Ayrıca çok sayıda küfünde insan sa lı nı tehdit etti i yapılan çalı malarda saptanmı tır. İnsan sa lı na olumsuz etkilerinin ba nda kanserojen etkili ikincil metabolitleri olu turmaları gelir. Genelde “mikotoksin” olarak isimlendirilen bu bile ikler olu turucu küfe ve ilk kez belirlendi i ürüne göre isimlendirilir (Evren 1999). Mikotoksin terimi, yunanca küf anlamına gelen “mykes” ve Latince zehir anlamına gelen “toxicum” kelimelerinin birle mesinden olu mu tur (Metin 2006). Bütün mikotoksinler ipliksi yapıdaki funguslar tarafından sekonder metabolitler olarak üretilen dü ük moleköl a ırlı na sahip do al ürünlerdir (Bennett ve Klich 2003).

Mikotoksin terimi ilk kez, 1962 yılında ngiltere’de Londra yakınlarında bir hindi çiftli inde 100.000 hindinin ölümüne neden olan veteriner kriz sonrasında kullanılmı tır. 1960-1975 yılları arasındaki periyod mikotoksin çalı maları açısından altın ça olarak adlandırılmı ve yapılan çalı malar sonucunda 300 ila 400 arasında bile en, mikotoksin olarak tanımlanarak insan ve hayvan sa lı ı açısından tehdit olu turdukları belirlenmi tir. Bunlar içerisinde birinci derecede önemli olarak kabul edilenlerin sayısı 5-6 civarındadır (Bennett ve Klich 2003).

Bu mikotoksinlerin çoğunun *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* ve *Rhizopus* cinslerine giren üyelerce sentezlendi i belirlenmi tir (Karagözlü ve Karapınar 1998). Önem derecesine göre bütün ülke ve ürünleri kapsayan genel bir sıralama yapmak güç olmakla birlikte; aflatoksinler, okratoksin A, fumonisinler, trikotesenler ve zearalenonun birinci derecede önemli mikotoksinler oldu u konusunda ara tırcılar görü birli ine varmı lardır (Heperkan 2005).

Küflerin insan sa lı na etkileri iki ekilde olmaktadır. Küflerle do rudan temas yoluyla beliren hastalıklara “mikozis” , mikotoksinlerle intoksikasyon sonucu olu an hastalıklara da “mikotoksikoz” denir (Evren 1999).

Mikotoksinler bütün toksikolojik sendromlar gibi akut veya kronik olarak karakterize edilebilir. Akut toksisite hızlı bir ekilde ortaya çıkarak belirgin toksik cevaplar olu tururken, kronik toksisite uzun süreçlerde etki gösteren dü ük dozlar ve kanser gibi geri dönü ü olmayan etkilerle karakterize edilir. nsan ve hayvanlarda ortaya çıkan mikotoksin kaynaklı sa lık sorunlarının neredeyse tamamı kronik olarak nitelendirilmektedir (Bennett ve Klich 2003).

Sonuç olarak mikotoksinler insanlarda; karaci er kanserine ve gen yapısında de i ikliklere yol açar, vücudun hormonal dengesini bozar, ba ı klık sistemini zayıflatır, kısırılı a ve sakat do umlara neden olur, gıda emilimini azaltır ve kemikleri zayıflatır, vücut direncini dü üreterek vücudu hastalıklara açık hale getirir (Akpınar 2006).

Ülkemiz açısından mikotoksin sorunu 1960’lı yıllarda gündeme gelmi tir. Aflatoksin sorunu 1967 yılında Kanada’ya gönderilen 10 ton iç findı ın, 1971 yılında da ABD’ye ihraç edilen 45 parti antepfıstı ının 31 partisinin aflatoksin içerdi i gerekçesiyle geri çevrilmesi sonucu ortaya çıkmı tır (Akpınar 2006). 1972 yılında Danimarka’ya gönderilen kuru incirler aflatoksin içermeleri sebebiyle geri gönderilmi lerdir (Kiremit 1993). Türkiye’de gıda olarak tüketilen bitkisel ürünlerdeki mikotoksin kalıntılarıyla ilgili çalı malar antepfıstı ında ve kuru incirlerde aflatoksin ve aflatoksijenik küflerin saptanmasıyla hız kazanmakla beraber genelde aflatoksinlerle sınırlı kalmı , okratoksinlerle ilgili ara tırmalar 1990’lı yıllarda ba lamı tır (Karagözlü ve Karapınar 1998).Türkiye’de gerek üretim miktarı açısından ve gerekse yurt içi tüketim ile ihracat malları arasında önemli bir paya sahip olan, küflere kar ı hassas ürünlerden iki tanesi incir ve üzümdür.

ncir, dutgiller (*Moraceae*) familyasına dahil olan *Ficus* cinsinin içerdi i yakla ık 800 kadar tür içinde ticari öneme sahip meyve veren tek bitkidir. Tarımı en fazla yapılan türü *Ficus carica* L.’dir (Anonim 2006a).

ncirin anavatanı Türkiye olup, buradan Suriye, Filistin ve daha sonra da Ortado u üzerinden Çin ve Hindistan’a yayılmı tır. ncirin özel dölllenme ve kendine özgü kurutma artlarına haiz

bir meyve olması yeti ti i bölgeleri sınırlı kılmaktadır. Türkiye, dünyanın en büyük ve kaliteli incir üreticisi olup, dünya taze incir üretiminin % 23,6'sını, dünya kuru incir üretiminin % 54,3'ünü gerçekle tirmektedir (Anonim 2006b).

ncirin üretimi ülkemizde hemen her bölgede yapılabilmesine kar ın; yüksek kaliteli kurutmalık incir, iklim ko ulları, özellikle meyve olgunla ma ve kurutma mevsimindeki sıcaklık, nem ve rüzgar durumu gibi ekolojik istekleri nedeniyle, Ege Bölgesi'nde Büyük ve Küçük Menderes Havzalarında yeti tirilmektedir. Ülkemiz en kaliteli kurutmalık incir çe itlerine sahiptir. Üretilen çe itler arasında en yaygın olanı Sarılop'tur. Birçok kalite özelli i ile kurutmaya en uygun çe ittir. Bu yüksek kaliteli kuru incirin % 85-90'ı ihraç edilmektedir (Anaç 2003).

ncirlerde en önemli problemlerden birisi, incirlerin olgunla masından sonra özellikle kuraklık gibi stres ko ullarında aflatoksin olu turan küflerin meyve içinde geli ebilmesidir. Olgun incirlerin % 36'sının hasattan önce dalında aflatoksin içerdi i saptanmı tır. Hasattan sonra kurutma sırasında da ko ullara ba lı olarak küf geli mesi devam eder. Bu nedenle kurutulmu incirlerin ortalama % 18-19 kadarı özellikle aflatoksin içerebilmektedir (Ünlütürk ve Turanta 1998).

ncir ile birlikte yeryüzünde kültürü yapılan en eski meyve türlerinden birisi de üzümdür. Anavatanı Anadolu'yu da içine alan Küçük Asya denilen, Kafkasya'yı da kapsayan bölgedir. 10.000'nin üzerinde üzüm çe idi bulundu u tahmin edilmektedir. Anavatanı Anadolu olan çe itler 1200'ün üzerindedir. Bunların 50-60 kadarının ekonomik üretimi yapılmaktadır. Üzüm meyvesini olu turan asma bitkisi *Vitaceae* familyasına mensuptur ve cinsi *Vitis*'dir. Günümüzde üretimi yapılan üzümlerin ço u *Vitis vinifera* türündendir (Anonim 2006a).

Türkiye'de çekirdeksiz kuru üzüm üretimi Ege Bölgesinde, özellikle Manisa ili ve ilçeleri, zmir, Denizli, Çal ve Çivril'de yo unla maktadır. Ege Bölgesinde a ırlıklı olarak "Sultaniye" çe idi yeti tirilmektedir. Ülkemiz 2001 yılında 525 bin hektar ba alanı ile dünyanın belli ba lı üretici ülkeleri arasında yer almaktadır ve dünyanın be inci büyük üzüm üreticisi konumundadır. Ya üzüm üretimimiz her yıl ortalama yakla ık 3,5 milyon ton civarındadır (Ta kaya 2003). Ülkemizde ya üzüm üretiminin yakla ık olarak % 40'ının çekirdeksiz ve çekirdekli kurutmalık olarak de erlendirildi i bildirilmektedir (Çelik ve ark. 2005).

Ülkemiz yıllık 350-400 bin tonluk üretimi ile dünyanın en büyük kuru üzüm üreticisidir. Bu de er, dünya üretiminin % 40-50'sine denktir. Üretimin yaklaşık % 75-80'i ihraç edilmektedir. Türkiye'de üretilen çekirdeksiz kuru üzümün yıllık yaklaşık 50-70 bin tonluk kısmı (toplam üretimin % 20-28'i) yurt içinde tüketilmektedir (Çelik ve ark. 2005).

Kuru üzüm ve bazı tatlı arapların üretimi bölge ve orijine de ba lı olarak çe itli endüstriyel veya geleneksel metodlar ile birlikte iyi olgunla mı üzümlerin kurutulmasını içerir. Bazı Akdeniz ülkelerinde üzümler 4-14 gün sürebilen periyotlarda direkt güne te kurutulur. Bu i lem için gerekli olan çevresel özellikler, küf geli imi için oldukça uygundur. Çe itli küf türleri taze ve kurutulmu üzümlerde % 80-% 13 oranlarında bulunmak üzere do al kontaminantlardır (Valero ve ark. 2007).

Üzümlerde görülen mikotoksinlerden en önemlisi okratoksin A'dır. 1999 yılından bu yana kuru üzümlerin okratoksin A içerdi i bilinmektedir. Kuru üzümler, arap ve üzüm suyuna göre genellikle daha fazla okratoksin A içermektedir. Avrupa ülkelerinde yapılan çalı malarda kuru üzümlerin ortalama 2,3 µg/kg okratoksin A içerdi i saptanmı tır (Tosun ve ark. 2006). nsanlarda Balkan endemik nefropatisi kayna ının okratoksin A oldu u belirlenmi tir. Günümüzde artık okratoksin A, 10'dan fazla ülkede do al bir kontaminant olarak kabul edilmektedir (Karagözlü ve Karapınar 1998).

Ülkemiz iç piyasası ve ihracatı açısından önemli olan kuru meyve çe itleri incir ve üzümdür. Sa lıklı beslenmedeki yeri nedeniyle, do al gıdaların her geçen gün önem kazandı ı günümüzde, besin de eri çok yüksek olan bu meyvelerden ilk önce Türk halkının yararlanmasının sa lanması; bu bilincin yerle tirilmesi, beslenme de erinin yeterince tanınması ve aflatoksin ile okratoksin A probleminin söz konusu olmadı ı güvenilir ürünün piyasaya arzı ile mümkün olabilecektir. Yapılan bu çalı mada kuru incir ve kuru üzümde önem arz eden aflatoksin ve okratoksin A varlı ı, toptan/perakende satı ve üretim/paketleme i letmelerinden alınan örneklerde yapılan analizler ile ortaya koyulmaya çalı ılmı tır. nsanlar üzerinde genotoksik, teratojenik, hepatotoksik, immunotoksik ve karsinojenik etkilere neden oldu u bilinen aflatoksin ve okratoksin A'nın insanlara gıdalar yoluyla bula masına neden olan kuru incir ve kuru üzümde toksin içerikleri belirlenerek, bu ürünlerin yürürlükte bulunan yasal limitlere uygunlu u tespit edilmeye çalı ılmı tır.

2. L TERATÜR B LG S

2.1. Aflatoksinlerin Yapısı ve Özellikleri

Aflatoksinler, kimyasal yapı olarak bifuron halkası ve lakton ba lantısı ta ıyan yüksek yapılı “kumarin” bile iklerdir. Difuranokumarin olarak bilinirler. Renksiz veya sarı, i ne ekinde kristallerdir (Erdem ve Özen 1990). Bu kumarin derivatlarının sayısı bugün 18'e yükselmiştir. Önemli aflatoksinler olarak, aflatoksin B₁, aflatoksin B₂, aflatoksin G₁ ve aflatoksin G₂ görülmektedir. Bu toksinlerden aflatoksin B₂ toksini aflatoksin B₁'in, aflatoksin G₂ toksini aflatoksin G₁'in dihidro formlarıdır. Aflatoksin M₁ ve aflatoksin M₂, aflatoksin B₁ ve aflatoksin B₂'nin OH içeren formlarıdır (Tunail 2000). Aflatoksin B₂ ve G₂ “in vivo” ko ullarda metabolik olarak B₁ ve G₁'e okside olmadıkları sürece biyolojik olarak inaktiftirler. B toksinleri kumarin yapıdaki lakton halkasına eklenmiş siklopentenon halkası, G toksinleri ise ek bir lakton halkası içermektedirler (Özkaya ve Temiz 2003).

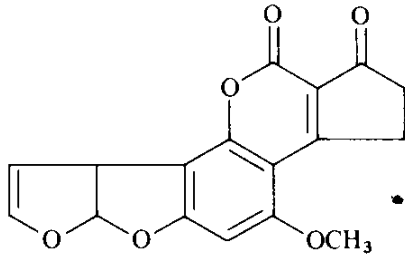
Toksinler, UV ı ı ını (362 nm) kuvvetle absorblarlar ve aflatoksin B₁ ve B₂ için 425 nm de; aflatoksin G₁ ve G₂ için ise 450 nm de floresans emisyonu olu tururlar (Özkaya ve Temiz 2003). Aflatoksinlere verilen harfler toksinlerin UV ı ını altında verdikleri floresans renkleri belirtir. B₁ ve B₂ mavi, G₁ ve G₂ ye il-mavi, M₁ mavi viyole ve M₂ viyole renkli floresans yayar (Tunail 2000).

Kloroform, metanol, etanol ve dimetilsulfoksit gibi polar organik solventler içerisinde kolayca çözünürler. Petrol eterinde ve doymuş hidrokarbürlerde hiç çözünmezler. Kloroform veya benzen içindeki çözeltileri yıllarca dayanıklıdır (Erdem ve Özen 1990). Sudaki çözünürlükleri azdır (10-30 µg/ml) (Özkaya ve Temiz 2003).

Bütün saf maddeler gibi özellikle ortamda hava olması durumunda ısıtıldıklarında yüksek sıcaklık a kar ı oldukça stabildirler. Ancak ı ı a özellikle UV radyasyona maruz kaldıklarında dayanıksızdırlar. Sıradan pi irme yöntemleri ve pastörizasyon i lemleri aflatoksinlerde çok az hasara neden olur veya hiç etkilemez (Armstrong ve ark. 1979).

Bu dört metabolit içinde gıda maddelerinde en sık görüleni ve en yüksek konsantrasyonlarda bulunanı aflatoksin B₁'dir. Bunu aflatoksin G₁ izler. Aflatoksin B₂ ve G₂ genellikle düşük konsantrasyonlarda görülmektedir (Armstrong ve ark. 1979).

Ürünlerdeki biyolojik aktiviteden aflatoksin B₁ ve daha az olarak da aflatoksin G₁ sorumludur. Bu durum, her iki toksinin terminal furan halkasınının 8, 9 karbon pozisyonunda bir doymamı ba a sahip olmasıyla ili kilendirilmektedir (Özkaya ve Temiz 2003). Aflatoksin B₁'in kimyasal yapısı ekil 2.1'de, kimyasal ve fiziksel özellikleri çizelge 2.1'de verilmi tir.



ekil 2.1 Aflatoksin B₁'in kimyasal yapısı (Anonim 2006c)

Çizelge 2.1 Aflatoksinlerin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri (Anonim 2006c)

Aflatoxin	Moleküler Formül	Molekül A ırlı 1	Erime noktası	UV absorption max (e), nm, methanol	
				265	360-362
B ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312	268-269	12,4	21,8
B ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314	286-289	12,1	24
G ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	244-246	9,6	17,7
G ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	237-240	8,2	17,1
M ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	299	14,15	21,250 (357)
M ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	293	12,100 (264)	22,900 (357)

2.2. Aflatoksinlerin Sa lık Üzerine Etkileri

Vücuda alınan aflatoksinin (özellikle aflatoksin B₁) neden oldu u akut, subakut ve kronik olarak seyreden mikotoksikosis “aflatoksikosis” denir. Aflatoksin derivatları arasında en yüksek toksisite aflatoksin B₁ ve aflatoksin B₃ (parasitikol)’e aittir, aflatoksin G₂ ve aflatoksin M₂ ise en dü ük toksisiteyi gösterir. Tarımsal ürünlerde, gıdalarda ve yemlerde en sıklıkla görülen aflatoksinlerin toksisite sıralaması; AFB₁>AFM₁=AFG₁>AFB₂>AFG₂>AFM₂ eklindedir (Tunail 2000).

Aflatoksinler yüksek dozlarda akut, sub-letal dozlarda ise kronik toksisite göstermektedirler. Aflatoksinlerin insanlarda akut zehirlenme yaptı nı gösteren olaylar literatüre geçmi tir. Tayvan’da küflü pirinç tüketen 26 ki i hastalanmı ve bunların arasında 3 çocu un, ayaklarda ödem, karın a rısı, kusma, karaci erde büyüme gibi belirtilerle öldü ü rapor edilmi tir. ncelenen pirinç örneklerinde 200 ppb aflatoksin B₁ bulundu u bildirilmi tir. Uganda’da 15 ya ında bir çocu un benzer belirtiler göstererek öldü ü, Tayland’da 3 ya ındaki bir çocu un “Reye’s sendromu” sonucu öldü ü ve çocu un 2 gün önce yedi i pirinçte 10 ppm aflatoksin saptandı ı bildirilmi tir (Özkaya ve Temiz 2003). Yine Hindistan’ın 200 köyünde görülen ve 397 hastadan 106’sının ölümü ile sonuçlanan olaylarda, tüketilen gıdaların yüksek miktarda aflatoksin ile kontamine oldu u bildirilmi tir (Tunail 2000).

Sub-letal dozlarda ancak uzun süreli aflatoksin alımı, birçok deney hayvanında karaci er kanseri ile sonuçlanmaktadır. Deney hayvanlarından alınan bu sonuçlara ba lı olarak aflatoksinin kuvvetli bir hepatokarsinojen oldu unun belirlenmesi üzerine, insanlar üzerindeki etkisini anlamak amacıyla çok sayıda epidemiyolojik çalı ma yapılmı tir (Özkaya ve Temiz 2003).

Epidemiyolojik çalı malar aflatoksin içeren gıdalarla beslenen bölge insanların da primer karaci er kanserlerine ve karaci er sirozlarına daha yüksek oranda rastlandı nı göstermi tir. Danimarka’da primer karaci er kanseri % 0,18, ABD’de % 1,7 iken sürekli yerfıstı ı ile beslenen Sudan toplumunda bu oran % 14 olarak belirlenmi tir. Ayrıca beslenmede protein eksikli ine ba lı olarak Afrika, Güney Amerika, Hint Adaları’nda çocuklarda görülen “Reye Sendromu” ve “Kwashiorkor” çocuk hastalıklarının ortaya çıkmasında aflatoksin içerikli besinlerin rol oynadı ı da ileri sürülmektedir. Özellikle tropik zonda bulunan ülke ve topluluk

halkları iklime ve beslenme biçimlerine ba lı olarak daha fazla aflatoksin iç erikli gıdalar tüketirler (Tunail 2000).

Aflatoksin molekülünün karaci er hücreleri ile birçok noktada reaksiyona girdi i, DNA ve RNA polimerazların hızlı bir inhibisyona u radı ı, özellikle mRNA sentezindeki de i ikliklerden etkilene rek protein sentezinin önemli derecede bozuldu u rapor edilmi tir. Sonuçta DNA'ya ba lı RNA sentezi ve bazı proteinlerin sentezinin azaldı ı ve hücrenin öldü ü bildirilmi tir (Erdem ve Özen 1990). Aflatoksin B₁'in, DNA köprülerinin GC diziliminin TA ekinde de i imine neden olabilece i de belirlenmi tir (Bennett ve Klich 2003).

Aflatoksin bile iklerinin ayrıca kolon, rektum, rahim a zı, meme, akci er kanseri gibi vakalarda da tespit edildi i bildirilmi tir (Özkaya ve Temiz 2003). Philips ve ark. (1976), Amerika Birle ik Devletlerinde rektum ve karaci er kanseri olan hastalardan alınan karaci er biyopsilerinde aflatoksin B₁ tespit edildi ini rapor etmi lerdir.

Bennett ve Klich (2003), Hollanda'da yerfıstı ı i lenen bir i letmenin çalı anları arasında yapılan epidemiyolojik bir çalı mada aflatoksin B₁ ile kontamine olmu yerfıstı ı tozuna maruz kalan i çilerde maruz kalmayanlara oranla kıyaslandı ında solunum yolu kanserleri ile total kanser riski arasında korelasyon oldu unu bildirmi tir.

Ülkemizde ise, 1983-1984 Kasım ayları arasında, Sağlık Bakanlı ı Kanserle Sava Daire Başkanlı ına ihbar edilen toplam 183 karaci er kanser olgusunun % 77,2'sinin aflatoksin formasyonu için elveri li iklim ko ullarına sahip oldu u varsayılabilir; Marmara, Ege ve Akdeniz bölgelerinde yo unla ması dikkat çekmektedir (Tayda 1993).

Bu epidemiyolojik, genetik ve deneysel bulgular sonucunda, Uluslararası Kanser Ara tırma Kurulu u (IARC) tarafından 1993 yılında yapılan sınıflamada, aflatoksin B₁ "yeterli kanıt elde edilmi insan karsinojenleri (sınıf 1)", aflatoksin M₁ de "muhtemel insan karsinojenleri (2B sınıfı)" iç erisinde yer almı tır. Avrupa Birli i'nin "Gıda Maddelerinde Bazı Kontaminantların Maksimum Düzeylerini Belirleyen Komisyon Direktifi" nde; özellikle aflatoksin B₁ olmak üzere, aflatoksinlerin genotoksik karsinojen maddeler oldu u, bu nedenle herhangi bir NOEL ve ADI de erinin belirlenemedi ine de inilmektedir (Özkaya ve Temiz 2003).

Aflatoksin B₁'in kanserojen etkisinin yanı sıra mutajen, teratojen ve immunosupresif etkilere sahip oldu u hayvan denemeleriyle gösterilmi tir. Immunosupresif etkisi nedeniyle aflatoksinin hayvanlarda çe itli a ılara kar ı iyi bir ba ı klık olu masını engelledi i, çe itli enfeksiyonlara (salmonellosis, koksidiomikosis) kar ı da direnci azalttı ı belirtilmi tir (Tunail 2000).

2.3. Aflatoksin Üreten Küfler ve Geli me artları

Aflatoksin filamentli funguslardan *Aspergillus* cinsine ait üç tür ve iki alt tür tarafından olu turulur. Bunlar; *Aspergillus flavus* (*A.flavus*), *Aspergillus parasiticus* (*A.parasiticus*), *Aspergillus nominus* (*A.nominus*) türleri ve *A.flavus* var. *columnaris*, *A.parasiticus* var. *globosus* alt türleridir. Bunların dı nda *Penicillium*, *Rhizopus* ve *Streptomyces* cinsleri de belirtilmi tir. 1987 yılında *A.flavus*'a fenotipik olarak benzeyen *A.nomius* ve son olarak da *Aspergillus pseudotamari* (*A.pseudotamari*) olarak isimlendirilen iki türün de aflatoksin ürettikleri belirlenmi tir (Özkaya ve Temiz 2003).

Aflatoksin olu turdu u saptanan ilk fungus *A.flavus*'dur. Bu türün bütün su larının toksini sentezlemeleri söz konusu de ildir. Gıdalardan ve yemlerden izole edilen ve toksin üretimi açısından test edilen 3000 civarında *A.flavus* su undan % 76'sının bu yetene e sahip oldu u gösterilmi tir. Türkiye'de yapılan iki ayrı çalı mada aflatoksin üretme yetene i test edilen *A.flavus* sayısı 3/18 ve 20/43 olarak belirlenmi tir. *A.flavus* bütün dünyada yaygın olarak bulunurken, *A.parasiticus* daha fazla tropik ve subtropik iklim zonlarında görülür (Tunail 2000).

Aspergillus'lar mezofilik karakterli olup 6-8 °C'den 50-60 °C'ye kadar de i en sıcaklık aralıklarında geli ebilirler. Optimum geli me sıcaklıkları 35-38 °C'dir. 10-13 °C'lerin altında ve 41-42 °C'lerin üzerinde aflatoksin olu umu sınırlanır. En yüksek toksin olu umuna ise 25-30 °C'lerde ula ılır. Yapılan denemelerde; belli sıcaklıkta ve sürede olu an aflatoksin düzeyinin, dalgalı sıcaklıklarda ve aynı sürede olu an aflatoksin düzeyinden çok daha az oldu u (1/4) gösterilmi tir. Buradan sıcaklıkların iklime ba lı olarak ini ve çıkı larının aflatoksin sentezini stimüle etti i sonucu çıkarılmı tir (Tunail 2000).

A.flavus ve *A.parasiticus* di er bazı *Aspergillus* türleri ile birlikte kserofilik küfler içinde yer alır. *Penicillium* cinsi küfler birçok fungus cinsine oranla daha dü ük su aktivitesi

de erlerinde geli ebildiklerinden kserotolerant funguslara dahildirler. *A.parasiticus* geli imi için en dü ük 0,78-0,84 su aktivitesi de erlerini talep ederken *A.flavus* en dü ük 0,78-0,82 su aktivitesi de erlerini ister. Toksin olu umu için her ikisi de biraz daha yüksek su aktivitesi de erlerine gereksinirler (*A.parasiticus* en dü ük 0,87 aw, *A.flavus* en dü ük 0,83-0,87 aw) (Tunail 2000).

Aflatoksin olu turan küf mantarlarının çe itli besinlerde geli mesi için o besindeki en uygun nem miktarının ara tırmacılar tarafından % 14-30 arasında belirlendi i belirtilmi tir. Bunun yanında *Aspergillus* cinslerinin % 13-18 gibi çok az nem içeren besinlerde dahi geli ebilece i saptanmı tir. (Erdem ve Özen 1990).

Aflatoksin olu turan küflerin en yüksek düzeyde aflatoksin olu turmaları pH 5,0-6,0'da gerçekleşir. pH 4,0'ün altındaki ortamlarda geli ip toksin olu turabilirlerse de hem misel geli imi epey yava lar hem de toksin miktarı iyice azalır. Toksin sentezlenmesine en uygun substratlar glikoz, galaktoz ve sakkarozdur. Dü ük tuz konsantrasyonlarının (% 1-3 NaCl) geli im ve toksin olu umunu olumlu etkiledi i belirtilmi tir (Tunail 2000).

Küflerin aerobik mikroorganizmalar olmaları nedeniyle oksijenin % 45'ten % 1'e dü mesinin özellikle *A.flavus*'un geli imini ve dolayısıyla aflatoksin üretimini önemli derecede azaltaca ı belirtilmi tir (Erdem ve Özen 1990). Aflatoksin olu umunun atmosferdeki O₂ konsantrasyonunun dü ü ü veya CO₂ ve N₂ gazları konsantrasyonlarının modifiye atmosfer içinde artı ı ile önemli düzeyde geriledi i belirlenmi tir (Tunail 2000).

Bu faktörlerin yanı sıra tarlada, hasatta ve depolamada görülen mekanik hasar, ürün karı tırma, kızıl ma noktaları, süre, ortamın bile imi, madensel elementler, kimyasal i lemler, bitki dayanıklılı ı, küf enfeksiyonu, bitki varyete farklılı ı, spor yükü ve mikrobiyal ekosistemin toksin olu umu üzerine etkili faktörler oldu u belirtilmi tir (Evren 1999).

2.4. Kuru incirde Aflatoksin Varlı ı

incirde aflatoksin miktarı di er meyveler ile kar ıla tırıldı ında daha yüksek de erlerdedir. incir örneklerinde aflatoksin üreticisi küf oranının çok yüksek olması, incirin pH de erinin (4,7-5,0) aflatoksin üretimine uygunlu u, aflatoksinin hasattan önce olu ması ve tek bir incir

tanesindeki aflatoksin konsantrasyonunun (180-360 µg/kg) yüksekliği incirin aflatoksin açısından riskli bir ürün olarak değerlendirilmesine neden olmaktadır (Heperkan 2005).

incirin küf konidileri ile kontaminasyonunun açta meyve üzerindeyken başlıca ve meyvelerin tozlaşma sırasında incir arıcısı (ilek sineği, *Blastophaga psenes* L.) aracılığıyla enfekte olduğu, meyveler olgunlaşırken aflatoksin kontaminasyonunun da başlıca belirtildiği görülmüştür. Elverişli ortamdan sonra kontaminasyonun daha ileri boyutlara ulaşması engellenmek isteniyorsa meyveler 48 saat süre ile en az 60 °C'de kurutulmalıdır (Tunail 2000).

Ege bölgesinde 11 farklı bahçeden 63 incir örneği üzerine yapılan çalıda hakim floranın, incirin temin edildiği ortamda farklılık göstermekle birlikte *Aspergillus niger* (*A.niger*), *A.flavus*, *A.parasiticus* ve *Fusarium* türlerini içerdiği saptanmıştır. *A.flavus-A.parasiticus* kontaminasyonu açtan toplanan olgun incirlerde % 41, toprak üzerinden temin edilenlerde % 21, güneşte kurutulmuş olanlarda % 42, depolardan temin edilenlerde % 33, işletmelerden temin edilenlerde % 25 ve incir ezmesinde % 25 olarak belirlenmiştir. *A.flavus-A.parasiticus* izolatların % 72'sinin besiyer ortamında aflatoksin ürettiği belirtilmiştir. Aynı örneklerde yapılan aflatoksin çalması sonucunda açtan toplanan örneklerde % 32, yere dökülüp toprakla temas eden örneklerde % 21, kurutma aşamasında alınan örneklerde % 17, depo örneklerinde % 33, işletme aşamasında % 25 ve ezmede % 60 oranında toksin bulunduğu bildirilmiştir. Bu bulgulara göre henüz incirler açta meyve üzerindeyken başlıca aflatoksin kontaminasyonu miktarında, kurutma ve depolama sırasında önemli artış görüldüğü belirtilmiştir (Heperkan 2005).

Buchanan ve ark. (1975) olgunlaşmamış incir meyvelerinde *A.flavus* kolonizasyonu ve aflatoksin üretiminin mümkün olmadığını, ancak olgun meyvelerin aflatoksin üretimi için elverişli olduğunu belirtmişlerdir. Yeşil incir çeşitlerinde (green mission) aflatoksin bulunmadığı görülmüştür, meyveler katı ancak olgun duruma geldiklerinde ve yumuşamaya başladıklarında dayanıklılıklarını kaybettiklerini, meyveler açta meyve üzerinde doğal halde güneşte kurumaya bırakıldıklarında fungal enfeksiyon ve kolonizasyona kolaylıkla maruz kaldıkları için kurutulmuş meyvelerde en yüksek toksin seviyelerinin belirlendiği rapor edilmiştir. Kuru meyvelerde daha fazla toksin bulunmasının nedeni, bu meyvelerin tehlike arz eden (firm-ripe stage) katı olgunluk fazına daha erken ulaşması ve fungus kolonizasyonuna daha uzun süre maruz kalması olarak belirtilmiştir.

Türkiye incirlerinin aflatoksinle kontamine oldu una ili kin ilk sinyal 1973 yılında Danimarka'ya ihraç edilen kuru incirlerimizden gelmi tir. 1976'da Ege Bölgesi'nde; a aç üzerindeki olgun incirlerden ba layarak kuru incir ve mamülleri i leme tesislerinde de i ik i lem evrelerinden alınan çe itli incir mamüllerine (lokum, ezme vb.) ait örneklerde (n=56) aflatoksin belirlenememi tir. 1986-1987 yıllarında yine sviçre ve Almanya'ya ihraç edilen kuru incirlerimizde aflatoksin bulunmu ve partiler geri çevrilmi tir. Bu ikinci uyarı üzerine Tarım ve Köyi leri Bakanlıınca ba latılan proje kapsamında incirlerin gerçekten yüksek düzeyde aflatoksin ve okratoksin A içerdikleri belirlenmi tir (Tunail 2000).

2.5. Okratoksinlerin Yapısı ve Özellikleri

Okratoksinler L-fenilalenin ile ba lantılı olarak izokumarin türevleri ile yakın benzerlik gösteren bir grubu olu tururlar. Biosentetik orijin olarak pentaketidlerden oldukları için poliketidler grubuna dahil edilmi lerdir (Carlton ve ark. 1990).

Okratoksin A'nın kimyasal yapısında fenilalanin, Cl ve OH içeren dihidroizokumarin bulunur. Cl içermeyen derivatı okratoksin B, etilester derivatı ise okratoksin C'dir. Bu iki derivat gıdalarda görülseler de dü ük konsantrasyonda bulduklarından fazlaca önem ta ımazlar (Tunail 2000). Okratoksin A'nın kimyasal yapısı ekil 2.2'de görülmektedir.

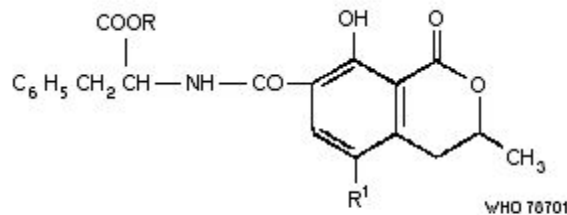


Fig. 6. The chemical structure of ochratoxins: ochratoxin A: R' = Cl, R = H; ochratoxin B: R' = H, R = H; ochratoxin C: R = Cl, R' = C₂H₅; methyl ester of ochratoxin A: R = ²Cl, R = CH₃; methyl or ethyl ester of ochratoxin B: R' = H, R = CH₃ or C₂H₅.

ekil 2.2 Okratoksin A'nın kimyasal yapısı (Anonim 2006d)

Scott (1996) tarafından belirtildi ine göre okratoksin A renksiz, kristal yapıdadır; suda az, polar organik çözücülerde ve seyreltik sulu sodyum bikarbonat çözeltisinde iyi çözünür, UV 1 ınları altında mavi renkte floresans verir. Benzende kristallendi inde buharla ma noktası 90

°C sıcaklıktadır. Ksilenden kristallendirildi inde ise buharla ma noktası 169 °C sıcaklıktadır. Optik olarak aktiftir. Okratoksin A'nın önemli bir kimyasal reaksiyonu karboksil grubuyla girdi i esterle me reaksiyonudur. Metil esteri okratoksin A'nın belirlenmesinde kullanılır.

Okratoksin A'nın diazometanla reaksiyonundan sonra o-metilester meydana gelir. Okratoksin A asitle ya da enzim gibi kuvvetli uygulamalarla L- -fenilalanin ve 7-karboksi-5kloro-3,4-dihidro-8 hidroksi-3 metilizokumarin'e (okratoksin) dönü ebilir. Okratoksin A'nın Fe⁺³ kompleksi bir enzimatik redüktaz varlı nda hidroksil radikaller üretti i görülür ve bu radikallerin kısmen okratoksin A'nın toksisitesinden sorumlu oldu u ileri sürülür (Metin 2006).

Okratoksin A genel olarak stabil bir moleküldür. Etanol solüsyonunda buzdolabında bir ya da daha fazla yıl muhafaza edilebilir. Farklı gıdalarda yapılan çalı malar okratoksin A'nın sıcaklı a kar ı dayanıklı oldu unu gösterir. Tomova (1977) ve Scott (1993)'un bu konuda yaptı ı çalı malarda, do al olarak bu dayda bulunan toksinin 200 °C'lik sıcaklıktan etkilenmedi i, 250-300 °C sıcaklıkta 40 dakika bekletildi inde toksinin % 32'sinin parçalandı ı tespit edilmi tir. Patterson (1977), Josefson ve Möller (1980), Scott (1984), domuz eti ve sakatatların 150-160 °C sıcaklıkta pi irilmesiyle toksin miktarında % 20 azalma meydana gelirken, ya dokusunda bulunan toksinde hiç kayıp olmadı ını bildirmektedirler. Okratoksinle kontamine olmu unda, ekmek pi irme sırasında az bir kayıp oldu u gözlenirken; bisküvi yapımında çok daha fazla toksinin parçalandı ı bildirilmektedir (Metin 2006).

2.6. Okratoksin A'nın Sa lık Üzerine Etkileri

Aspergillus toksinleri arasında sadece okratoksin A potansiyel olarak aflatoksin kadar önemlidir. Okratoksin A'nın nefrotoksin olmasının yanı sıra, karaci er toksini (hepatoksin), immun sistem baskılayıcısı (immun suppressive), potansiyel teratojen ve karsinojen oldu u çe itli çalı malar ile belirlenmi tir (Bennett ve Klich 2003).

Okratoksin A'nın toksik etkileri üzerine yapılan çalı malar yaygın olarak çe itli deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilmektedir. Huff ve ark. (1979), okratoksin A içeren diyetlerle beslenen tavuklarda önemli oranda (P<0,05) kan hücre yo unlu unda ve eritrosit sayısında

de i me olmaksızın hemoglobin konsantrasyonunda ve kan serumu demirinde dü me gözlendi ini bildirmi ler ve ciddi okratoksikozda kansızlık görülebilece ini belirtmi lerdir.

Hayes ve ark. (1980), hamile farelere 5 mg/kg vücut a ırlı ı okratoksin A verilmesi sonucunda do um öncesi birey ölümlerinde artı , cenin a ırlı ında azalma, ceninde çe itli malformasyonlar gözlediklerini bildirmi lerdir (Carlton ve ark. 1990).

Konrad ve Roseenthaler (1977) okratoksin A'nın tav anlarda protein sentezinde inhibitör oldu unu ve karbonhidrat metabolizmasını etkiledi ini belirtmi lerdir. Suzuki ve Satoh (1973)'un çalı maları sonucunda, okratoksin A'nın 15 mg/kg vücut a ırlı ı olan tek oral dozunun 4 saat sonunda karaci erde glikojen düzeyinde azalmaya ve kalp glikojen seviyesinde artı a neden oldu u bildirilmi tir (Carlton ve ark. 1990).

Kane ve ark. (1986) yaptıkları çalı mada tav anlara, 12 hafta boyunca toplamda 4mg/kg alım seviyesine ula ılacak ekilde oral yolla okratoksin A verilmesi sonucunda böbrek ve karaci er dokularında DNA'da tek iplik kopukluklarının meydana geldi ini belirlemi lerdir (Carlton ve ark. 1990).

Harvey ve ark. (1992); Stormer ve Lea (1995); Müller ve ark. (1995). okratoksinin ng/ml aralı ındaki çok dü ük konsantrasyonlarının ba ı klık sistemini etkileyebildi ini ve okratoksin A'nın immun sistemi baskılayan (immunosuppressive) bir ajan oldu unu belirtmi lerdir (Petzinger ve Weidenbach 2002).

Okratoksin A'nın esas etkisinin fenilalenin metabolizmasında rol oynayan enzimler üzerine oldu u, fenilalenin -tRNA kompleksi sentezinde enzimi engelledi i belirtilmi tir. Ayrıca mitokondriyal ATP üretimini de engelledi i ve lipit peroksidasyonunu te vik etti i rapor edilmi tir (Bennett ve Klich 2003).

Schlatter ve ark. (1996) toksinin insanlardaki yarılanma ömrünün oral olarak alımdan sonra 840 saat (35 gün) oldu unu bildirmi lerdir. Toksin, IARC (1993) tarafından insanlarda kansere neden olan olası maddeler (grup 2B) arasında sayılmı tir (Petzinger ve Weidenbach 2002).

Okratoksin A insanlarda görülen endemik Balkan nefropati adı verilen hastalığın etmenidir. Bu hastalık Tuna nehri boyunca yer alan Romanya, Bulgaristan ve eski Yugoslavya sınırları içinde kalan alanlarda yaygın insanlarda görülen, böbreğin ilerleyen kronik iltihabi durumudur (Bennett ve Klich 2003).

Hult ve ark. (1982) tarafından endemik nefropatinin yaygın olarak görüldüğü eski Yugoslavya'da yapılan bir çalışmada 639 serum örneği incelenmiş, 42 tanesinde (% 6,6) okratoksin A tespit edilmiş ve bildirilmiştir. Polonya'da Colinski (1987) tarafından yapılan başka bir çalışmada 1065 örnekten 77'sinde (% 7,2) okratoksin A tespit edilmiştir. Heptinstall (1974)'in çalışmaları, otopsi sonuçları böbreklerde küçülme olduğunu göstermiştir. Histolojik lezyonlar, tübül dejenerasyon ve böbrek korteksi yüzeyinde glomeruli görüldüğü bildirilmiştir (Carlton ve ark. 1990).

SCF (1998) okratoksin A'ya maruz kalma oranının azaltılmasında oldukça dikkatli olunmasını, günlük alım miktarı olan vücut ağırlığı başına 1,2-14 ng/kg değer aralığında maksimum miktarların hedeflenmesini önermiştir (Olsen ve ark. 2003).

JECFA'nın 2001 yılında 56.'sı yapılan toplantısında, daha önce yayınlanmış olan haftada alınabilecek tolere edilebilir toksin miktarı vücut ağırlığı başına 100 ng/kg olarak kabul edilmiş olup, bu miktar yaklaşık olarak günlük vücut ağırlığı başına 14 ng/kg toksine denk gelmektedir (Olsen ve ark. 2003).

2.7. Okratoksin Üreten Küf Türleri ve Gelişimleri

Okratoksin A ilk kez 1965 yılında mikotoksinler üzerine yapılan bir çalışmada fungal metabolitlerin incelenmesi sırasında *Aspergillus ochraceus* (*A.ochraceus*) küfünün sekonder metaboliti olarak tespit edilmiştir. Okratoksin ailesinin üyeleri arasında çoğu *Aspergillus* türlerine ait olmak üzere diğer metabolitler yer alır. Bu *Aspergillus* türleri arasında *Aspergillus alliaceus* (*A.alliaceus*), *Aspergillus auricomus* (*A.auricomus*), *A.carbonarius*, *Aspergillus glaucus* (*A.glaucus*), *Aspergillus melleus* (*A.melleus*), *Aspergillus petrakii* (*A.petrakii*) ve *A.niger* sayılabilir. Erken dönemdeki çalışmalarda *Penicillium* türleri üzerinde durulmasının yanında, günümüzde arpada önemli olan *Penicillium verrucosum* (*P.verrucosum*) türünün bu tür içinde en önemli okratoksin üreticisi olduğu düşünülmektedir (Bennett ve Klich 2003).

A.ochraceus'un optimum gelişme sıcaklığı 28 °C'dir. Okratoksin A oluşturabilmek için de 20-30 °C sıcaklığına gereksinir. En yüksek düzeyde toksini 30 °C'de % 95 bağıl nemde üretir. Sıcaklık derecesi azalırse daha yüksek bağıl nem ihtiyacı doğurur. *Penicillium* türleri ise düşük sıcaklıklarda toksin oluşturabilirler. *P.verrucosum* 5-10 °C sıcaklıkta okratoksin üretir. Sıcak iklimlerde yetiştirilen tahıllarda okratoksin A kontaminasyonundan sorumlu küf *A.ochraceus*; Kanada, skandinav ülkeleri gibi soğuk serin iklimlerde yetiştirilen tahıllarda toksin üretiminden sorumlu küfler *Penicillium aurantiogriseum* (*P. aurantiogriseum*) ve *P.verrucosum*'dur. Bu iki tür (-2) °C'de bile gelişimlerini artırır da olsa sürdürebilirler (Tunail 2000).

A.ochraceus kseroofilik küflerden sayılır. Spor çimlenmesi ve gelişimi için minimum su aktivite derecesi 0,76-0,83 arasındadır. *P.aurantiogriseum* ve *P.verrucosum* gelişimi için minimum su aktivitesi dereceleri oldukça düşüktür (0,79; 0,80-0,81). Ancak okratoksin A oluşumu için bütün türlerin daha yüksek su aktivitesi derecelerine ihtiyaçları vardır. Özellikle *P.aurantiogriseum* minimum 0,97-0,99 su aktivitesi derecelerini talep eder (Tunail 2000).

2.8. Üzümde Okratoksin A Üreten Küflerin Varlığı

Okratoksin A; tahıllar dışında arap, üzüm suyu, kuru üzüm, kahve, baharatlar, kakao gibi gıda maddelerinde de bulunabilmektedir (Petzinger ve Weidenbach, 2002). Üzüm çeşitleri ve türleri arasında en yüksek okratoksin A seviyeleri tatlı araplar (7,60 µg/l) ve kuru üzümde (> 53µg/kg) bulunmuştur. Bu ürünlerde bulunan okratoksin A *Aspergillus* türü küflerin *nigri* bölümüne ait suşular (*A.niger* ve çoğunlukla *A. carbonarius*) tarafından üretilir (Valero ve ark. 2007).

Abarca ve ark. (2004) okratoksin A'nın üzümün enfeksiyonu süresince siyah *Aspergillus* spp. tarafından üretildiğini ve ana toksijenik suşuların *A.carbonarius* ve daha az olarak *A.niger* olduğunu belirtmişlerdir (Leong ve ark. 2006).

Siyah *Aspergillus* suşuları, salkımın oluşumundan itibaren oldukça az miktarda salkımlarda bulunmakta ve oranı erken hasattan itibaren artmaktadır. Okratoksin A bağıl ortamında üretilmekte, ancak genellikle hasada kadar tespiti yapılmamaktadır. Depolama taze üzüm tanelerinden izole edilebilecek okratoksin üreticisi küf miktarında artışa neden olmazken, SO₂ varlığı ile üzümde bulunan okratoksijenik küf oranının 20 °C'de 7 gün veya 0 °C'de 30 gün depolama ile azaldığı belirtilmiştir. Hasat sonrasında üzümün etanole batırılması, depolama

sonrasında üzüm yüzeyinden izole edilebilecek küf miktarında azalmaya neden olur (Valero ve ark. 2007).

Battilani ve Pietri (2002) tarafından, talya'da yapılan ara tırmada, incelenen ba ların çok azında *Aspergillus* ve/veya *Penicillium* türlerinin meyve olu umunun ba ında üzüm üzerinde oldu u tespit edilmi , tespit edilen türlerin % 95'inin *Aspergillus* cinsine mensup oldu u, *A.niger*'in dominant oldu u, ancak okratoksin pozitif su ların yakla ık % 50'sinin *A.carbonarius* olarak tanımlandı ı bildirilmi tir.

Belli ve ark. (2004) tarafından yapılan çalı malar üzümelerde önemli okratoksin A üreticisi küf türlerinin *A.carbonarius*, *Aspergillus fumigatus* (*A.fumigatus*), *Penicillium pinophilum* (*P.pinophilum*) oldu unu göstermi tir. Üzümler üzerine yapılan de i ik çalı maların pek ço unda *A.niger* ve *A.carbonarius* izolasyonu *A.ochraceus*'dan fazla olmasına kar ın, yüksek oranlarda okratoksin A pozitif su lar *A.ochraceus* türüne ait olarak tespit edilmi tir. Belli ve ark. (2004) ve Da Rocha Rosa ve ark. (2002) yaptıkları çalı malarda, spanya ve Brezilya üzümlerinden sırasıyla % 30 ve % 40 oranlarında okratoksin A pozitif *A.ochraceus* türünü izole etmi lerdir. Bu çalı malar göstermi tir ki *A.ochraceus* izolatları, *A.nigri*'den daha yüksek miktarlarda okratoksin A üretmektedirler (Pardo ve ark. 2005).

Battilani ve ark. (2003) yapımı oldukları çalı mada SGM besiyerinde *A.carbonarius* ve *A.niger*'in optimum geli melerini 25-35 °C sıcaklık ve 0,95-0,99 su aktivitesinde, optimum toksin üretimini ise 15-20 °C sıcaklık ve 0,95-0,98 su aktivitesinde gerçekle tirdiklerini bildirmi lerdir (Leong ve ark. 2006)

Okratoksin A üretiminde zamanla olan de i im gözlendi inde, bütün di er artlarda (sıcaklık, su aktivitesi vb.) olu an de i imlerin toksin üretimini maksimum veya yakın de erlere ula tırmasına ra men okratoksin A konsantrasyonunun zamana ba lı olarak azaldı ı bildirilmi tir (Leong ve ark. 2006).

Pardo ve ark (2005) tarafından yapılan çalı mada, % 80 ba ıl nem ortamında 14 günlük inkübasyon sonunda *A.ochraceus* izolatlarının yüksek oranlarda geli ti i, *A.ochraceus* izolatlarının gözle görünür geli iminin sadece % 80 ba ıl nem ve 10 °C'de engellendi i gözlenmi , test edilen faktörler arasında sıcaklı ın ba ıl nemden daha az kısıtlayıcı oldu u sonucu rapor edilmi tir. Okratoksin A üretimi için gereken ba ıl nem ve sıcaklık de er

aralıklarının, üzümde fungal gelişme için gereken de erlerden daha dar olduğu belirtilmiştir. Hasat ile kurutma arasında geçen sürede yüksek sıcaklık de erlerinin oluşması ve üzümlerde yüksek ba ıl nem birikiminin engellenmesinin fungal gelişimi ve olası okratoksin A oluşumunu önleyebilece i belirlenmiştir.

Lai ve ark. (1970) tarafından sentetik besiyerinde yapılan çalışmada, *A.ochraceus*, *Aspergillus sulphureus* (*A.sulphureus*) ve *A.melleus* su larının maksimum toksin üretiminin pH 6-6,3 arasında ve ortamda glikoz ve sukroz varlığı nda olduğu u bildirilmiştir.

Valero ve ark. (2007), kurutma prosesi ile *A.nigri* su larının enfeksiyon yüzdelerinde artışı oldu unu, hasadın hemen ardından uygulanan güne te kurutma i leminin; özellikle hasat ve kurutma proseslerinin etkisi ile berelenmiş üzümlerde, bu küfün kolayca gelişimi ve okratoksin A üretimi için oldukça önemli olduğu u bildirmişlerdir.

Abrunhosa ve ark. (2002) kurutma prosesinin, 15. güne kadar okratoksin A seviyesinde artışa neden olduğu u, bunun nedeninin üzümde a ırlık kaybının önemli boyutlara ulaşmasına kadar geçen zamanda oluşan toksin sentezi olduğu u belirtmişlerdir (Valero ve ark. 2007).

2.9. Kuru incirde Okratoksin A Üreten Küflerin Varlığı

incirde okratoksin A üreticisi siyah *Aspergillus* üyelerinin varlığı okratoksin A açısından risk oluşturabilir. Kuru incirde *A.flavus* ve *A.parasiticus* kadar incelenmesi gereken bir di er küf türü de *A.niger*'dir. 1994 yılında birçok bakımdan *A.niger*'e benzerlik gösteren *A.carbonarius* küfünün okratoksin üretti i belirlenmiştir. *A.carbonarius* literatürde sıklıkla rastlanan bir küf de ildir. Ancak bu durumun daha az bulunmasından dolayı, tüm siyah renkli *Aspergillus* izolatlarının *A.niger* olarak tanımlanmasından ileri geldi i bildirilmektedir. Siyah conidiuma sahip üç küf türü ile yapılan çalışmada 470 *A.niger*, 245 *A.carbonarius* ve 200 *Aspergillus japonicus* (*A.japonicus*) izolatu okratoksin oluşumları bakımından incelenmiştir. Toksin oluşumunu asıl küfün *A.carbonarius* olduğu u görülmü ş, tüm izolatları okratoksin üretmiştir. *A.niger* nadiren ve düşük konsantrasyonda okratoksin üretmektedir. *A.japonicus* ise toksin üretmemektedir. *A.carbonarius*'un, *A.niger*'in bulunduğu tüm ortamlarda gelişti i bildirilmektedir (Heperkan 2005).

Heperkan (2005) tarafından yapılan çalışmada *A.flavus* ve *A.parasiticus* üzerine yapılan çalışmada tüm siyah renkli küfler *A.niger* olarak tanımlanmıştır. İncirde *A.niger* oranlarına bakıldığında; yere dökülen örneklerde % 64,3, kurutmada % 75, depolama ve ezme örneklerinde % 100'dür. Bu yüksek değerler kuru incir örneklerini okratoksin A bakımından riskli hale getirmektedir.

Türkiye'de 1990-1994 yıllarında taranan kuru incir örneklerinin (n=92) % 17,4'ü aflatoksinle kontamine bulunmuş, % 1'inin okratoksin A içerdiği saptanmıştır. Türkiye için önemli bir ihracat ürünü olan ve iç pazarda da sevilerek tüketilen kuru incirde aflatoksin düzeyinin yanı sıra okratoksin A içeriklerini de azaltmaya çalışmak için daha fazla önlem almak gerekmektedir. (Tunail 2000).

UV lambası altında parlak sarı-yeşil renkte floresans veren kuru incirlerin seleksiyonu oldukça olumlu sonuçlar verir. Bu parlak sarı-yeşil renkli floresansa, incirde *A.flavus* grubu küflerin olduğu ve aflatoksinin dışında okratoksin A da neden olmaktadır. Çalışmalarda incelenen kuru incir örneklerinin % 20'sinin 5-12 µg/kg düzeyinde okratoksin A ile kontamine oldukları da gösterilmiştir (Tunail 2000).

2.10. Kuru Meyvelerde Aflatoksin Miktarını Belirleyen Yasal Düzenlemeler

Avrupa Birliği'nin (AB), 20.12.2006 tarih ve 1881/2006 sayılı komisyon kararı ile doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya benzeri fiziksel işlemler görecektir olan yağılı kuru meyveler, yağlı tohumlar ve kurutulmuş meyveler için toplam aflatoksin değeri 10 µg/kg, aflatoksin B₁ değeri 5 µg/kg olarak belirlenirken; doğrudan tüketime sunulacak veya bir gıda maddesinin üretiminde bileşeni olarak kullanılacak yağlı kuru meyveler, yağlı tohumlar, kurutulmuş meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar için toplam aflatoksin değeri 4 µg/kg, aflatoksin B₁ değeri 2 µg/kg olarak belirlenmiştir. Ülkemizden AB ülkelerine ihracatı yapılan bütün ürünler 2 ve 4 µg/kg limitleri kapsamında değerlendirilmektedir (Anonim 2008).

17.05.2008 tarihli resmi gazetede yayımlanarak yürürlüğe giren 2008/26 tebliğ numaralı "Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ" ile fındık, antep fıstığı gibi sert kabuklu meyveler, yer fıstığı, yağlı tohumlar, kuru meyveler ve bunlardan

üretilemi i lenmi gıdalar için toplam aflatoksin de eri maksimum 10 µg/kg, aflatoksin B₁ de eri ise 5 µg/kg olarak belirlenmi tir (Anonim 2008).

2.11. Kuru üzüm ve Kuru incirde Okratoksin A Miktarını Belirleyen Yasal Düzenlemeler

Avrupa Birli i (AB), 20.12.2006 tarih ve 1881/2006 sayılı komisyon kararı ile kuru üzüm ve kurutulmu arap meyveleri için okratoksin A maksimum seviyesini 10 µg/kg olarak belirlemi tir. Kuru incir de dahil olmak üzere di er kuru meyve çe itleri için böyle bir limit henüz belirlenmemi tir. Avrupa Birli i'ne ba lı ara tırma alt komisyonları tarafından tartı maya açılmak üzere yayımlanan düzenlemelerde, kuru incir için toksin limitinin 8-10 µg/kg olarak önerilmi oldu u görülmektedir (Anonim 2008).

Türk Gıda Kodeksi “Gıda Maddelerindeki Bula anların Maksimum Limitleri Hakkında Tebli (2008/26)” de kurutulmu asma meyvelerinde (ku üzümü, kuru üzüm ve çekirdeksiz üzüm dahil) okratoksin A varlı ı için maksimum yasal limit 10 µg/kg olarak belirlenmi tir. İlgili tebli de kuru incir için ayrıca bir yasal limit mevcut de ildir. Ancak di er gıda maddeleri (bulunması muhtemel riskli gıdalar için) 10 µg/kg maksimum limit belirlenmi tir (Anonim 2008).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1 Kuru incir

Kuru incirde toplam aflatoksin ve aflatoksin B₁ varlığını ara tırmaya yönelik olarak toplam 27 adet kuru incir örneği üretim/paketleme tesisleri ile toptan ve perakende satı noktalarından, “Gıda Maddelerinde Mikotoksinlerin Seviyesinin Resmi Kontrolü için Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği (Tebliği No:2007/21)” esas alınarak tesadüf örnekleme yöntemine göre alınmıştır (Anonim 2008). Satı noktalarından alınan orijinal ürün ambalajlı örnekler en az 300 g, üretim/paketleme tesislerinden dökme üründen tartılarak alınan örnekler en az 500 g’dır. Bekleme süresince soğuk ve ıksız ortamda muhafaza edilmiştir.

Kuru incirde okratoksin A varlığını ortaya koymak amacıyla toplam 15 adet örnek farklı toptan ve perakende satı noktalarından ilgili tebliğ hükümleri esas alınarak tesadüf örnekleme metoduyla alınmıştır (Anonim 2008). Numuneler orijinal perakende ambalajları ile 300 g’dan az olmayacak şekilde alınmıştır. Analize alınıncaya kadar buzdolabında saklanmıştır.

3.1.2 Kuru üzüm

Çalı mada kullanılan toplam 52 adet kuru üzüm örneğinin 14’ü üretim/paketleme tesislerinden, 38 adedi toptan ve perakende satı noktalarından olmak üzere, ilgili tebliğ hükümleri esas alınarak tesadüf örnekleme yöntemine göre alınmıştır (Anonim 2008). Örnekler toptan/perakende satı noktalarından orijinal perakende ambalajları ile veya üretim/paketleme tesislerinde ise büyük miktardaki dökme üründen tartılarak en az 500 g olacak şekilde alınmıştır. Alınan örnekler analizleri yapılıncaya kadar buzdolabında saklanmıştır.

3.2. Metod

Kuru incir ve kuru üzümde okratoksin A analizleri ile kuru incirde aflatoksin analizleri Tarım ve Köyi leri Bakanlığı İstanbul Kontrol Laboratuvarında yapılmı tır.

3.2.1 Kuru yemi ler, ya lı kuru meyveler ve kuru incirde aflatoksin analizi metodu (HPLC metodu)

Aflatoksin analizi AOAC'nin 999.07 nolu metodu kullanılarak HPLC ile yapılmı tır (AOAC, 2000).

A. Sistem ko ulları

HPLC sistemi	: Agilent 1100
Dedektör	: Floresans dedektör; ex.: 360 nm, em.: 440 nm
Kolon	: C:18 (4,6 mm x 250 mm x 5 µm)
Akı Hızı	: 1 ml/dakika
Türevlendirme	: Kolon sonrası elektro kimyasal hücre ile üretilmi brom ile
Mobil Faz	: su : asetonitril : metanol (6 + 2 + 3 v/v/v) 120 (mg/L mobil faz) KBr + 100 (µL/L mobil faz) % 65 HNO ₃

B. Kullanılan kimyasallar

Fosfat tamponlu tuz (PBS) : 0,2 g potasyum klörür, 0,2 g potasyum dihidrojen fosfat, 1,16 g disodyum hidrojen ortofosfat (veya 2,92 g hidrojen fosfat 12H₂O) ve 8 g sodyum klörür 0,9 L distile suda çözülmü tür. Tamamen çözüldükten sonra 0,1 mol/L HCl veya 0,1 mol/L NaOH kullanarak pH 7,4'e ayarlanmı tır. Distile su ile litreye tamamlanmı tır.

Sodyum klörür

Asetonitril : HPLC için uygun kalitede

Metanol : teknik kalite

Metanol : HPLC için uygun kalitede

Benzen

Saf su	: HPLC için uygun kalitede
Ekstraksiyon çözeltisi	: Metanol / Su [8+2 (v+v)]
HPLC mobil fazı	: Su / Asetonitril / Metanol [6+2+3 (v+v+v)]
karışımı hazırlanmıştır. Çözeltinin 1 litresine 120 mg potasyum bromür ve 350 µl nitrik asit ilave edilmiştir. Kullanmadan önce süzümü tür.	
Benzen/Asetonitril çözeltisi	: Benzen / Asetonitril [98+2 (v+v)]
Potasyum bromür	
Nitrik asit	: 4 mol/L
Aflatoksin B1, B2, G1, G2 standartları	: Kristal halde
immunoafinite kolon	: Aflaprep (Rhone Diagnostis Technologies) 4-8 °C'de muhafaza edilmiştir. immunoaffinitite kolon kullanılmadan önce oda sıcaklığına gelmesi beklenmiştir.

C. Ekstraksiyon

50 g numune tartılmış üzerine 5 g NaCl ve 200 mL ekstraksiyon solventi (% 80 metanol : % 20 su) ve 100 mL hekzan ilave edilmiştir. Blenderin kapağı kapatılarak yüksek hızda 3 dakika karıştırılmıştır. Ekstrakt filtre kağıdından süzümü ve filtrattan 10 mL pipetle alınmış ve behere konulmuş ve üzerine 60 mL PBS ilave edilmiştir. yice karıştırılmış ve numunenin tamamı 1-2 damla/saniye sabit hızla AflaTest P® kolonundan geçirilmiştir. Kolondan yaklaşık 2 damla/saniye sabit hızla 15 mL su geçirilerek kolon yıkanmıştır. Kolona 0,5 mL metanol aktarılıp yerçekimi ile vialde akması beklenmiştir. 1 dakika bekledikten sonra 0,75 mL metanol ile aynı işlem tekrarlanmıştır. Viale 1,75 mL su ilave ederek toplam hacmi 3 mL'ye tamamlanmış, eluat 0,45 µm'lik ıringa ucu filtreden süzöldükten sonra HPLC'ye enjekte edilmiştir.

3.2.2. Kuru üzüm ve kuru incirde okratoksin A analizi (HPLC metodu)

Okratoksin A analizleri Anonim (1998)'e göre HPLC ile yapılmıştır.

A. Sistem Koşulları

HPLC : Agilent 1100

Pompa : 1 mL/dakika akı hızında
Otosampler : 100 µl enjeksiyon yapabilen
Kolon : C18 geri dönü fazı 5 µm ODS 2,5 mm x 25 cm
Dedektör : Floresans dedektör, flow cell emission 460 nm, excitation 333 nm
Kolon fırını : 45 +/- 0,5 °C

B. Kullanılan kimyasallar

Okkratoksin A standardı

Kalibrasyon standartları

Asetonitril (CH₃CN) : % 99,9 LC grade
Sodyum hidroksit (NaOH) : % 98
Sülfürik asit (H₂SO₄) : % 95
Ekstraksiyon solventi : 7/3 (v/v) metanol/ultra saf su
Asetik asit (CH₃COOH) : % 99
Metanol (CH₃OH) : % 99,9 LC grade
Enjeksiyon solventi : 98/2 v/v metanol/asetik asit
Seyreltme ve yıkama solüsyonu : % 0,01 Tween 20 PBS (0,1 mL Tween 20 + 1000 mL PBS)
Tuz (NaCl) : % 99,5
Tween 20
Disodyum hidrojen orto fosfat : % 99
Potasyum dihidrojen fosfat : % 99
Potasyum klorit : % 99
0,2 M Sodyum hidroksit : 1 L suda 8 g NaOH çözülür.
Fosfatlı buffersalin – PBS : 8 g NaCl, 1,16 g Na₂HPO₄, 0,2 g KH₂PO₄ ve 0,2 g KCl bir L saf suda çözülmü tür.
Azot gazı ve düzene i
HPLC mobil faz : 99/99/2 v/v/v ultra saf su/asetonitril/asetikasit karı ımı 0,2 µm polisulfone filtreden süzölmü tür.
Toluen : % 99,6
Toluen-asetik asit : 99/1 v/v toluen/asetikasit
0,009 M H₂SO₄ : ki L saf su içerisine 1 mL H₂SO₄ ilave edilir.
Hazırlanan çözeltilinin molaritesi: 0,009 M'dür.

Potasyum dikromat 0,265 mM : 78 mg $K_2Cr_2O_7$ bir L 0,009 M H_2SO_4 içerisinde çözülmü tür.

Potasyum dikromat 0,132 mM : 0,265 mM'lük $K_2Cr_2O_7$ çözeltisinin 25 mL' si 25 mL 0,009 M H_2SO_4 ile seyreltilmi tir.

Potasyum dikromat 0,066 mM : 132 mM'lik $K_2Cr_2O_7$ çözeltisinin 25 mL'si 25 mL 0,009 M H_2SO_4 ile seyreltilmi tir.

mmunoafinite kolon : Aflaprep (Rhone Diagnostis Technologies) 4-8 °C'de muhafaza edilmi tir. mmunoaffiniti kolon kullanılmadan önce oda sıcaklığına gelmesi beklenmi tir.

C. Ekstraksiyon

Numunenin tamamı 50 g/60 mL (numune/ultra saf su) ile orantılı olarak artan miktarlarda su ilavesi ile iyice homojen edilmi tir. Homojen sulu numuneden 110 g blendır kabına tartılmı tır (50 g numune + 60 g su). Bu 50 g numuneyi temsil eder. Üzerine 140 mL metanol ilave edilmi tir. (Üzümü homojenize etmek için kullanılan 60 mL saf su da hesaba katılınca ekstraksiyon solventi toplam 200 mL % 70'lik metanol solüsyonundan oluşur). Blendır yüksek hızda 1 dk karıştırılmı tır. Ekstrakt katlı filtre kağıdından süzölmü tür. Filtrattan 10 mL behere alınmı , üzerine 40 mL seyreltme ve yıkama solüsyonu (0,1 mL Tween-20 + 1000 mL PBS) ilave edilerek iyice karıştırılmı tır. Seyreltilmi filtratın 20 mL'si 1-2 damla/saniye sabit hızla mmunoaffiniti kolondan vakum manifoldu ile geçirilmı tir. 20 mL filtrat = 4 mL numune = 1 gr numuneyi temsil eder. Kolondan önce yaklaşık 1-2 damla/saniye sabit hızla 10 mL % 0,01 Tween 20 PBS geçirilmı , sonra kolondan yaklaşık 1-2 damla/saniye sabit hızla 10 mL saf su geçirilmı tir. Kolunun altına vial yerleştirilmı , kolondan yaklaşık 1-2 damla/saniye sabit hızla 1,5 mL enjeksiyon solventi (HPLC dereceli metanol, % 2 asetik asit katılmı) geçirilerek kolonda tutulmuş olan okratoksinler kolondan ayrılıp vialde alınmı tır. Vialde 1,5 mL saf su ilave edilmi ve vorteksle karıştırılmı tır. 100 µl HPLC'ye enjeksiyon yapılmı tır.

D. Hesaplama

Ekstraksiyonlar sonucunda vialdeki 3 mL solventin içinde 1 g numune bulundu u kabul edilmi tir. Dilüsyon faktörü 30'dur. HPLC'nin okudu u sonuç 30 ile çarpılarak 1 g numune

içerisindeki okratoksin miktarı ng olarak bulunmu , sonuç ppb olarak verilmi tir.

$$W_{OTA} = (Ma) \times \frac{V1}{V2} \times \frac{1}{V4} \times \frac{1}{Ms}$$

Ma: HPLC okunan kromotogram sonucu.

V1: Ekstraksiyon solventinin hacmi (mL)(200 mL)

V2: immunoaffinite kolonundan geçirilen numune süzütüsünün hacmi (4 mL)

V3: Test çözeltisi (mL)(3 mL=3000 µl)

V4: HPLC enjeksiyon hacmi (100 µl)

Ms: Numune miktarı (50 g)

4.ARA TIRMA SONUÇLARI ve TARTI MA

4.1. Kuru incir Örneklerinde Toplam Aflatoksin ve Aflatoksin B₁ Varlı ı

2006 yılında 12 adedi toptan/perakende satı noktalarından, 3 adedi üretim/paketleme tesislerinden olmak üzere toplam 15 adet kuru incir örne i analize alınmı tır (Çizelge 4.1). Örneklerin % 87'sinde toplam aflatoksin ve aflatoksin B₁ tespit edilmezken, % 13'ünde (2 örnek) tespit edilmi tir. Aflatoksin tespit edilen 2 örne in, yasal limitlerin üzerinde oldu u belirlenmi tir.

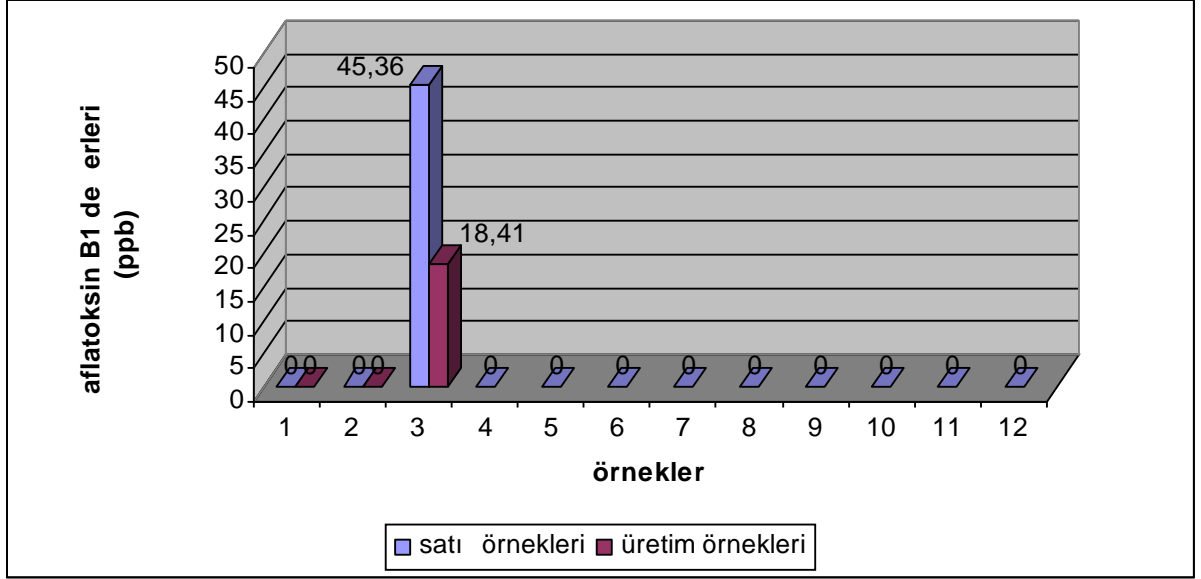
Toptan/perakende satı noktalarından alınan kuru incir örneklerinin % 8,33'ünde, üretim/paketleme tesislerine ait örneklerin % 33,3'ünde aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin tespit edilmi olup, bu de erler “Gıda Maddelerindeki Bula anların Maksimum Limitleri Hakkında Tebli (2008/26)” ile belirlenmi olan yasal de erlerin oldukça üzerindedir.

Çizelge 4.1 Kuru incir örneklerine ait toplam aflatoksin ve aflatoksin B₁ de erleri (µg/kg)

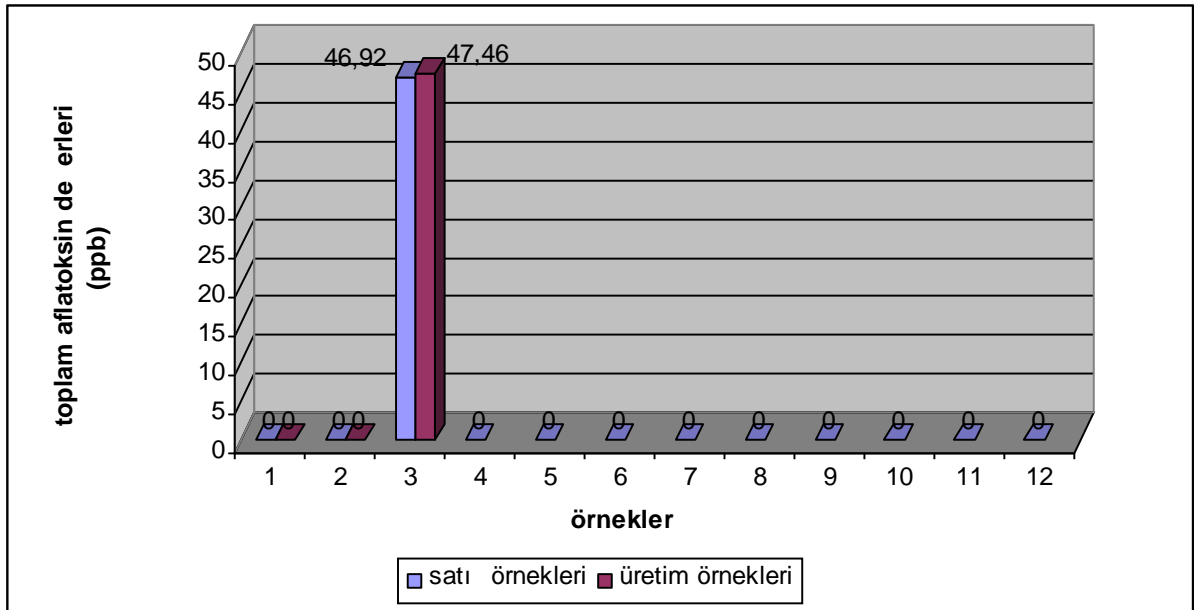
Örnek No	Örne in Alındı ı Yıl	Örne in Alındı ı Yer	Aflatoksin B ₁ µg/kg	Toplam Aflatoksin µg/kg
1	2006	satı noktası	.*	-
2	2006	satı noktası	-	-
3	2006	satı noktası	45,36	46,92
4	2006	satı noktası	-	-
5	2006	satı noktası	-	-
6	2006	satı noktası	-	-
7	2006	satı noktası	-	-
8	2006	satı noktası	-	-
9	2006	satı noktası	-	-
10	2006	satı noktası	-	-
11	2006	satı noktası	-	-
12	2006	satı noktası	-	-
13	2006	üretim/paketleme tesisi	-	-
14	2006	üretim/paketleme tesisi	-	-
15	2006	üretim/paketleme tesisi	18,41	47,46
16	2007	satı noktası	-	-
17	2007	satı noktası	9,87	10,25
18	2007	satı noktası	-	-
19	2007	satı noktası	0,86	1,84
20	2007	satı noktası	145,22	155,26
21	2007	satı noktası	-	-
22	2007	satı noktası	-	-
23	2007	satı noktası	-	-
24	2007	satı noktası	-	-
25	2007	satı noktası	-	-
26	2007	üretim/paketleme tesisi	-	-
27	2007	üretim/paketleme tesisi	5,48	6,28
2006 yılı en düşük aflatoksin B₁ de eri				18,41 µg/kg
2006 yılı en yüksek aflatoksin B₁ de eri				45,36 µg/kg
2006 yılı ortalama aflatoksin B₁ de eri				4,2513 µg/kg
2006 yılı en düşük toplam aflatoksin de eri				46,92 µg/kg
2006 yılı en yüksek toplam aflatoksin de eri				47,46 µg/kg
2006 yılı ortalama toplam aflatoksin de eri				6,292 µg/kg
2007 yılı en düşük aflatoksin B₁ de eri				0,86 µg/kg
2007 yılı en yüksek aflatoksin B₁ de eri				145,22 µg/kg
2007 yılı ortalama aflatoksin B₁ de eri				13,4525 µg/kg
2007 yılı en düşük toplam aflatoksin de eri				1,84 µg/kg
2007 yılı en yüksek toplam aflatoksin de eri				155,26 µg/kg
2007 yılı ortalama toplam aflatoksin de eri				14,4691 µg/kg

* TEDB: Tespit edilebilir düzeyde bulunamamıştır.

Üretim/paketleme ve toptan/perakende satı noktalarından alınan kuru incir örneklerinin çok azında aflatoksin tespit edilmesine rağmen, aflatoksin miktarları Türk Gıda Kodeksinin oldukça üzerinde tespit edilmiştir. ekil 4.1 ve ekil 4.2’de 2006 yılına ait kuru incir örneklerinin aflatoksin oranları gösterilmiştir.



ekil 4.1 2006 yılı satı noktaları ve üretim/paketleme tesislerinden alınan kuru incir örneklerine ait aflatoksin B₁ da ılımları.

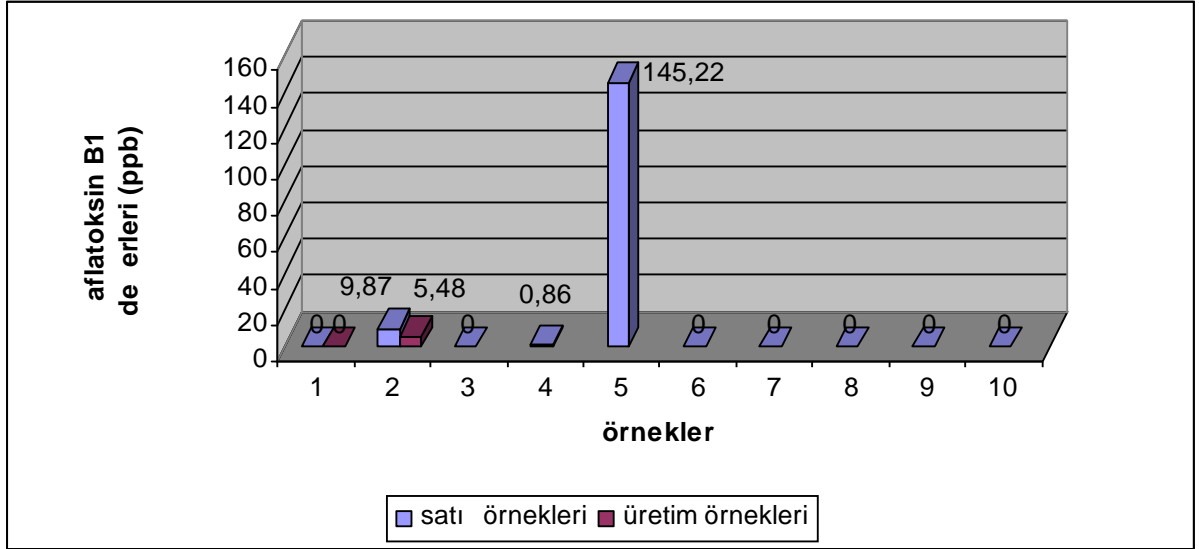


ekil 4.2 2006 yılı satı noktaları ve üretim/paketleme tesislerinden alınan kuru incir örneklerine ait toplam aflatoksin da ılımları.

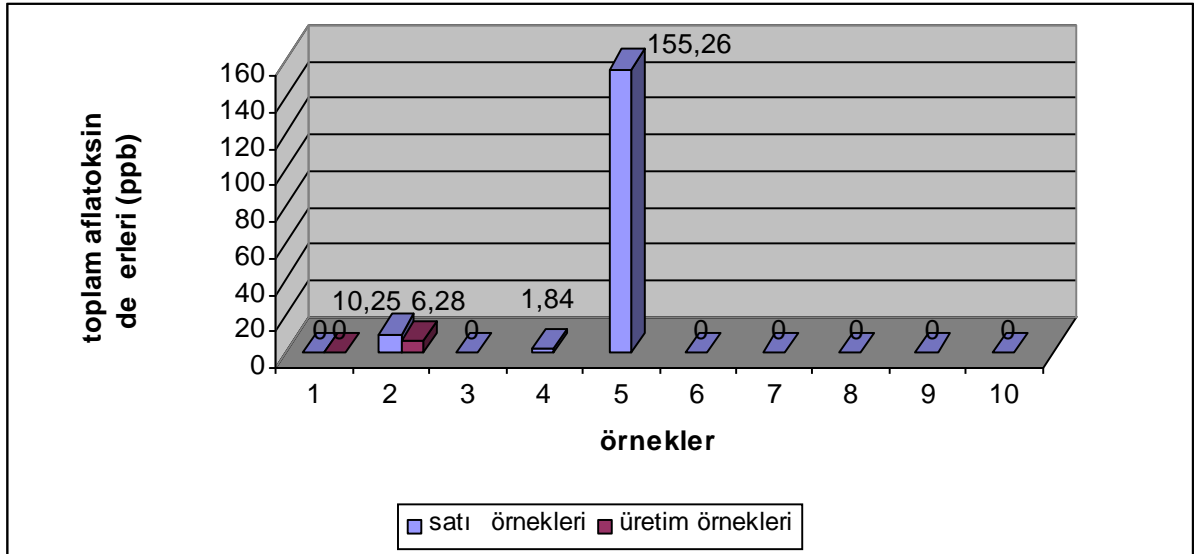
2006 yılı örnekleri genel de erlendirmesinde toplam aflatoksin açısından bakıldı ında en yüksek de erin üretim örneklerinde (ekil 4.2), aflatoksin B₁ açısından incelendi inde ise satı örneklerinde (ekil 4.1) bulundu u belirlenmi tir. Ortalama de erler açısından incelendi inde üretim tesislerine ait örneklerin daha riskli oldu u dü ünülebilir. Ancak toksisitesi en fazla tür olan aflatoksin B₁'in en yüksek de erlerine satı örneklerinde rastlanmı tir. Her iki örnek grubunda toksin bulunma yüzdeleri oldukça dü ük olmakla birlikte, tespit edilen aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin de erleri yasal sınırların oldukça üzerindedir.

2007 yılında analize alınan toplam 12 adet kuru incir örne inin % 67'si toksin içermeyen, % 33'ünde 1,84-155,26 µg/kg arasında toplam aflatoksin bulunmu tur. 0-5 µg/kg arasında aflatoksin B₁ içeren örnek oranı % 8, yasal sınır olan 5 µg/kg üzerinde toksin içeren örnek oranı % 25'tir. Toplam aflatoksin açısından incelendi inde 0-10 µg/kg yasal sınırı üzerinde bulunan örnek yüzdesinin % 17 ve 10 µg/kg yasal sınırı üzerinde toksin içeren örnek oranının da % 17 oldu u görülmektedir. Toptan/perakende satı noktalarından alınan 10 adet örnekte toksin belirlenme yüzdesi % 30 iken, üretim/paketleme tesislerinden alınan örneklerde bu oran % 50'dir (Çizelge 4.1).

2007 yılına ait örneklerin 2006 yılına göre aflatoksin bakımından daha kirli oldu u tespit edilmi , örneklerden birinin toplam aflatoksin de eri 155,26 µg/kg gibi çok yüksek miktarda belirlenmi tir. Bu sonuç toksin olu masını önleme konusunda, gerekli tedbirlerin alınmasının önemini bir kez daha ortaya koymaktadır. 2007 yılına ait incir örneklerinin aflatoksin konsantrasyonları ekil 4.3 ve ekil 4.4'de verilmi tir.



ekil 4.3 2007 yılı satı noktaları ve üretim/paketleme tesislerinden alınan kuru incir örneklerine ait aflatoksin B₁ de erleri da ılımı.



ekil 4.4 2007 yılı satı noktaları ve üretim/paketleme tesislerinden alınan kuru incir örneklerine ait toplam aflatoksin de erleri da ılımı.

2007 yılında satı noktalarından alınan örneklerden 0-5 µg/kg aflatoksin B₁ yasal sınırı ile 0-10 µg/kg toplam aflatoksin yasal sınırını a an örnek oranları aynı olup, % 20'dir (ekil 4.3, ekil 4.4). Ortalama toplam aflatoksin ve ortalama aflatoksin B₁ de erleri 2006 yılı örneklerinde yasal sınırlar dahilinde iken, 2007 yılı için limitlerin üzerindedir.

2007 yılında üretim tesislerinden alınan sadece 2 örnekten bir tanesinde toksin tespit edilmiş olup; toplam aflatoksin de eri yasal sınırlar dahilinde iken, aflatoksin B₁ de eri limitlerin üzerindedir (ekil 4.3, ekil 4.4).

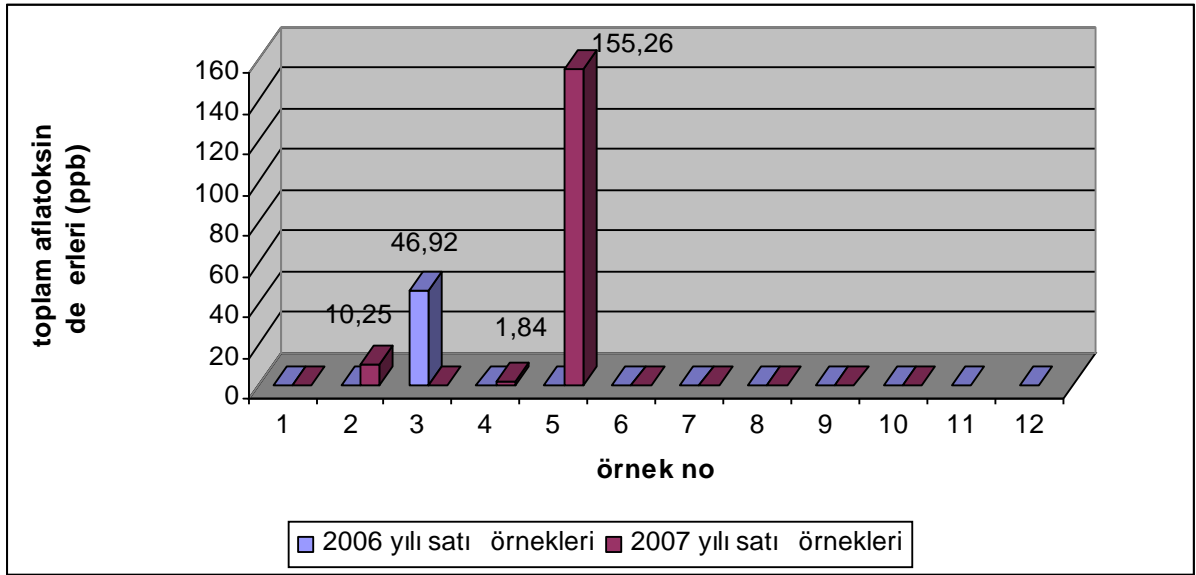
Çizelge 4.2 ile ekil 4.5 ve 4.6, 2007 yılının kuru incir açısından riskli bir yıl olduğunu, bir önceki yıla göre ortalama değerler ile tespit edilen maksimum miktarların satış noktası örneklerinde oldukça yüksek, ancak üretim tesisleri açısından ise 2006 yılına göre düşük olduğunu göstermektedir. Her iki yılda satış noktalarında, üretim tesislerine göre problemin daha ciddi olduğunu söyleyebiliriz.

Çizelge 4.2 Kuru incir Örnekleri Toplam Analiz Sonuçları Tablosu

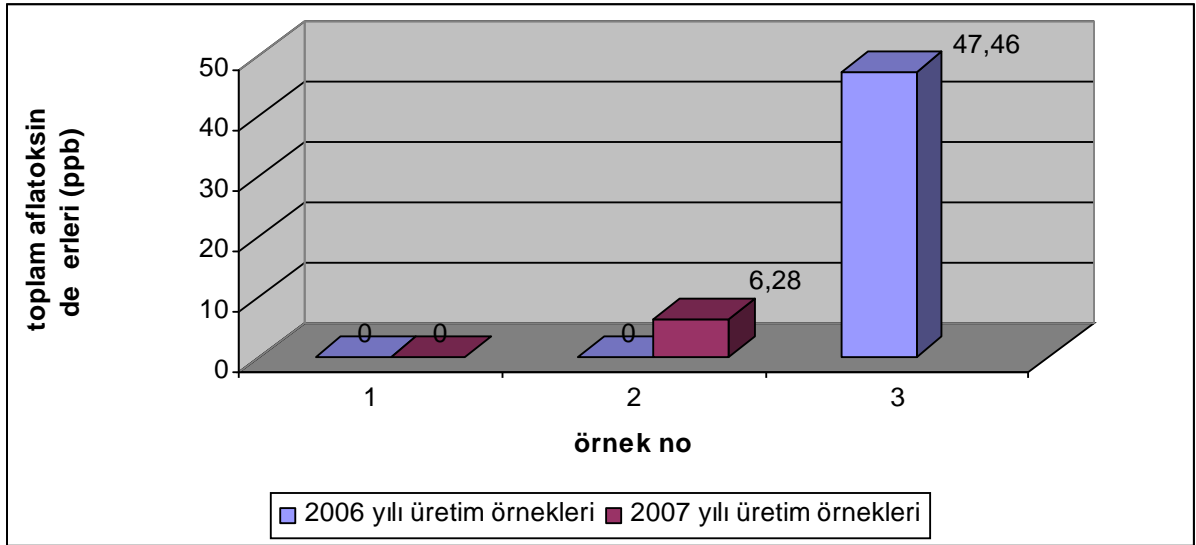
	En Düşük Değer (µg/kg)		En Yüksek Değer (µg/kg)		Ortalama Değer (µg/kg)	
	Toplam Aflatoksin	Aflatoksin B1	Toplam Aflatoksin	Aflatoksin B1	Toplam Aflatoksin	Aflatoksin B1
2006 yılı satış noktası örnekleri n=12	-*	-	46,92	45,36	3,91	3,78
2007 yılı satış noktası örnekleri n=10	1,84	0,86	155,26	145,22	16,735	15,595
2006 yılı üretim noktası örnekleri n=3	-	-	47,46	18,41	15,82	6,1366
2007 yılı üretim noktası örnekleri n=2	-	-	6,28	5,48	3,14	2,74

n :örnek sayısı

* TEDB :Tespit edilebilir düzeyde bulunamamıştır

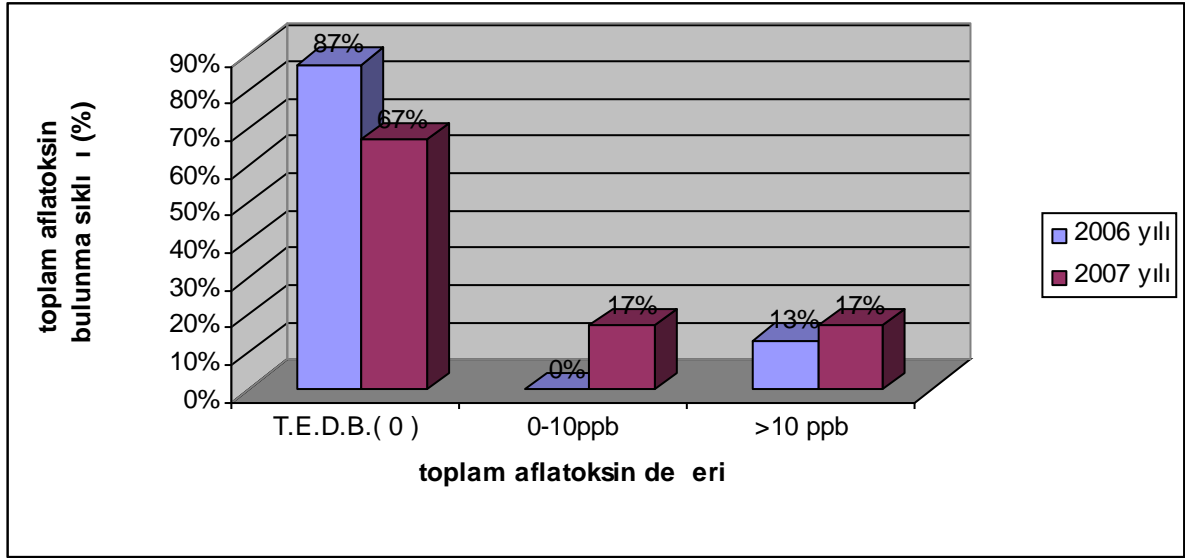


ekil 4.5 2006 ve 2007 yıllarında satı noktalarından alınan kuru incir örneklerinin toplam aflatoksin da ılımları.

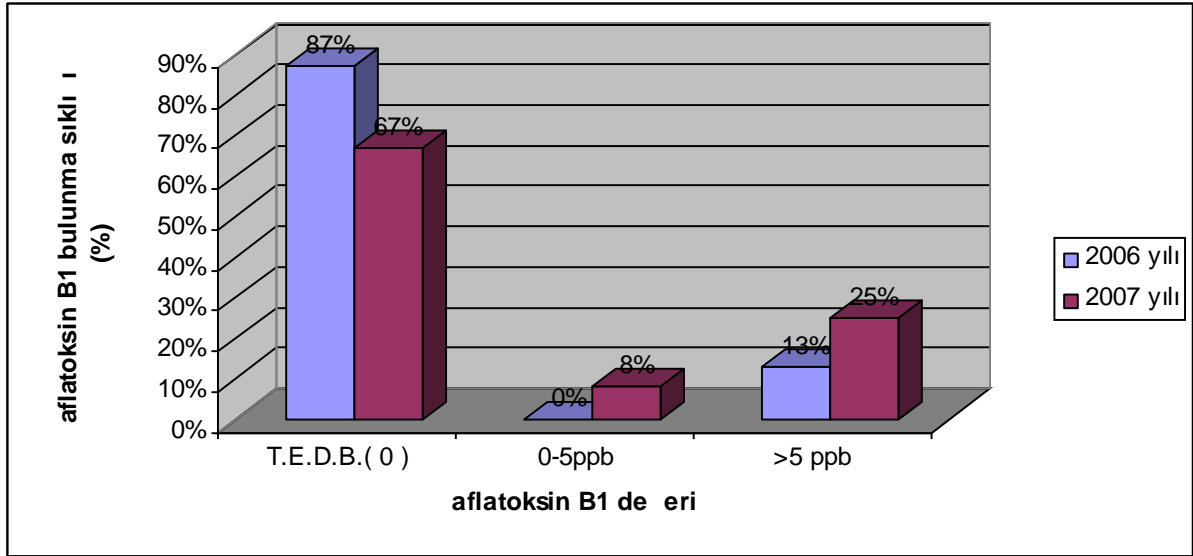


ekil 4.6 2006 ve 2007 yıllarında üretim/paketleme tesislerinden alınan kuru incir örneklerinin toplam aflatoksin da ılımları.

2006 ve 2007 yılı örnek gruplarında 10 µg/kg yasal toplam aflatoksin limitini a an örnek oranı 2007 yılında yüksek olmakla birlikte, iki yılın sonuçları birbirine yakındır (ekil 4.7). 5 µg/kg aflatoksin B₁ limitini a an örnek oranı yine 2007 yılında daha yüksektir (ekil 4.8) Bu grafikler, 2007 yılında üretilen ve satı a sunulan ürünlerin aflatoksin içeri i bakımından daha riskli oldu unu göstermektedir.



ekil 4.7 2006 ve 2007 yılları kuru incir örneklerinde toplam aflatoksin yüzdeleri.



ekil 4.8 2006 ve 2007 yılları kuru incir örneklerinde aflatoksin B₁ yüzdeleri.

Boyacı lu ve Gönül (1986) tarafından yapılan çalı mada Ege Bölgesinde kurutma, proses a amaları ile son ürün depolarından alınan 284 adet kuru incir numunesinde aflatoksin B₁, B₂ ve G₁ analizleri yapılmı tır. Güne te kurutma a amasında alınan dü ük kaliteli incir numunelerinde % 4 oranında aflatoksin B₁ tespit edilmi olup, ortalama toksin de eri 112,3 ppb'dir. 64 adet depolama ve 14 adet proses numunelerinin hiç birisinde aflatoksin tespit edilmemi tir. 2006 yılına ait örnek grubunda toksin tespit edilen örnek oranımız % 13, 2007 yılında % 33 olup Boyacı lu ve Gönül (1986)'ün çalı ma sonuçlarının üzerinde toksin

varlı ı tespit edilmi tir. Ancak her iki örnek grubu için ortalama aflatoksin B₁ de erleri bu çalı manın ortalama toksin seviyesinin altında kalmı tır.

ngiltere'de Sharman ve ark. (1991) tarafından, 1988-1989 yılları arasında ülkeye ithal olarak giren Türkiye orijinli kuru incir ve incir püreleri üzerine yapılan çalı mada; ülkeye gelen bütün haldeki kuru incirlerde 93 partinin % 9'unda, incir pürelерinde ise 112 partinin % 11'inde 10 ppb üzerinde total aflatoksin tespit edilmi olup, en yüksek de er 40 ppb'dir. Analize alınan numunelerden % 24'ünde toplam aflatoksin 10 ppb'nin üzerinde olup, tespit edilen en yüksek de er 165 ppb'dir. Bu de erler bizim tespit etti imiz verilerden hem yüzde hem maksimum de er olarak yüksektir.

1989-1992 yıllarını kapsayan 4 yıllık periyotta sviçre ve Almanya'da test edilen kuru incirlerin (n=105) sınır de erleri a an aflatoksin içerikli örnek oranı % 18,4 olarak saptanmı tır (Tunail 2000). Bizim verilerimiz ile kar ıla tırıldı ında yasal sınırı a an örnek oranımız (n=27 %15 >10 µg/kg) bu de erin altında kalmaktadır.

1993 yılında sviçre'de analizi yapılan Türkiye kökenli kuru incir örneklerinin (n=25) % 28 oranında aflatoksin B₁ ile 0,1-0,3 µg/kg düzeyinde kontamine oldukları saptanmı tır. Örneklerin birinde aflatoksin B₁ içeri i 2,2 µg/kg bulunmu tur (Tunail 2000). Çalı mamızda toksin belirlenme sıklı ı (n=27 %22) bu çalı ma de erinin altında kalmakla birlikte, tespit etti imiz toksin miktarları daha yüksektir.

Almanya'da 1991-1993 yılları arasında ara tırılan kuru incirlerde (n=343); ortalama 15,4 µg/kg konsantrasyonda aflatoksin içeren örneklerin oranı % 10 olarak belirlenmi tir (Tunail 2000). Bizim çalı mamızın bütünü ele alındı ında (n=27 toksin belirlenme sıklı ı %22) toksin tespit edilen örnek oranı daha yüksek olmakla beraber, ortalama de erlerimiz oldukça dü üktür.

ngiltere'de Gıda Standartları Ajansı tarafından 1996 yılında yapılan çalı mada, limanlardan alınan ithal kuru incir numunelerinin % 70'i 4 ppb'den az, % 30'u 10 ppb'den fazla toksin içerdi i belirlenmi tir. Bu sonuçlar bizim de erlerimizin üzerindedir. Perakende satı noktalarından alınan 29 adet kuru incir örne inden % 97'si 1 ppb'den az toksin içermi tir. Bu de erler ise bizim çalı ma sonuçlarımızdan dü üktür (Anonim 1996). Yine ngiltere'de Gıda

Standartları Ajansı tarafından 2002 yılında yapılan çalı mada, perakende satı noktalarından alınan kuru incir numunelerinin hiçbirinde aflatoksin tespit edilmemi tir (Anonim 2002).

Tunail (2000)'in bildirdi ine göre Türkiye'de 1990-1994 yılları arasında alınan 92 adet kuru incir örne inde aflatoksin kontaminasyonu sıklı ı % 17,4 ve sınır de erleri a an örnek oranı % 9,8 olarak belirlenmi tir. Bizim verilerimiz kontaminasyon sıklı ı açısından ve yasal sınırı a an örnek oranı bakımından bu de erlerin üzerindedir.

enyuva ve ark. (2004) tarafından yapılan çalı mada, 2003 yılında ihraç edilen incirlerden alınan 58 numunenin 9 tanesi (% 16) aflatoksin B₁ içermi , maksimum de er 35,1 ppb olarak tespit edilmi tir. 2004 yılında alınan 41 adet ihraç numunesinin 18 tanesinde (% 44) aflatoksin B₁ tespit edilmi , maksimum de er 20,6 ppb olarak belirlenmi tir. 20 adet perakende satı ürününden hiçbirisinde aflatoksin B₁ tespit edilmemi tir. Aflatoksin kontaminasyon yüzdeleri 2003 yılı incirleri ile perakende satı ürünleri için bizim 2007 yılı verilerimizden dü ük olmakla birlikte, 2006 yılı verilerimizden yüksektir. 2004 yılı için kontaminasyon yüzdesi bizim her iki örnek grubu verilerimizden oldukça yüksektir. Bu çalı maya ait maksimum de erler ise oldukça dü üktür.

Yıkılmaz (2007) tarafından yapılan çalı mada satı noktalarından alınan 45 adet kuru incir örne inin 4'ünde (% 8,89) tespit edilebilir düzeyde aflatoksin belirlenmi olup, % 91,11'inde toksin belirlenmemi tir. Tespit edilen de erlerin Türk Gıda Kodeksi yasal limitlerinin altında oldu u bildirilmi tir. Bu veriler bizim çalı ma sonuçlarımızın altında kalmaktadır.

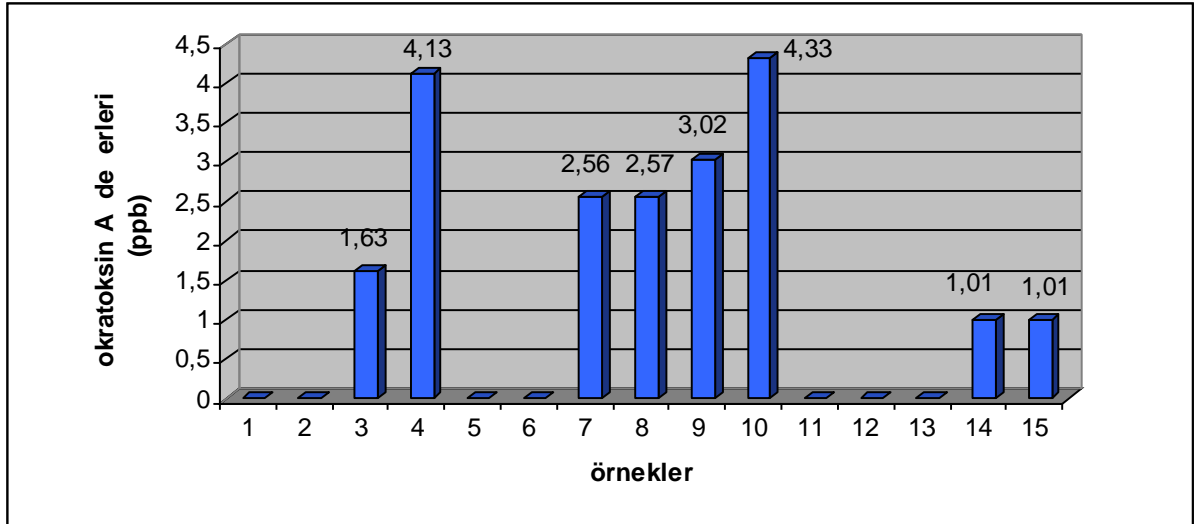
4.2. Kuru incir Örneklerinde Okratoksin A Varlı ı

Kuru incirde okratoksin A varlı ını belirlemek amacıyla 2007 yılında, tamamı toptan ve perakende satı noktalarından olmak üzere 15 adet numune alınmi tir (Çizelge 4.3). Örneklerin % 46,66'sinde okratoksin A varlı ına rastlanmazken, % 53,34'ünde 1,01-4,33 µg/kg arasında okratoksin A tespit edilmi tir. Bulunan de erler ekil 4.9'da verilmi tir.

Çizelge 4.3 2007 yılı kuru incir örneklerine ait okratoksin A miktarları (µg/kg)

Örnek no	Okratoksin A miktarı µg/kg	Örnek no	Okratoksin A miktarı µg/kg
1	.*	9	3,02
2	-	10	4,33
3	1,63	11	-
4	4,13	12	-
5	-	13	-
6	-	14	1,01
7	2,56	15	1,01
8	2,57		
2007 yılı en düşük okratoksin A de eri			1,01 µg/kg
2007 yılı en yüksek okratoksin A de eri			4,33 µg/kg
2007 yılı ortalama okratoksin A de eri			1,3506 µg/kg

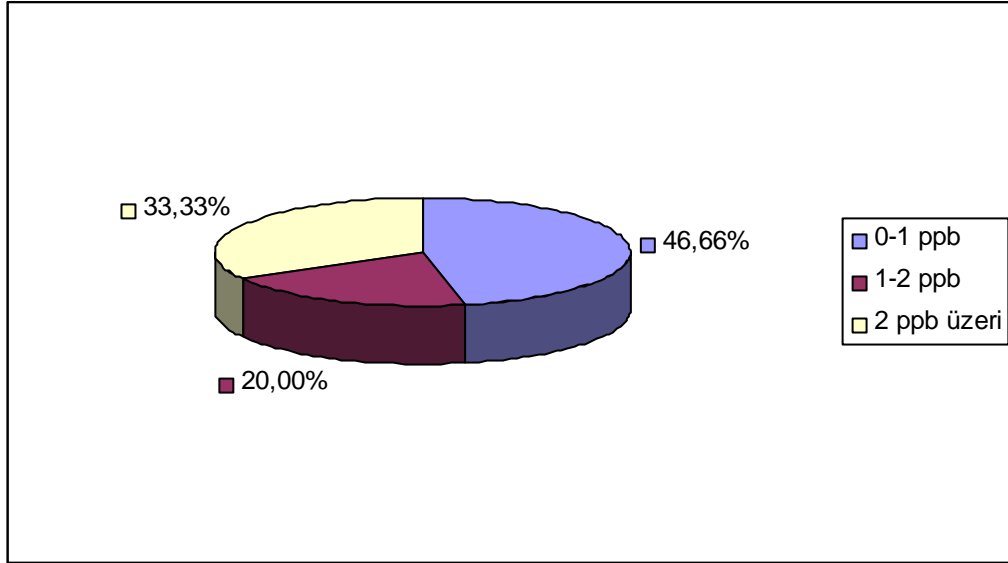
*TEDB: Tespit edilebilir düzeyde bulunamamı tır.



ekil 4.9 2007 yılına ait kuru incir örneklerinin okratoksin A da ılımları.

ekil 4.10'da da görüldü ü gibi örneklerin % 46,66'sında 0-1 µg/kg arasında, % 20'sinde 1-2 µg/kg arasında, % 33,33'ünde ise 2 µg/kg üzerinde okratoksin A bulunmaktadır. Tespit edilen maksimum miktar 4,33 µg/kg, ortalama de er 1,3506 µg/kg'dir. Türk Gıda Kodeksi "Gıda Maddelerindeki Bula anların Maksimum Limitleri Hakkında Tebli (2008/26)" de, kuru

incirde okratoksin A yasal sınırı ile ilgili resmi bir düzenleme bulunmamaktadır. Di er gıda maddeleri (bulunması muhtemel riskli gıdalar) için 10 µg/kg maksimum limit belirlenmiştir. Örneklerde tespit edilen toksin miktarları bu limit de erini a mamaktadır. Ortalama de er de bu limitin oldukça altındadır.



ekil 4.10 2007 yılına ait kuru incir örneklerinin okratoksin A konsantrasyonlarına göre dağılımı.

Tunail (2000) tarafından bildirildiğine göre 1990-1994 yılları arasında Türkiye’de analizi yapılan 92 adet kuru incir numunesinde okratoksin A görülme sıklığının % 1,09’dur ve bu de er bizim bulgularımızın oldukça altındadır.

İngiltere’de 2002 yılında Gıda Standartları Ajansı tarafından yapılan çalışmada 61 adet kuru meyve numunesinden yalnızca 1 incir numunesinde EC limiti olan 10 µg/kg’in üzerinde okratoksin A tespit edildiği bildirilmiştir olup (Anonim 2002), bu sonuç toksin belirlenme sıklığı açısından bizim verilerimizin oldukça altında, miktar olarak da oldukça üzerindedir.

Yenyuva ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada 2003 yılında ihracat edilen incirlerden alınan 58 numunedan 4 tanesinde (% 7) okratoksin A tespit edilmiştir olup, maksimum konsantrasyon 13 µg/kg’dır. 2004 yılına ait 41 adet ihracat numunesinden 6 adedinde (% 15) okratoksin A tespit edilmiştir. Maksimum konsantrasyon 26,3 µg/kg’dır. 20 adet perakende satılan numunesinden sadece 1 tanesinde (% 5) okratoksin A tespit edilmiştir olup, bu de er 2 µg/kg’dır. Bu çalışmaya ihracat numunelerine ait veriler incelendiğinde toksin belirlenme

sıklıkları bizim örnek grubumuza göre düşük olmakla birlikte, maksimum seviyeler bizim de erlerimize göre oldukça yüksektir. Satı yerlerine ait numunelerde ise hem toksin görülme sıklı ı hem de tespit edilen en yüksek de er çalı mamıza ait verilerin altındadır.

Tamanaka ve ark. (2005) tarafından Brezilya'da yapılan çalı mada, 117 adet kurutulmu meyve numunesi incelenmi , kuru incir örneklerinde okratoksin A saptanma sıklı ı % 26,3, ortalama de er ise 5 µg/kg olarak saptanmı tır. Bu de erler bizim sonuçlarımız ile karşılaştırıldı ında toksin belirlenme sıklı ı açısından düşük olmakla birlikte, bildirilen ortalama de er bizim verimizden yüksektir.

4.3. Kuru Üzüm Örneklerinde Okratoksin A Varlı ı

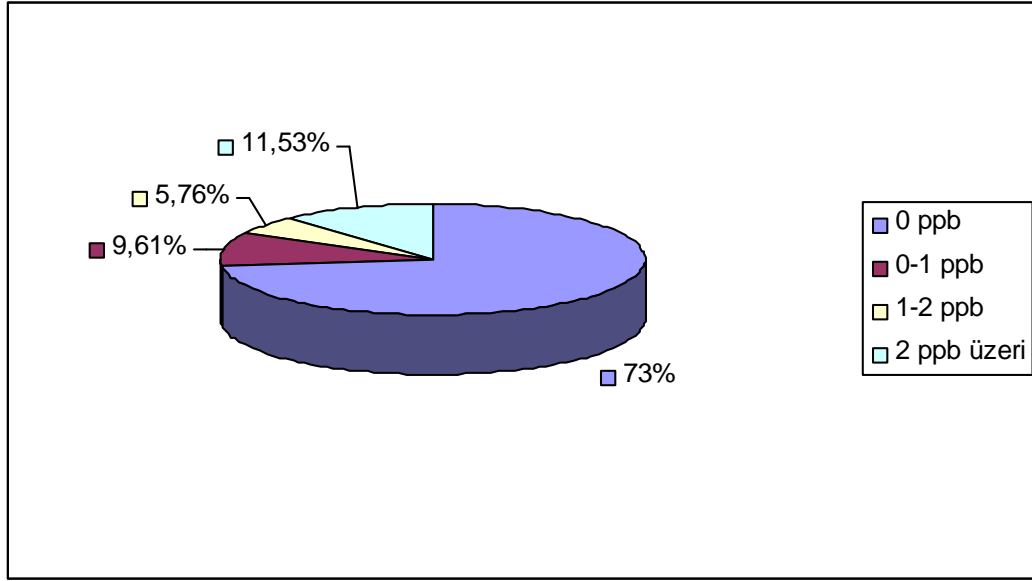
Ara tırma kapsamında tamamı 2006 yılına ait; 38 adedi toptan/perakende satı noktalarından, 14 adedi üretim/paketleme tesislerinden olmak üzere toplam 52 adet kuru üzüm örne i okratoksin A içeri i bakımından incelenmi tir. Örneklerin % 73'ünde okratoksin A miktarı tespit edilebilirlik seviyesinin altında bulunmu tur. % 27'sinde ise 0,34 ile 4,64 µg/kg arasında de i en miktarlarda okratoksin A tespit edilmi tir. Örneklere ait sonuçlar çizelge 4.4'de verilmi tir.

Çizelge 4.4 Kuru üzüm örneklerine ait okratoksin A de erleri (µg/kg)

Örnek No	Alındı ı Yer	Okratoksin A (µg/kg)	Örnek No	Alındı ı Yer	Okratoksin A (µg/kg)	Örnek No	Alındı ı Yer	Okratoksin A (µg/kg)
1	satı noktası	-*	19	satı noktası	0,4	37	satı noktası	-
2	satı noktası	-	20	satı noktası	4,64	38	satı noktası	-
3	satı noktası	1,45	21	satı noktası	-	39	Üretim tesisi	-
4	satı noktası	-	22	satı noktası	-	40	Üretim tesisi	-
5	satı noktası	-	23	satı noktası	-	41	Üretim tesisi	-
6	satı noktası	-	24	satı noktası	2,58	42	Üretim tesisi	-
7	satı noktası	2,99	25	satı noktası	0,36	43	Üretim tesisi	-
8	satı noktası	-	26	satı noktası	-	44	Üretim tesisi	-
9	satı noktası	-	27	satı noktası	1,76	45	Üretim tesisi	-
10	satı noktası	0,34	28	satı noktası	-	46	Üretim tesisi	0,59
11	satı noktası	-	29	satı noktası	-	47	Üretim tesisi	-
12	satı noktası	-	30	satı noktası	-	48	Üretim tesisi	0,5
13	satı noktası	2,58	31	satı noktası	3,3	49	Üretim tesisi	-
14	satı noktası	-	32	satı noktası	-	50	Üretim tesisi	-
15	satı noktası	2,78	33	satı noktası	1,13	51	Üretim tesisi	-
16	satı noktası	-	34	satı noktası	-	52	Üretim tesisi	-
17	satı noktası	-	35	satı noktası	-			
18	satı noktası	-	36	satı noktası	-			
2006 yılı en dü ük okratoksin A De eri								0,34 µg/kg
2006 yılı en yüksek okratoksin A De eri								4,64 µg/kg
2006 yılı ortalama okratoksin A De eri								0,4884 µg/kg

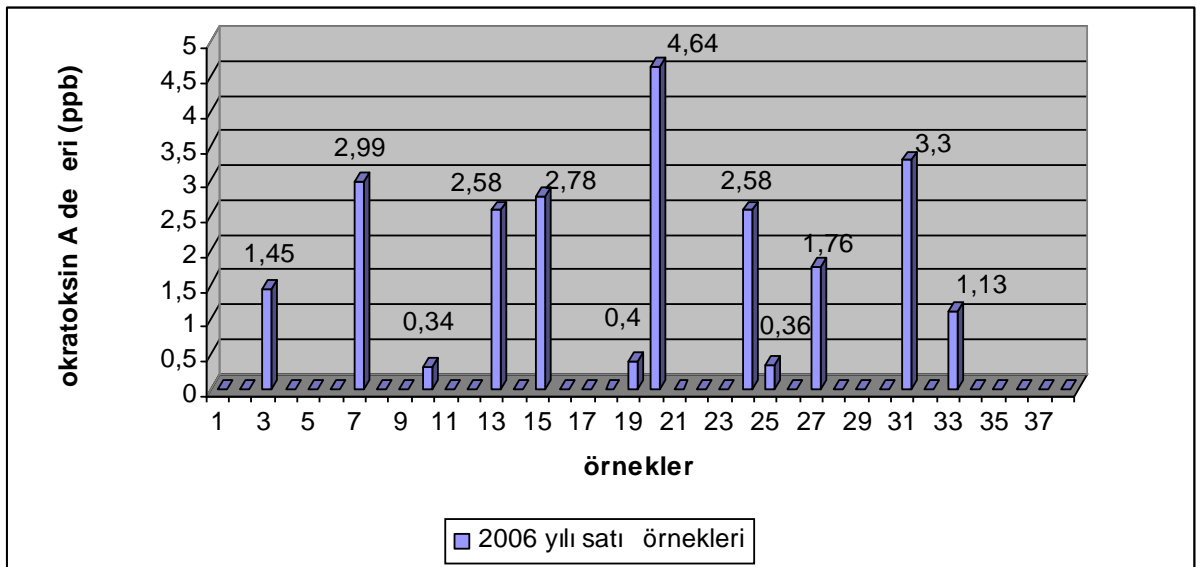
* TEDB: Tespit edilebilir düzeyde bulunamamı tır.

Genel olarak incelendi inde kuru üzüm örneklerinin % 73'ünde okratoksin A tespit edilmezken, % 9,61'inde 0-1 µg/kg arasında, % 5,76'sında 1-2 µg/kg arasında ve % 11,53'ünde 2 µg/kg'in üzerinde okratoksin A tespit edilmi tır (ekil 4.11).



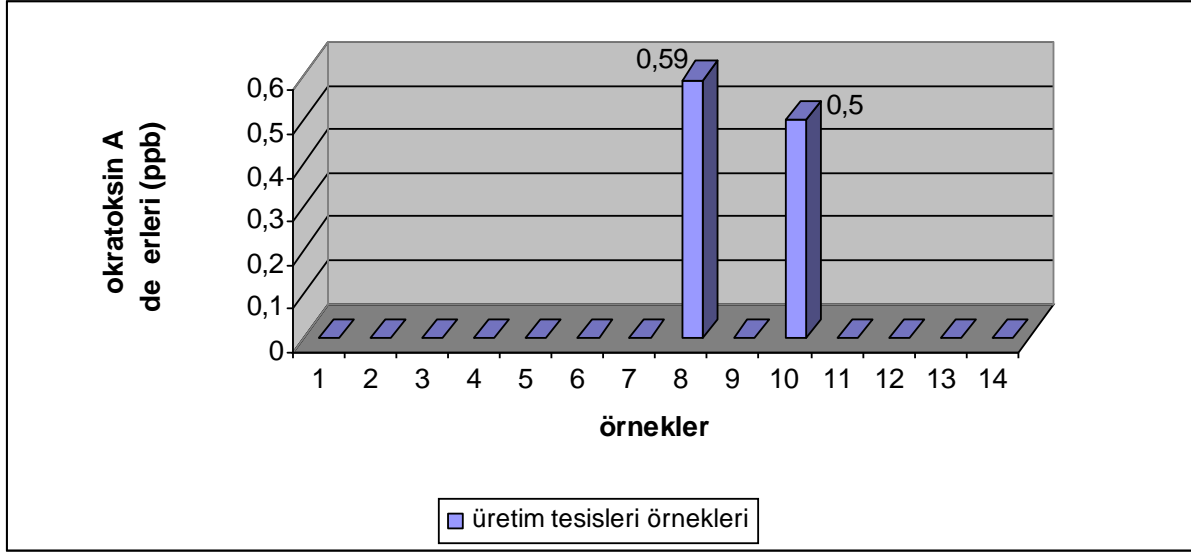
ekil 4.11 2006 yılı kuru üzüm örneklerinin okratoksin A konsantrasyonları dağılımı.

Toptan/perakende satı noktalarından alınan 38 adet kuru üzüm örneğinin 26 tanesinde (% 68,42) okratoksin A tespit edilmezken, 12 adedinde 0,34-4,64 $\mu\text{g}/\text{kg}$ arasında okratoksin A tespit edilmiştir (ekil 4.12). Örneklerin ortalama değeri 0,6397 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'dir. Tüm kuru üzüm örnekleri arasında tespit edilen en yüksek toksin miktarı olan 4,64 $\mu\text{g}/\text{kg}$ değeri, satı noktası örnek grubuna aittir. Türk Gıda Kodeksinin ilgili Tebliğ hükümlerince kuru üzüm için okratoksin A'nın maksimum yasal sınırı 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'dir. Ara tırmada, satı noktalarına ait örneklerde tespit edilen okratoksin A değerleri bu yasal sınırın çok altındadır.



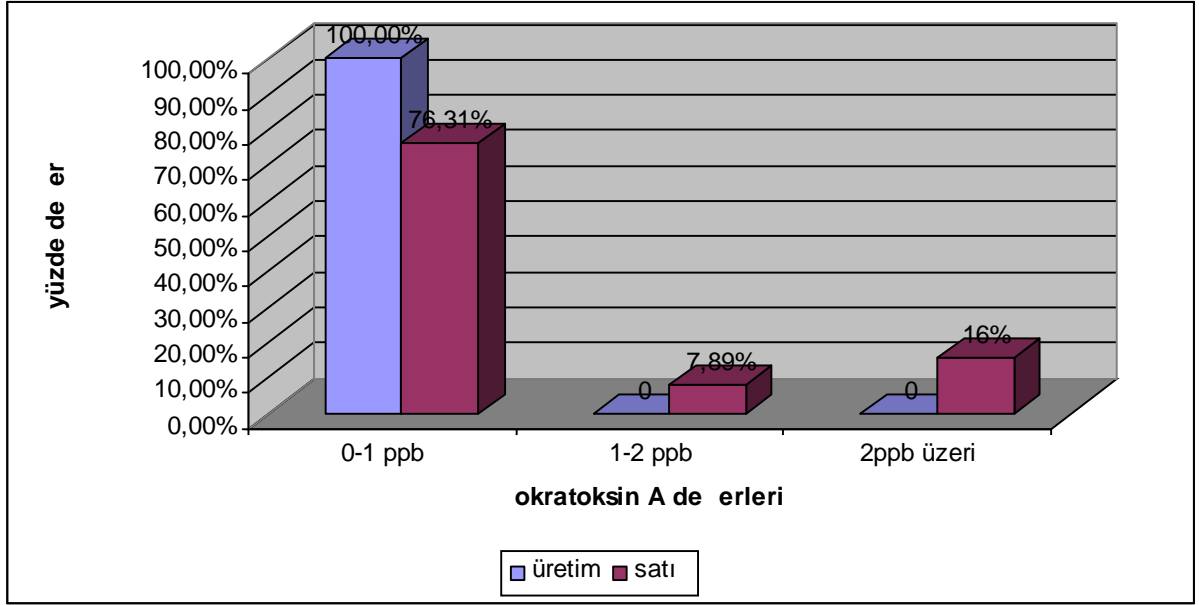
ekil 4.12 2006 yılı satı noktalarına ait kuru üzüm örneklerinin okratoksin A dağılımları.

Çalı mada kullanılan örneklerden 14 adedi üretim/paketleme tesislerinden alınmıştır. Bu örneklerden sadece 2 tanesinde (% 14,28) 0-1 µg/kg düzeyinde okratoksin A tespit edilmiştir, kalan 12 örnekte (% 85,72) okratoksin A tespit düzeyinin altında kalmıştır (ekil 4.13). Bütün kuru üzüm örnekleri arasında en düşük toksin düzeyleri üretim tesislerinden alınan numunelerde görülmüştür. Grubun ortalama değeri 0,0778 µg/kg olup, ilgili Tebliğ ile belirlenen yasal sınırın çok altındadır.



ekil 4.13 2006 yılı üretim/paketleme tesislerine ait örneklerin okratoksin A da ılımları.

Satış noktalarından alınan 38 örneğin % 76,31'inde 0-1 µg/kg, % 7,89'unda 1-2 µg/kg, % 16'sında 2 µg/kg üzerinde okratoksin A tespit edilmiştir (ekil 4.14). Üretim/paketleme tesislerinden alınan örneklerde tespit edilen değerlerin tamamı 0-1 µg/kg arasındadır. Bu değerler bize kuru üzümde okratoksin A varlığı probleminde asıl sorunun üretim tesislerinden ziyade satış noktalarında bulunduğunu göstermekte, satış noktası koşullarının özellikle depolama şartlarının önemini düşündürmektedir.



ekil 4.14 2006 yılına ait üretim/paketleme ve satı noktalarından alınan kuru üzüm örneklerinin okratoksin A yüzdeleri.

Gıda Güvenli i ve Standartları Ajansı tarafından 1997 yılında ngiltere’de perakende satı a sunulan ürünler üzerinde yapılan çalı mada; Yunanistan, Türkiye ve ABD men eli 60 adet de i ik türde kuru üzüm numunesinin 25 tanesi 4 µg/kg üzerinde okratoksin A içerdi i belirlenmi tir. Bizim her iki gruba ait örneklerimiz arasında bu de er sadece bir numunede görülmü tür. ngiltere’de yapılan bu çalı mada, kuru üzüm örneklerinin % 88’inin tespit edilebilir seviyede okratoksin A içerdi i, % 42’sinin 4 µg/kg’in üzerinde toksin içerdi i belirlenmi tir. Sultaniye kuru üzüm örneklerinin % 40’ının 4 µg/kg üzerinde okratoksin A içerdi i bildirilmi tir. Sultaniye çe itlerin ço unlu u Yunanistan ve Türkiye orijindir (Anonim 1997). Sultaniye çe itler açısından bakıldı nda, çalı mamızda elde edilen sonuçlar bu de erlerin altındadır.

Magnoli ve ark. (2004)’nın Latin Amerika’da kurutulmu kırmızı ve beyaz üzüm çe itleri üzerine yapmı oldukları çalı mada; okratoksin A varlı ı siyah çe itlerde % 68, beyaz çe itlerde % 88 olarak tespit edilmi tir. Çalı mamızda elde edilen toksin belirlenme sıklı ı, bu çalı ma sonuçlarının oldukça altındadır.

Lombaert ve ark. (2004) tarafından Kanada’da yapılan çalı mada, 1998-2000 yılları arasında satı noktalarından alınan de i ik türdeki kuru üzüm, ku üzümü ve sultaniye üzüm çe itlerinden olu an 151 adet örnekte okratoksin A analizleri yapılmı tir. Alınan 66 adet

sultaniye kuru üzüm numunesinden 39 adedi (% 59) okratoksin A varlığı açısından pozitif bulunmuştur; toksin tespit edilen örneklerin ortalama değeri 3,11 µg/kg, bütün sultaniye çeşitlerinin genel ortalaması ise 1,81 µg/kg olarak belirlenmiştir. Tespit edilen maksimum değer 26,0 µg/kg olarak bildirilmiştir. Türkiye orijinli olan 5 adet sultaniye çeşitinden 4'ü pozitif çıkmıştır, 5 numunenin ortalama değeri 2,5 µg/kg olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamıza ait veriler pozitif sonuç yüzdesi açısından bu çalışmanın genel oranından ve Türkiye orijinli ürünlerde pozitif bulunma yüzdesinden düşüktür. Genel ortalama ve Türkiye orijinli ürünlerin ortalaması bizim örnek grubumuzun genel ortalamasının üzerindedir.

Tanamaka ve ark. (2005)'nin yaptıkları çalışmada analize alınan siyah sultaniye çeşitlerinin % 33'ü 5 µg/kg üzerinde okratoksin A içerirken, beyaz sultaniye üzümünde bu değeri aşan örnek görülmediği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda bulgularımız siyah çeşitleri ile karşılaştırıldığında bu değerlerin altında iken, beyaz çeşitleri açısından incelendiğinde üzerindedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kuru incirde aflatoksin içeriğini belirlemeye yönelik olarak 2006 yılında 15, 2007 yılında 17 adet örnek alınmıştır. 2006 yılına ait örneklerden yalnızca 2 tanesinde toksin tespit edilmiş olup, diğerler Türk Gıda Kodeksi ile belirlenen yasal limitlerin üzerindedir. Tespit edilen en yüksek değer üretim tesisine aittir. 2007 yılında analize alınan 12 adet örneğin % 67'si toksin içermezken, % 33'ünde aflatoksin bulunmuştur. Toksin tespit edilen 4 örnekten 3 tanesi ve en yüksek toksin değeri (155,26 µg/kg toplam aflatoksin) satış noktalarından alınan örnek grubuna aittir. 2006 yılında 10 µg/kg yasal toplam aflatoksin sınırını aşan örnek oranı %13, 2007 yılında ise %17'dir. Araştırma sonuçları göstermiştir ki ülkemizde kuru incirlerde aflatoksin problemi devam etmekte ve halkımız için bu ürün halen risk teşkil etmektedir.

Çalışmamızda numune alınması yapılan üretim tesisleri kurutulmuş ürünü paketleyen işletmelerdir. Üretim örneklerinde elde edilen sonuçlar göstermiştir ki, kurutma aşamasından paketleme yapan firmalara gerçekleştiren nakliye sırasında ve paketlemeye kadar geçen sürede depolama aşamasında ürünün toksin içeriği çok fazla artmamıştır. Ancak perakende satış noktaları ve toptancı depolarından alınan örneklerde problemin daha ciddi olduğu görülmektedir. Bu nedenle bu işletmelerde depo sıcaklığı ile bağılı neminin sürekli kontrol altında tutulması, satış noktalarına ait depo şartlarının ve dağıtım aşamalarındaki şartların ürün özelliğine uygun tutulması gerekmektedir. Aflatoksin oluşumunun atmosferdeki O₂ konsantrasyonunun düşmesi veya CO₂ ve N₂ gazları konsantrasyonlarının modifiye atmosfer içinde artırılması ile önemli düzeyde gerilediği bilinmektedir. Bu nedenle paketleme yapan firmaların modifiye atmosferde ambalajlama yöntemini seçmeleri faydalı olabilecek, dağıtım ve satış aşamalarında karışılacak kontrolsüz şartlara karşı ürün güvenliğini koruyabilecektir.

Kuru incirde okratoksin A varlığını belirlemek amacıyla 2007 yılında, tamamı toptan ve perakende satış noktalarından olmak üzere 15 adet numune alınmıştır. Örneklerin % 46,66'sinde okratoksin A varlığına rastlanmazken, % 53,34'ünde 1,01-4,33 µg/kg arasında okratoksin A tespit edilmiştir. Tespit edilen maksimum miktar 4,33 µg/kg, ortalama değer 1,3506 µg/kg'dir. Tespit edilen değerler Türk Gıda Kodeksinin ilgili tebliği ile belirlenen yasal sınırlar dahilindedir. Elde edilen verilerden kuru incirde okratoksin A probleminin çok

fazla risk oluşturmaz, alınacak etkili önlemler ile kontrol altına alınabileceği sonucuna varılmıştır.

Ülkemizin yıllık kuru üzüm üretiminin yaklaşık olarak % 20-28'i yurt içinde tüketilmektedir. Halkımız tarafından severek tüketilen, bunun yanında gıda sanayinde bisküvi, çikolata, diyet ürünler, pastacılık ürünleri vb. gıdaların üretiminde kullanılan kuru üzümde, okratoksin A varlığının analiz edilmesiyle Türkiye'nin en kalabalık kenti olan İstanbul'un durumu ortaya konulmaya çalışılmıştır. İstanbul'da faaliyet gösteren toptan/perakende satış ve üretim/paketleme tesislerinden temin edilen sultaniye ve yuvarlak çeşitlerden oluşan 52 adet kuru üzüm örneğinin % 73'ünde okratoksin A kontaminasyonu tespit edilmemiştir. % 27'sinde ise 0,34-4,64 µg/kg arasında değişen miktarlarda okratoksin A tespit edilmiş olup, ilgili tebliğle belirlenen yasal sınır olan 10 µg/kg değerinin çok altında bulunmuştur. Çalışma sonuçlarımız, tamamı Ege Bölgesi meneli olan yurt içi piyasada tüketiciye arz edilen kuru üzümlerin, okratoksin A içeriği açısından risk arz etmediğini göstermektedir.

Çalışmada kullanılan, üretim tesislerine ait örneklerden sadece 2 tanesinde 0-1 µg/kg arasında okratoksin A tespit edilirken, satış noktalarından alınan 38 örneğin 17 tanesinde 0,34-4,64 µg/kg arasında okratoksin A varlığı belirlenmiştir. Bu verilere göre okratoksin A olumsuzunda problemin toptan ve perakende satış noktalarında daha fazla olabileceği düşünülmüşse; kaliteli kuru üzüm elde edilmesinde doğru hasat zamanı, temiz kurutma gibi uygulamaların yanı sıra, kuru incirde olduğu gibi özellikle satış ve dağıtım amaçlarında uygun depolama ve nakliye şartları da önem kazanmaktadır. Genellikle 1-1,5 yıl raf ömrü olan kuru üzüm ürününe ait ambalajların, üretici firmalar tarafından ürünün saklama koşullarına uygun seçilmesi önem arz etmektedir. Bu konudaki eksiklikler numune alınması aşamasında gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra satış noktalarında, ürünün sergilendiği raf bölgesinin seçimine ve depo şartlarına önem gösterilmelidir. Üzüm depolanmasında iyi koşullar sağlanmalıdır. Paketleme yapan tesislerde, kuru üzümler plastik kasa veya küçük çuvallar içinde depolanmalı, depolama ve paketleme yerinin sıcaklığı 5-10 °C ve % 65 nem koşullarını içermelidir.

Mikotoksinler gıdaların doğal kontaminantları olduğundan, olumsuzları sıklıkla önlenemezdir. Mikotoksin probleminin çözülmesinde uygulanan en basit yol mikotoksinle kontamine olan gıda maddelerinin besin kaynağı olarak kullanılmasının ve ticari anlamda alınıp satılmasının yasal düzenlemeler ile devlet tarafından düzenlenmesi ve gerekli kontrollerin yapılmasıdır.

KAYNAKLAR

- Abarca ML, Accensi F, Cano J, Cabañes FJ (2004). Taxonomy and Significance of Black *Aspergilli*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 86, 33-49. (Alınım tır: Leong ve ark. 2006)
- Abrunhosa L, Serra R, Venâncio A. (2002). Biodegradation of Ochratoxin A by Fungi Isolated from Grapes. *J. Agric. Food Chem.* 50, 7493–7496. (Alınım tır: Valero ve ark. 2007)
- Akpınar (2006). Gıdalar, Yemler ve Mikotoksinler. Ordu Tarım İl Müdürlüğü İnternet Kayıtları, <http://www.ordutarim.gov.tr/subeleler/kontrol/aflatoksin/toksinler.htm>.
- Anaç H (2003). Kuru İncir. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, T.E.A.E. – Bakı , Sayı 3, Nüsha 10, Haziran. ISSN 1303-8346. <http://www.aeri.org.tr/pdf/bks/3-10.pdf>
- Anonim (1996). Aflatoxin Surveillance of Retail and Imported Nuts, Nut Products, Dried Figs and Fig Products. Food Surveillance Information Sheet, No. 81, March, MAFF, Food Safety and Science Group Food Contaminants Division of UK Food Standards Agency, London. <http://www.food.gov.uk/science/surveillance/>
- Anonim (1997). Survey of Aflatoxins and Ochratoxin A in Cereals and Retail Products, Food Surveillance Information Sheet. No. 130, November. MAFF, Food Safety and Science Group Food Contaminants Division of UK Food Standards Agency, London. <http://www.food.gov.uk/science/surveillance/>
- Anonim (1998). Vicam HPLC procedure for currants and raisins.
- Anonim (2002). Survey of Nuts, Nut Products and Dried Tree Fruits For Mycotoxins, Food Surveillance Information Sheet. 21/02 January. MAFF, Contaminants Division of UK Food Standards Agency, London. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/21nuts.pdf>
- Anonim (2006a). <http://tr.wikipedia.org>
- Anonim (2006b). http://www.taris.com.tr/yt_incir_hak.asp
- Anonim (2006c). <http://www.mycotoxins.org/>
- Anonim (2006d). <http://www.food-info.net/tr/tox/ochra.htm>
- Anonim (2008). <http://www.kkgm.gov.tr/mev/kodeks.html>
- AOAC (2000). Aflatoxins B₁ and Total Aflatoxin in Peanut Butter, Pistachio paste, Fig paste and Paprika powder. Immunoaffinity Column Method (Method No. 999.07), *J. AOAC Int.* 83:320-340.
- Armstrong K, Campbell AD, Denizel T, Jemmali M, Krogh P, Kusak V, Nagarajan V, Nesterin MF, Newberne P, Patterson SP, Peers G, Sarkisov AC, Schuller PL, Rogers A, Tendon HD, Wasunna A (1979). Environmental Health Criteria 11, Mycotoxins. International Programme on Chemical Safety Report, Published under the Joint Sponsorship of the United Nations Environment Programme and the World Health Organization. World Health Organization, Geneva. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc011.htm>
- Battilani P, Pietri A (2002). Ochratoxin A in Grapes and Wine. Congress on Mycotoxins in Plant Disease Agriculturally Important Toxicogenic Fungi, volume 108, No.7:639-643. Rome.

- Battilani P, Giorni P, Pietri A (2003). Epidemiology of Toxin-producing Fungi and Ochratoxin A Occurrence in Grape. *European Journal of Plant Pathology*, 109:715–722. (Alınım tır: Leong ve ark. 2006)
- Belli N, Pardo E, Marin S, Farre G, Ramos AJ, Sanchis V (2004). Occurrence of Ochratoxin A and Toxicogenic Potential of Fungal Isolates from Spanish Grapes. *J. Sci. Food Agric.*, 84:541–546. (Alınım tır: Pardo ve ark. 2005)
- Bennett JW, Klich M (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol 16, No 3: 497-516.
- Boyacıo lu D, Gönül M (1986). Survey of Aflatoxin Contamination of Dried Figs Grown in Turkey in 1986. *National Library of Medicine and the National Institutes of Health. Mar-Apr,7(2):235-7. USA. PMID: 2113011,*
- Buchanan JR, Sommer NF, Fortlage RJ (1975). *Aspergillus flavus* Infection and Aflatoxin Production in Fig Fruits. *Applied Microbiology, American Society for Microbiology, Vol. 30, No. 2: 238-241.*
- Carlton WW, Demeke T, Gilbert J, Krogh P, Nakadate M, Parizek J, Pohland AE, Tandon HD, Ueno Y (1990). Environmental Health Criteria 105, Selected Mycotoxins: Ochratoxins, Trichothecenes, Ergot. International Programme on Chemical Safety Report, Published under the Joint Sponsorship of the United Nations Environment Programme and the World Health Organization. World Health Organization, Geneva. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc105.htm>
- Colinski P (1987). Ochratoxin A in Humans as a Result of Food and Feed Contamination. Poznan, Rocznalio Akademii Rolniczej, Doctoral thesis (in Polish). (Alınım tır: Carlton ve ark. 1990)
- Çelik H, Çelik S, Kunter BM, Söylemezo lu G, Boz Y, Özer C, Atak A (2005). Ba cılıktta Geli me ve Üretim Hedefleri. VI. Türkiye Ziraat Mühendisli i Teknik Kongresi Bildirisi, 3-7 Ocak, Ankara.
- Da Rocha Rosa CA, Palacios V, Combinas M, Fraga ME, De Oliveira Rekson A, Magnoli CE, Dalcerro AM (2002). Potential Ochratoxin A Producers from Wine Grapes in Argentina and Brazil. *Food Addit. Contam.*, 19:408-414. (Alınım tır: Pardo ve ark. 2005)
- Erdem H, Özen N (1990). Aflatoxinlerin nsan ve Hayvan Sa lı ı Açısından Önemi. *O.M.Ü. Ziraat fakültesi Dergisi, Cilt:5, Sayı:1-2, Samsun.*
- Evren M (1999). Aflatoxinlerin Etki ekilleri, Gıdalarda Bulunma Durumları ve Önleme Çareleri. *O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, Cilt:14, Sayı:2, Samsun.*
- Harvey RB, Elissalde MH, Kubena LF, Weaver EA, Cirrier DE, Clement BA (1992). Immunotoxicity of Ochratoxin A to Growing Gilts. *Am. J. Vet. Res.* 53, 1966-1970. (Alınım tır: Petzinger ve Weidenbach 2002).
- Hayes MA, Bellamy JEC, Schiefer HB (1980). Subacute Toxicity of Dietary T-2 Toxin in Mice: Morphological and Hematological Effects. *Can. J. comp. Med.*, 44:203-218. (Alınım tır: Carlton ve ark. 1990)
- Heperkan D (2005). Mikotoksinlerin Önemi ve Türkiye’de Mikotoksin Çalı maları. Türkiye’de Mikotoksin Çalı maları: II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildiriler Kitabı, S:3-11. stanbul.

- Heptinstall RH (1974). Pathology of the Kidney. Little Brown and Co., Vol. 11, pp. 828-836, Boston, USA. (Alınmı tır: Carlton ve ark. 1990)
- Huff WE, Chang CF, Warren MF, Hamilton PB (1979). Ochratoxin A Induced Iron Deficiency Anemia. Pub-Med Central Applied and Environmental Microbiology, Vol.37, No.3:601-604.
- Hult K, Plestina R, Habazin-Novak V, Radic B, Ceovic S (1982). Ochratoxin A in Human Blood and Balkan Endemic Nephropathy. Arch. Toxicol., 51:313-321. (Alınmı tır: Carlton ve ark. 1990)
- IARC (1993). Ochratoxin A. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some naturally occurring substances, food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. International Agency for research on Cancer, Geneva, Vol. 56, pp. 26-32. (Alınmı tır Petzinger ve Weidenbach 2002).
- Josefson B, Möller T (1980). Heat Stability of Ochratoxin A in Pig Products. J. Sci. Food Agric., 31:1313-1315. (Alınmı tır: Metin 2006).
- Kane A, Creppy EE, Rosenthaler R, Dirheimer G (1986). Changes of Urinary and Renal Tubular Enzymes Caused by Subchronic Administration of Ochratoxin A in Rats. Toxicology, 61: 489-495. (Alınmı tır: Carlton ve ark. 1990)
- Karagözlü N, Karapınar M (1998). Bazı Tahıl ve Ürünlerinde Okratoksin A ve Fungal Kontaminasyon. Turk J Biol 24(2000), 561-572.
- Kiremit N (1993). *Aspergillus mellus* Tarafından Üretilen Okratoksin A Üretimini Etkileyen Fizyolojik Koşulların Saptanması. Hacettepe Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Biyoloji A.B.D., Bilim Uzmanlığı Tezi, Ankara.
- Konrad I, Roseenthaler R (1977). Inhibition of Phenylalanine tRNA Synthetase from *Bacillus subtilis* by Ochratoxin A. FEBS Lett., 83:341-347. (Alınmı tır: Carlton ve ark. 1990)
- Lai M, Semeniuk G, Hesseltine CW (1970). Conditions for Production of Ochratoxin A by *Aspergillus* Species in a Synthetic Medium. Pub-Med Central Applied Microbiology, Vol.19, No.3:542-544.
- Leong SL, Hocking AD, Scott ES (2006). Effect of Temperature and Water Activity on Growth and Ochratoxin A Production by Australian *A.carbonarius* and *A.niger* Isolates. International Journal of Food Microbiology, 110(2006): 209-216.
- Lombaert GA, Pellaers P, Neumann G, Kitchen D, Huzel V, Trelka R, Kotello S, Scott PM (2004). Ochratoxin A in Dried Vine Fruits on the Canadian Retail Market. Food Additives and Contaminants, Vol. 21, No.6:578-585.
- Magnoli C, Astoreca A, Ponsone L, Combina M, Palacio G, Rosa CAR, Dalcero AM (2004). Survey of Mycoflora and Ochratoxin A in Dried Vine Fruits from Argentina Markets. The Society for Applied Microbiology Letters, 39: 326-331.
- Metin R (2006). Türk Kahvesi Örneklerinde Okratoksin A Varlığı. 1. Trakya Üniversitesi, Gıda Mühendisliği A.B.D. Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ.
- Müller G, Kielstein P, Köhler H, Berndt A, Rosner H (1995). Studies of the Influence of Ochratoxin A on Immune and Defense Reactions in the Mouse Model. Mycoses 38, 85-91. (Alınmı tır: Petzinger ve Weidenbach 2002).

- Olsen M, Jonsson N, Magan N, Banks J, Fanelli C, Rizzo A, Haikara A, Dobson A, Frisvad J, Holmes S, Olkku J, Persson JS, Borjesson T (2003). Prevention of Ochratoxin A in Cereals. Ouality of Life and Management of Living Resources, Final report. Project No. QLK1-CT-1999-00433
- Özkaya , Temiz A (2003). Aflatoksinler: Kimyasal Yapıları, Toksikiteileri ve Detoksifikasyonları. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, Sayı:01, Cilt:01, Sayfa:1-21. <http://www.mikrobiyoloji.org/pdf/702030101.pdf>
- Pardo E, Marin S, Sanchis V, Ramos AJ (2005). Impact of Relative Humidity and Temperature on Visible Fungal Growth and OTA Production of Ochratoxigenic *Aspergillus ochraceus* Isolates on Grapes. Food Microbiology (2005):383-389.
- Patterson D (1977). Metabolism of Aflatoxin and Other Mycotoxin in Relation to Their Toxicity and Accumulation of Residues in Animal Tissues. Pure Appl. Chemistry, 49:1723-1731. (Alınmı tır: Metin 2006)
- Petzinger E, Weidenbach A (2002). Mycotoxins in the Food Chain: the Role of Ochratoxins. Livestock Production Science 76 (2002): 245-250.
- Phillips DL, Yourtee DM, Searles S (1976). Presence of Aflatoxin B₁ in Human Liver in the United States. Toxicol. Appl. Pharmacol., 36: 403-406.
- SCF, 1998. Opinion of the Scientific Committee on Food on Ochratoxin A. (Alınmı tır: Olsen ve ark. 2003).
- Schlatter C, Studer-Rohr J, Rasonyi T (1996). Carcinogenic and Kinetic Aspects of Ochratoxin A. Food Addit. Contam. 13 (Suppl.), 43-44. (Alınmı tır: Petzinger ve Weidenbach 2002).
- Scott PM (1984). Effects of Food Processing on Mycotoxins. J. Food Protection, 47:489-499. (Alınmı tır: Metin 2006).
- Scott PM (1993). Mycotoxins. J.Assoc. of Anal. Chemistry, 76:112-119. (Alınmı tır: Metin 2006)
- Scott PM (1996). Effects of Processing and Detoxification Treatments on Ochratoxin A. Food Addit. Contam., 13:19-21. (Alınmı tır: Metin 2006)
- Sharman M, Patey AL, Bloomfield DA, Gilbert J (1991). Surveillance and Control of Aflatoxin Contamination of Dried Figs and Fig Paste Imported into The United Kingdom. Food Addit. Contam. May-Jun 8(3):299-304.
- Stormer FC, Lea T (1995). Effects of Ochratoxin A Upon Early and Late Events in Human T-cell Proliferation. Toxicology 95, 45-50. (Alınmı tır: Petzinger ve Weidenbach 2002).
- Suzuki S, Satoh T (1973). Effect of Ochratoxin A on Tissue Glycogen Levels in Rats. Jpn. J. Phamacol., 23: 415-419. (Alınmı tır: Carlton ve ark. 1990)
- enyuva HZ, Gilbert J, Özcan S, Ülken U (2005). Survey for Co-Occurrence Of Ochratoxin A and Aflatoxin B₁ in Dried Figs in Turkey by Using Single Labratory Valid. Journal of Food Protection, Volume 68:1512-1515
- Tanamaka BT, Taniwaki MH, Menezes HC, Vicente E, Fungaro MH (2005). Incidence of Toxicogenic Fungi and Ochratoxin A in Dried Fruits Sold in Brazil. Food Addit. Contam., December 22(12):1258-63.

- Ta kaya B (2003) Kuru üzüm, T.E.A.E-Bakı . Tarımsal Ekonomi Ara tırma Enstitüsü Dergisi. Sayı 3, Nüsha 7.
- Tayda EE (1993). Kırmızı Biberlerde Aflatoksin ve Okratoksin Olusumu Üzerinde Ara tırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 94s.
- Tomova S (1977). Stability of Ochratoxin A in Foods. Zhig, Zdraveopaz, 20:266-270. (Alınmı tır: Metin 2006).
- Tosun H, Demirel NN, Çoban H (2006). Üzüm ve Üzüm Ürünlerinde Okratoksin A Sorunu. C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi, 2.2 (2006): 141-145. ISSN 1305-1385
- Tunail N (2000). Funguslar ve Mikotoksinler. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Geni letilmi 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisli i Bölümü yayını, s:522, 03.Bölüm, 13.kısım, Sim Matbaası, Ankara.
- Ünlütürk A, Turanta F (1998). Gıda Mikrobiyolojisi. Ege Üniversitesi Yayınları, 1.Baskı, zmir.
- Valero A, Olivan S, Marin S, Sanchis V, Ramos AJ (2007). Effect of Intra and Interspecific Interaction on OTA Production by *A. section Nigri* in Grapes during Dehydration, Food Microbiology, Volume 24, Issue 3, pp:254-259.
- Yıkılmaz F. (2007). Tekirda linde Satı a Sunulan Kuru ncirlerde Aflatoksin Varlı ı. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisli i A.B.D. Yüksek Lisans Tezi, Tekirda .

ÖZGEÇM

15.05.1982 tarihinde Çanakkale’de doğdum. Orta ve lise eğitimi Biga Atatürk Anadolu Lisesi’nde tamamladım. 2004 yılında Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümünde lisans eğitimi tamamladım. Aynı yıl Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı İstanbul İl Müdürlüğü’ne bağlı Silivri İlçe Tarım Müdürlüğü’ne atandım. 2006 yılında Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda yüksek lisans yaptım. Halen Çanakkale Tarım İl Müdürlüğü Kontrol Şube Müdürlüğü’nde görev yapmaktayım.