



Çukurova ve Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Satışa Sunulan Kırmızı Pul Biber ve Kuru İncirler'de Aflatoksin B₁ ve Toplam Aflatoksin (B₁,B₂,G₁,G₂) İçeriğinin Yüksek Performans Sıvı Kromatografi Yöntemi ile Belirlenmesi

Fatma HEPSAĞ^{1*}, İbrahim HAYOĞLU²

¹Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Kadırlı Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Gıda Teknolojisi Programı, 80760 Osmaniye

²Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 63040 Şanlıurfa

¹<https://orcid.org/0000-0002-3688-4106>

²<https://orcid.org/0000-0002-6358-8302>

*Sorumlu yazar: fatmahepsag@osmaniye.edu.tr

Araştırma Makalesi

ÖZ

Makale Tarihiçesi:

Geliş tarihi: 29.12.2021

Kabul tarihi: 18.05.2022

Online Yayınlanma: 12.12.2022

Anahtar Kelimeler:

Kuru incir

Kırmızı pul biber

AFB₁

AFB₂

AFG₁

AFG₂

Toplam AF

Aflatoksinler; küller tarafından üretilen ve diğer organizmalara zararlar verebilen toksik karakterli ikincil metabolitlerdir. Bu çalışmada, Adana İli'nden 8'er adet, kırmızı pul biber ve kuru incir, Mersin İli'nden 9'ar adet ve Osmaniye İli'nden 8'er adet örnekler, küçük ölçekli çiftçilerden, perakende mağazalardan ve süpermarketlerden temin edilmiştir. Kırmızı pul biber ve kuru incir örneklerinin aflatoksin B₁ (AFB₁), aflatoksin B₂ (AFB₂), aflatoksin G₁ (AFG₁), aflatoksin G₂ (AFG₂) ve toplam aflatoksin (AF) içerikleri incelenmiştir. AF miktarlarını ölçmek için floresans dedektörlü (HPLC-FLD) HPLC kullanılmıştır. Belirlenebilir en düşük tespit limiti (LOD) 0,1 ile 0,42 µg kg⁻¹, tayin limiti (LOQ) ise 0,11 ile 0,45 µg kg⁻¹ arasında değişmiştir. Yirmi beş adet kuru incir örneğinin %44'ünde (11 adet) toplam AF tespit edilmiştir. AF'lerin konsantrasyonları 0,10 ile 0,19 µg kg⁻¹ arasında saptanmıştır. AFB₁ incir örneklerinin %36'sında (9 adet), AFG₁ %24'ünde (6 adet) tespit edilmiştir. Kırmızı pul biber örneklerinin %28'inin (7 adet) AFB₁ açısından standartlara uymadığı tespit edilmiştir. Biber örneklerin %16'sında (4 adet) toplam AF tespit edilmiştir. Aflatoksin tespit edilen örneklerin değerleri "Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ (2011/28157)" ile belirlenmiş olan yasal değerlerin üzerindedir.

Determination of Aflatoxin B₁ and Total Aflatoxin (B₁,B₂,G₁,G₂) Content in Red Peppers and Dried Figs Sold in Çukurova and the Eastern Mediterranean Region by High Performance Liquid Chromatography Method

Research Article

ABSTRACT

Article History:

Received: 29.12.2021

Accepted: 18.05.2022

Published online: 12.12.2022

Keywords:

Dried fig

Red chili pepper

AFB₁

AFB₂

AFG₁

AFG₂

Total AF

Aflatoxins are toxic secondary metabolites produced by molds that can harm other organisms. In this research, 8 samples each from Adana, red chili peppers and dried figs, 9 each from Mersin and 8 samples from Osmaniye were obtained from small-scale farmers, retail stores and supermarkets. Aflatoxin B₁ (AFB₁), aflatoxin B₂ (AFB₂), aflatoxin G₁ (AFG₁), aflatoxin G₂ (AFG₂) and total aflatoxin (AF) contents of red chili pepper and dried fig samples were investigated. HPLC with fluorescence detector (HPLC-FLD) was used to measure AF amounts. The lowest detectable limit of detection (LOD) ranged from 0.1 to 0.42 µg kg⁻¹, and the limit of detection (LOQ) ranged from 0.11 to 0.45 µg kg⁻¹. Total AF was detected in 44% (11 samples) of 25 dried fig samples. Concentrations of AFs ranged from 0.10 to 0.19 µg kg⁻¹. AFB₁ was detected in 36% (9 specimens) and AFG₁ in 24% (6 specimens). It was determined that 28% (7 pieces) of red chili pepper samples did not comply with the standards in terms of AFB₁. Total AF was detected in 16% (4 pieces) of pepper samples. The values of the samples in which aflatoxin was detected are above the legal values determined by the "Communiqué on Maximum Limits of Contaminants in Foodstuffs

To Cite: Hepsağ F., Hayoğlu İ. Çukurova ve Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Satışa Sunulan Kırmızı Pul Biber ve Kuru İncirler'de Aflatoksin B₁ ve Toplam Aflatoksin (B₁,B₂,G₁,G₂) İçeriğinin Yüksek Performans Sıvı Kromatografi Yöntemi ile Belirlenmesi. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2022; 5(3): 1393-1406.

1. Giriş

Kurutulmuş ürünler ile ilgili önemli sorunlardan biri küf kontaminasyonudur. Küf kontaminasyonu; insan sağlığı, gıda güvenliği ve ekonomik açıdan önem teşkil eder. Kurutulmuş meyveler ve baharatlar yetiştirilme durumları, işleme özellikleri ve depolama süreçlerindeki hassasiyet açısından küf gelişimine ve toksin oluşumuna açık ve aynı zamanda uygun ürünlerdir (Peter ve Cotty, 2017). Meyvelerin kurutulması muhafaza edilmesi kronolojik olarak eski çağlardan beri kullanılan önemli ve güncelliğini kaybetmeyen gıda saklama yöntemlerinden biri olmakla birlikte yetersiz kurutma ve uygun olmayan depolama koşulları, kurutulmuş meyvelerde küf gelişimine ve aflatoksin oluşumuna neden olabilmektedir.

Kırmızı biber, *Solanaceae* familyasına ait olan *Capsicum annuum L.* türüne dahil bir sebzedir. Kırmızı pul biber ülkemizin; Kahramanmaraş, Gaziantep, Adıyaman, Şanlıurfa ve Hatay bölgelerinde yoğun olarak üretilen, ekonomik potansiyeli yüksek, önemli ihraç ürünlerimiz arasındadır. Modern yöntemlerle ve bazen de geleneksel yöntemlerle hijyenik olmayan koşullarda ve kontrolsüz şekilde kurutulup öğütülmesiyle elde edilen kırmızı pul biber tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de baharat olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Fiziksel özelliği bakımından son ürünün rengi, mikrobiyal özelliği bakımından da aflatoksin içeriği kurutulmuş kırmızı pul biber açısından iki önemli parametredir (Duman ve ark., 2003). Kuru incir ise *Ficus carica domestica L.* türüne giren ağaçların olgun meyvelerinin hasat edildikten sonra mekanik yada açık havada güneş altında kurutulmasıyla elde edilir. İncir ülkemizin Akdeniz kıyı bölgelerinde, İç Anadolu'da yetişen ekonomik potansiyele sahip önemli ihraç ürünlerimizdendir (Akova, 2009). İncir yüksek oranda şeker içeriği, hasat ve hasat sonrası koşullar nedeniyle küf ve mikotoksin oluşumunun görülebildiği bir üründür (Karbancıoğlu ve Heperkan, 2008). Toksik küf kontaminasyonu kırmızı pul biberde tarlada, incir içinde kurutma esnasında başlar ve sonraki aşamalarda devam eder. Geleneksel olarak güneşte kurutma, kurutma işleminin yavaşlığı, iklim koşullarına bağlı olarak, küflerin gelişimi, toksin üretimi, besin kayıplarının artması ve çoğalması nedeniyle meyve bütünlüğünü olumsuz yönde etkileyebilir. Nitekim incir ve kırmızı pul biber, bu tür ürünlerde ekonomik, sağlık ve güvenlik açısından en önemli risk olan toksijenik küfler ve bu küflerin mikotoksinleri açısından yüksek riskli ürünler olarak kabul edilmektedir (Babalıs ve Belessiotis, 2004). Genellikle küfler 25°C'de %80 bağıl nemde iyi gelişirler (Cemeroğlu ve Özkan, 2004). Aflatoksinler, *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* cinsi küfler tarafından oluşturulan bir grup bileşikler olup iki gruba ayrılırlar. Difurokumarosiklopentanon serisi AFB₁, AFB₂, AFB_{2A}, AFM₁, AFM₂, AFM_{2A} ve aflatoksikoldür. Diğer grup difurokumarolakton serisi AFG₁, AFG₂, AFG_{2A}, AFGM₁, AFGM₂, AFGM_{2A} ve AFB₃'dür. Aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂ ve M₁ doğal

floresan verirler. Aflatoksin B₁ ve B₂ 365nm dalga boyunda UV altında mavi floresan G₁ ve G₂ yeşil floresan verirler (Artık, 2007; İnan ve ark., 2007; Sabuncuoğlu ve ark., 2008). Günümüzde gıda güvenliği kavramı büyük önem taşımakla birlikte gıdalardaki toksik maddelerde, gerekli kriterlere dikkat edilmediğinde tarladan sofraya gıda güvenliğini olumsuz etkilemektedir. Toksinler, enfeksiyon ve zehirlenmeye (intoksikasyon) neden olduğu için sağlık açısından büyük önem taşımaktadır (Blesa ve ark., 2004). Yapılan çeşitli çalışmalar aflatoksinin karsinojenik, genotoksik, teratojenik, bağışıklık sistemini baskılayıcı ve nefrotoksik özellikte olduğunu göstermektedir (Magan ve Olsen, 2004). İncelenen çalışmalar, meyvelerin kurutulması sırasında başta hammadde seçimine ve kurutma işlemine gereken özenin gösterilmesinin önemini ortaya çıkarmıştır. Bu sayede sağlık üzerine olumsuz etkileri olan toksinlerin varlığının önüne geçilebileceği düşünülmektedir (Council for Agricultural Science and Technology Mycotoxins, 2003).

Bu çalışma ile amacımız; Akdeniz bölgesinde satışa sunulan kuru incir ve kırmızı pul biberlerin aflatoksin içeriklerini belirlemek, standartlar ile karşılaştırmak ve gıda güvenliği açısından değerlendirmektir.

2. Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan kuru incir; 2018 tarihinde üretilmiş ürünler olup Aydın, Manisa ve İzmir'den ve kırmızı pul biber örnekleri ise Şanlıurfa, Kahramanmaraş ve Adıyaman'da 2018 tarihinde üretilmiş ürünler olup, 2019 Mart ayında Adana İli'nden 8'er adet, Mersin İli'nden 9'ar adet ve Osmaniye İli'nden 8'er adet şeklinde temin edilmiştir. Perakende mağazalardan ve süpermarketlerden 100 g ve 250 gr olan kapalı ambalajlardan 1kg olacak şekilde satın alınmıştır. Analizler iki ay kadar sürmüş olup örnekler analiz sürecine kadar 4°C'de depolanmıştır.

2.1. Aflatoksin Analizi

Tüm örneklerde aflatoksin analizi, AOAC'nin 999.07 nolu metoduna göre Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) kullanılarak yapılmıştır (AOAC, 2000). Yöntem, analiz numunesinin, metanol/su solvent karışımıyla ekstraksiyonu, Aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂'ye spesifik monoklonal antikorlar içeren immuno affinite kolonla temizleme, kolon sonrası elektrokimyasal brom türevlendirme ve floresan dedektörlü ters faz likit kromatografi ile Aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂'nin tayin edilmesi ilkesine dayanmaktadır. Metodun uygulanması; nNumunenin hazırlanması, ekstraksiyon, ekstrakt seyreltme, kolon kromatografisi, HPLC'ye enjeksiyon, sonucun değerlendirilmesi ve hesaplanması aşamalarından oluşmuştur.

2.2. Analiz için gerekli alet-ekipman ve aksesuarlar

Ekstraksiyon için 1 L'lik paslanmaz çelik bir kap içeren bir Waring blendır (Waring Products Co., Torrington, Connecticut, ABD), vorteks (girdap karıştırma yapabilen) (DRAGONLAB), ısıtmalı manyetik karıştırıcı (100-1000 rpm devir aralığı, 0-110 °C ısıtma aralığı olan) (DRAGONLAB),

vakum pompası ve manifoldu (SCHMALZ, EVE-TR X), maksimum basınç 4 bar, vakum 230, derin dondurucu (-23) – (-10) °C arasında çalışan, HPLC cihazı (Agilent 1100), floresan dedektör, termostatlı kolon fırını, otomatik örnekleyici, izokritik pompa, vacuum degasser, HPLC kolonu (C-18) aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂'yi diğer bütün piklerden ve birbirinden ayırabilen, kobracell ve bağlantı hortumları, elektrokimyasal olarak oluşturulan bromla türevlendirme sistemi, akım kaynağı (kobracell'e akım vererek türevlendirme yapılmasını sağlayan, maksimum 100µA), cam microfiber filtre kağıdı, AflaTest® immünoafinite kolonları (IAC'ler, ürün kodu: 12022) Vicam®'dan (Watertown, MA, ABD) kullanılmıştır.

2.3. Kullanılan Kimyasallar ve Hazırlanışı

Çözücüler olarak Metil alkol (MeOH), asetonitril (ACN) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD)) HPLC saflığında, potasyum bromür (KBr, Merck Darmstadt, Almanya) analitik saflıkta kullanılmıştır. 4 Molar HNO₃ çözeltisi hazırlanmıştır, hazır olarak alınan 6 ml'lik 1 µg ml⁻¹ sertifikalı mix standarttan (stok standart) (R-Biopharm Rhone) ara stok standartları hazırlanmıştır. 10 ppb'lik 25 ml ara stok hazırlamak için stok standart'tan 25 ml'lik renkli balon jöjeye otomatik pipetle 1 ml alınıp MeOH ile 25 ml'ye tamamlanmıştır. Ara stoktan 0.1 ppb, 0,2 ppb, 0,4 ppb, 1,2 ppb, 2 ppb, 4 ppb, 5ppb'lik 10'ar ml çalışma standartları hazırlanmıştır.

HPLC Mobil Faz Hazırlanması: Saf su/ACN/MeOH (60/20/30 v/v/v) karışım hazırlanmıştır. Çözeltinin 1 litresine elektrokimyasal türevlendirme için 120 mg KBr ve 350 µl 4 mol HNO₃ ilave edilmiştir.

HPLC şartları: Dalga Boyu: Ex: 360 nm; Em: 430 nm, Sıcaklık: 25 °C, Pompa Akış Hızı: 1 ml/dk, Basınç: ...<300 bar, Enjeksiyon Hacmi : 100 µl'dir.

2.4. Cihazın standartlar ile kalibrasyonu

Her bir aflatoxin için en az beş ayrı noktadan oluşan bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Kalibrasyon eğrisi için hazırlanan çalışma standartları kullanılmıştır. Hazırlanan her standarttan HPLC'ye 100 µl enjekte edilmiştir. Her analizde kalibrasyon eğrisi bir standart enjeksiyonu ile kontrol edilmiştir.

2.5. Geri kazanım

Konsantrasyonu belirli aflatoxin standardı, yıllık kalibrasyonu yapılmış HPLC cihazına verilerek standart maddenin piki elde edilmiştir. Numune hazırlanarak aynı programla HPLC cihazına verilmiştir, yine aynı numunenin içerisine belirli miktarda standart eklenerek aynı yöntemle numune hazırlanmış aynı programla HPLC cihazına verilmiştir. Her pike karşılık gelen alanlar belirlenip, standart eklenmiş numunenin alanından numune alanı çıkarılarak, orjinal standartın alanı belirlenmiş olup bu alanlara karşılık gelen konsantrasyonlar hesaplanmıştır.

Geri kazanım (%) = %R = [(CF - CU) / CA] x 100

CF: Standart eklenmiş kör örnek ölçüm sonucu, CU: Standart eklenmemiş kör örnek ölçüm sonucu, CA: Eklenen standart miktarı.

2.6. Ekstraksiyon ve seyreltme

25 g öğütülmüş numune blender kabına aktarılmıştır. Blender kabına 125 ml metanol:su (87,,5:37,,5) ve 5 g NaCl ilave edilmiştir. Blender kabının kapağı kapatılıp yüksek hızda 2 dk süre ile karıştırılmıştır. Ekstrakt kaba filtre kağıdından geçirilmiştir. Elde edilen filtratın 15 ml'si mezüre aktarılmış, üzerine 30 ml ultra saf su ilave edilip iyice karıştırılmıştır. Son olarak, karışım cam mikrofiber filtreden geçirilip, filtrat elde edilmiştir.

2.7. Kolon kromatografisi

15 ml numune ekstraktı immuni affinite kolonundan (İAK) 1-2 damla/saniye hızla geçirilmiştir. Ekstraktan sonra kolondan 2-3 ml hava geçirilmiştir (kolondan her yeni solüsyon veya hava geçirileceğinde, şırınga kolondan ayrılmış ve piston bu durumda çıkarıldıktan sonra şırınga kolona tekrar takılmıştır). Numune ekstraktı kolondan tamamen geçtikten sonra kolondan 20 ml ultra saf su 1-2 damla/saniye hızla geçirilip, ardından tekrar 2-3 ml hava geçirilmiştir. Tekrar, kolondan 1-2 damla/saniye hızla 1 ml metanol (HPLC Grade) geçirilmiştir. Eluat temiz bir vialde toplanmıştır. Yine 2-3 ml hava geçirilerek kolonda metanol kalmaması sağlanmıştır. Son kez kolondan 1 ml ultra saf su geçirilmiştir. Tüp karıştırıcıda karıştırılmıştır. Süzüntü 1.5ml'lik vialde alınıp HPLC cihazına analiz yapmak üzere verilmiştir (HPLC'ye 100 µl enjekte ettirilmiştir).

2.8. Sonucun değerlendirilmesi ve hesaplanması

Seyreltme faktörü hesaplanırken, 25 g örnek 125 ml' ye seyreltilip karışımdan 15 ml alınmıştır. Bu durumda 15 ml'de 1 g örnek vardır. Filtratın 15 ml'si temiz bir mezüre aktarılıp, mezüre 30 ml ultra saf su ilave edilip iyice karıştırılmıştır. Ekstrakt, cam mikrofiber filtre kağıdından geçirilip, filtrat temiz bir mezürde toplanmıştır. 15 ml numune ekstraktı İAK'na alınıp 2. süzüntüye alınırken 1/3 oranında tekrar seyreltme yapıldığı için bu durumda 15 ml'de 1 g örnek vardır. 1 g örnek, 1 ml metanol ve 1 ml saf su ile seyreltilmiştir. Sonuçta 1 g örnek 2 kat olarak seyreltilmiştir. Burada seyreltme faktörü 2'dir. Cihaza seyreltme faktörü yazılıp, çıkan pikin integrasyonu alınarak sonuç ppb olarak hesaplanmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Tayin limiti ve ölçüm limiti

Tayin limiti (LOD) ve ölçüm limiti (LOQ) çalışması için cihazda okunabilen en düşük konsantrasyonların en az 3 katı konsantrasyonda (0,1 ppb) çalışma standardı hazırlanarak sekiz kez

Agilent 1100 HPLC cihazına enjekte edilmiştir. LOD ve LOQ aşağıdaki formüle göre hesaplanmış (Thompson, 2000), sonuçlar Tablo 1’de özetlenmiştir.

Tayin limiti (LOD) = $ORT + (3 \times SD)$, Ölçüm limiti (LOQ) = $ORT + (10 \times SD)$

ORT: Ortalama konsantrasyon, SD: Standart sapma

Tablo 1. Aflatoksin analiz metoduna ait performans sonuçları.

Analiz No	Aflatoksin B ₁ (ppb)	Aflatoksin B ₂ (ppb)	Aflatoksin G ₁ (ppb)	Aflatoksin G ₂ (ppb)	Toplam Aflatoksin (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂) (ppb)
1	0,103	0,102	0,101	0,102	0,408
2	0,100	0,100	0,101	0,103	0,404
3	0,101	0,100	0,101	0,101	0,402
4	0,101	0,101	0,100	0,101	0,402
5	0,101	0,102	0,100	0,108	0,411
6	0,102	0,102	0,100	0,103	0,407
7	0,102	0,102	0,102	0,105	0,411
8	0,101	0,101	0,104	0,095	0,401
ORT	0,101	0,101	0,101	0,102	0,406
SD	0,001	0,001	0,001	0,004	0,004
LOD	0,104	0,104	0,105	0,113	0,418
LOQ	0,111	0,110	0,115	0,140	0,446

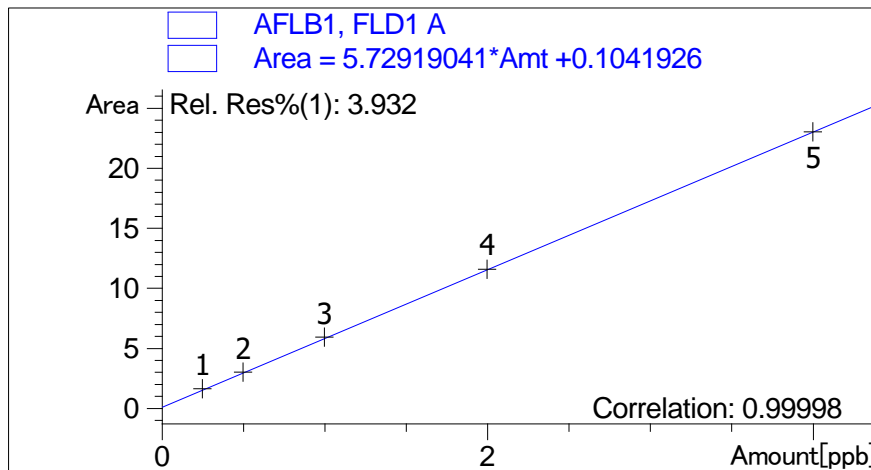
LOD (Limit of Detection): Tespit limiti

LOQ (Limit of Quantification): Tayin limiti

3.2. Lineer ölçüm aralığı

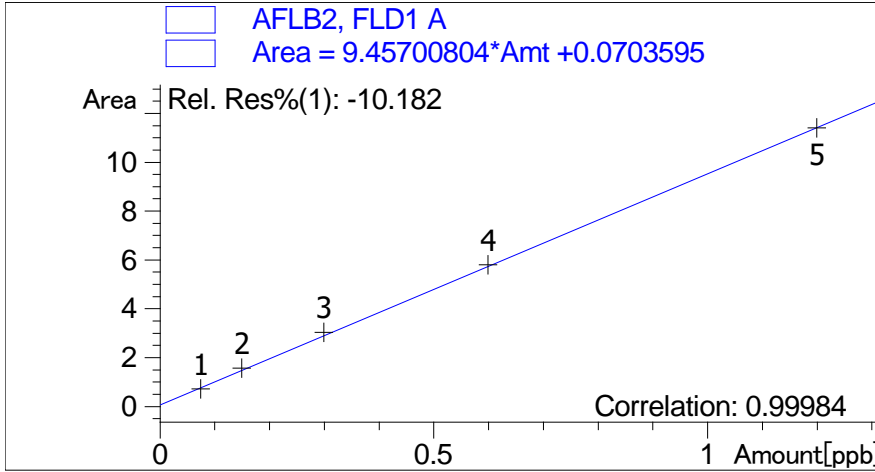
Lineer ölçüm aralığını belirlemek için 5 farklı konsantrasyonda standartlar hazırlanarak, elde edilen sonuçlar kullanılarak kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Aflatoksin standartlarına ait kalibrasyon eğrilerine ait grafikler Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3 ve Şekil 4 ‘de verilmiştir.

Aflatoksin B₁ için korelasyon katsayısı (r^2)= 0,9999



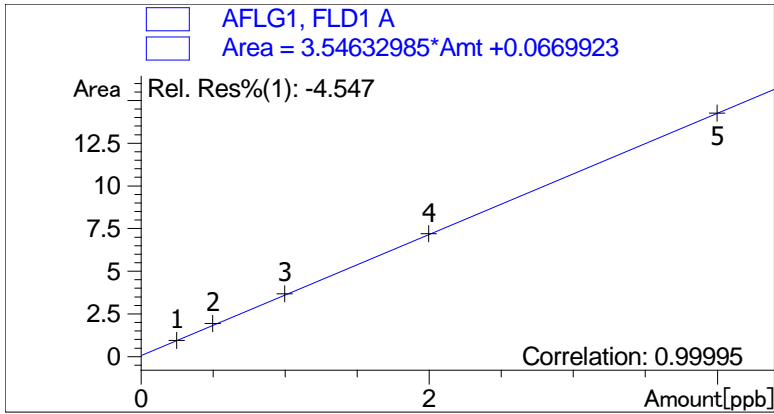
Şekil 1. Aflatoksin B₁ standardına ait kalibrasyon eğri grafiği.

Aflatoksin B₂ için korelasyon katsayısı (r^2)= 0,9998



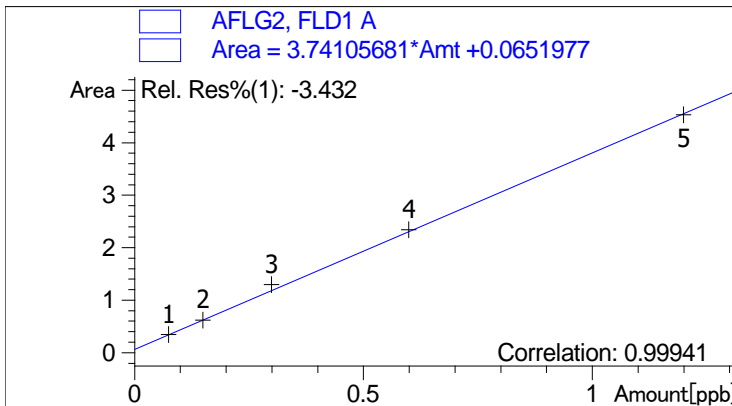
Şekil 2. Aflatoksin B₂ standardına ait kalibrasyon eğri grafiği.

Aflatoksin G₁ için korelasyon katsayısı (r^2)= 0,9999



Şekil 3. Aflatoksin G₁ standardına ait kalibrasyon eğri grafiği.

Aflatoksin G₂ için korelasyon katsayısı (r^2)= 0,9994



Şekil 4. Aflatoksin G₂ standardına ait kalibrasyon eğri grafiği.

Kuru incir örneklerine ait aflatoksin sonuçları Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Kuru incir örneklerinin aflatoksin içerikleri (ppb).

Örnek No	Aflatoksin B ₁ (ppb)	Aflatoksin B ₂ (ppb)	Aflatoksin G ₁ (ppb)	Aflatoksin G ₂ (ppb)	Toplam Aflatoksin (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂) (ppb)
1	4,53	1,80	3,45	0,32	10,10
2	3,65	1,16	3,47	0,22	8,50
3	11,01	1,72	4,21	0,24	17,18
4	8,06	1,19	5,12	0,31	14,68
5	6,52	1,50	4,52	0,41	12,95
6	7,02	1,61	5,41	0,37	14,41
7	3,13	1,91	2,12	0,41	7,57
8	4,10	1,87	2,32	0,23	8,52
9	4,58	1,54	5,41	0,24	11,77
10	12,56	1,24	5,65	0,36	19,81
11	11,23	1,74	5,14	0,47	18,58
12	9,63	1,63	4,98	0,45	16,69
13	4,23	1,54	2,31	0,29	8,37
14	3,54	1,98	2,12	0,28	7,92
15	7,56	1,86	4,24	0,31	13,97
16	9,89	1,54	5,87	0,32	17,62
17	4,87	1,69	2,65	0,25	9,46
18	3,65	1,87	1,41	0,35	7,28
19	3,54	1,78	3,25	0,32	8,89
20	3,52	1,94	2,17	0,31	7,94
21	4,54	1,61	3,18	0,41	9,74
22	2,58	1,69	3,57	0,41	8,25
23	3,41	1,54	3,41	0,43	8,79
24	3,51	1,96	4,12	0,39	9,98
25	2,41	1,94	1,96	0,29	6,60
Min	2,41	1,16	1,96	0,22	6,60
Max	12,56	1,98	5,87	0,47	19,81
Ort	5,47	3,38	3,60	0,34	11,26

“‘Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ (2011/28157)’” ile belirlenmiş olan yasal değerlere baktığımızda kuru incir için yasal sınır AFB₁ için 5 µg kg⁻¹, toplam AF (B₁+B₂+G₁+G₂) için 10 µg kg⁻¹ dir. Tablo 2 ‘de görüldüğü gibi 25 adet kuru incir örneğinin 11 tanesinde (%44’ünde) toplam aflatoksin tespit edilmiştir. Toplam AF'lerin konsantrasyonları 10,10 ile 19,81 µg kg⁻¹ arasında belirlenmiştir. 25 adet kuru incir örneğinin %36’sında (9 adet) AFB₁ tespit edilmiştir. AFB₁ ‘lerin konsantrasyonları 6,52 ile 12,56 µg kg⁻¹ arasında değişmiştir. AFG₁ ise numunelerin %24’ünde (6 adet) bulunmuştur. Toplam AFG₁'lerin konsantrasyonları 5,12 ile 5,87 µg kg⁻¹ arasında değişmiştir. Aflatoksin tespit edilen örneklerin değerleri “‘Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ (2011/28157)’” ile belirlenmiş olan yasal değerlerin üzerindedir. Kabak (2016), yaptığı çalışmada 130 incir numunesinin % 12,3’ünde (16 adet) AF tespit etmiştir. AF'lerin konsantrasyonları 0,1 ile 28,2 µg kg⁻¹ arasında değişmiştir. Dört AF türünün tümü saptanırken, en sık meydana gelen AF'ler 0,1 ile 12,5 µg kg⁻¹ arasında değişirken AFB₁ (% 12,3), AFB₂ 0,2 ile 10,72 µg kg⁻¹ kadar değişen seviyelerde, %6,9 olarak tespit

edilmiştir. AFG₁ üç numunede (%2,3) ve AFG₂ ile sadece bir örnekte (%0,8) bulunmuştur. Analitik sonuçlara göre, altı kuru incir örneği AFB₁ 20 µg kg⁻¹ Avrupa Birliği (AB) üye ülkelerinde aflatoksinlerin yasal limitlerinden (AB MRL değeri) daha yüksek seviyede tespit edilmiştir. AB MRL değerlerine baktığımızda kuru incir için yasal sınır AFB₁ için 6 µg kg⁻¹, toplam AF (B₁+B₂+G₁+G₂) için 10 µg kg⁻¹ dir. Bircan ve ark., (2008), HPLC yöntemini kullanarak AF'lerin varlığı için Türkiye'den AB'ye ihracat için toplam 4917 adet kuru incir örneğini analiz etmiştir. Kurutulmuş incir örneklerinin %32'sinde, toplam AF'ler 10 ila 260 µg kg⁻¹ arasında tespit edilmiştir. Benzer bir çalışmada, Toplam AF'nin kontaminasyonu, iç piyasada satılan, toplam 219 kuru incir numunesinin % 47,5'sinde, ihracata yönelik olanlarda 2461 kuru incirin %23,6'sında maksimum 10 ile 278 µg kg⁻¹ oranında tespit edilmiştir (Bircan ve Koç, 2012). Mimoune ve ark., (2018), Cezayir'den toplanmış 112 adet incir, yer fıstığı ve badem örneklerinde aflatoksin B₁ (AFB₁), B₂ (AFB₂), G₁ (AFG₁) ve G₂ (AFG₂) 'nin oluşumu, kolon sonrası floresan tespiti ile bağlanmış yüksek performanslı sıvı kromatografisine (HPLC) dayanan hassas bir yöntemle belirlemiştir. Analitik sonuçlar, 28 fıstık numunesi, 16 badem numunesi ve 26 kuru incir numunesi tespit edilebilir AF seviyeleri içerdiğini göstermiştir. 69 örnekte (%61,6) toplam AFB₁ maksimum 174 µg kg⁻¹'a kadar tespit edilmiştir. AFB₂, 12 örnekte (%10,7) bulunmuş ve 0,18 ile 193 ug kg⁻¹ arasında değişmiştir. 7 örnek, AF konsantrasyonları bakımından düşük bulunmuştur. 11 fıstık ve 14 kurutulmuş incir örneği AFB₁ için Avrupa maksimum sınırlarını aşmıştır.

İncirde uygun olmayan depolama şartları, hasat ve kurutmanın uzun sürmesi aflatoksin oluşumu için en önemli durumlardır. Kuru incirin geleneksel üretim tekniği ve meyve yapısı gereği ostiol açıklığının bulunmasından dolayı üretiminde iyi tarım uygulamaları uygulansa dahi genellikle aflatoksin oluşumu engellenememektedir. Böyle durumlarda aflatoksinli incirlerin işletme koşullarında seçilerek ayıklanması gerekmektedir. Meyve yüzeyinde veya içerisinde oluşan aflatoksinin çeşitli yöntemler ile parçalanması (detoksifikasyon) incir meyvesi için çoğunlukla mümkün olmamakla beraber dünyada ve ülkemizde yasak bir uygulamadır. Kuru incirde yapılan çalışmalarda en çok tespit edilen mikotoksinler AF'ler ve OTA'dır. Bir çok meyveye göre, incirler daha yüksek miktarda AFB₁ içermektedir (Heperkan, 2006). Kuru incirde AF'ler, OTA, fumonisin (Karbancıoğlu-Güler ve Heperkan, 2008) ve patulin (Karaca ve Nas, 2006) gibi mikotoksinlerin olduğunu gösteren bir çok çalışmalar vardır. Yapılan araştırmalar sonucunda karanlık oda şartlarında seçilen incirlerin yaklaşık %0,6-1,2'sinde ışığa yapan meyve olduğu ortaya konulmuş olup bunların ayıklanması inciri güvenli bir besin kaynağı haline getirmektedir. Aflatoksin bulunsu dahi belirli limitlerle izin verilen gıdalar dünyada ve ülkemizde vardır. İncir ve kırmızı pul biberde bu sınır değerler genellikle AFB₁ için 5ppb, toplam AF için 10ppb'dir. Sonuç olarak incirde aflatoksin bulunma riski günlük diyetimizde çok fazla yer alan tahıl, hububat ve hazır gıdalardaki aflatoksin riskine göre daha düşük seviyelerdedir.

Tablo 3. Kırmızı pul biber örneklerinin aflatoksin içerikleri (ppb).

Örnek No	Aflatoksin B ₁ (ppb)	Aflatoksin B ₂ (ppb)	Aflatoksin G ₁ (ppb)	Aflatoksin G ₂ (ppb)	Toplam Aflatoksin (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂) (ppb)
1	4,53	1,10	-----	-----	5,63
2	3,65	-----	-----	-----	3,65
3	5,01	1,22	-----	-----	6,23
4	4,06	1,19	-----	-----	5,25
5	3,52	1,20	-----	-----	4,72
6	7,02	-----	-----	-----	7,02
7	3,13	0,24	-----	-----	3,37
8	4,10	0,13	-----	-----	4,23
9	4,58	0,14	-----	-----	4,72
10	12,76	0,24	-----	-----	12,08
11	11,23	1,12	-----	-----	12,35
12	9,63	1,21	-----	-----	10,84
13	4,23	-----	-----	-----	4,23
14	3,54	0,14	-----	-----	3,68
15	4,56	1,10	-----	-----	5,66
16	9,89	-----	-----	-----	9,89
17	8,87	1,21	-----	-----	10,08
18	3,65	0,15	-----	-----	3,80
19	2,54	0,18	-----	-----	2,72
20	3,52	0,21	-----	-----	3,73
21	4,54	0,32	-----	-----	4,86
22	2,58	-----	-----	-----	2,58
23	3,41	0,21	-----	-----	3,62
24	4,52	0,32	-----	-----	4,84
25	2,21	0,34	-----	-----	2,75
Min	2,21	0,13	-----	-----	2,72
Max	12,76	1,22	-----	-----	12,35
Ort	5,25	0,48	-----	-----	5,70

----- Tespit edilemedi veya LOQ değerinin altındadır.

Kırmızı biberlerde, AFB₁ ve toplam aflatoksin için izin verilen değerin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği (TGK, 2011) ve Avrupa Birliği gıda mevzuatında (EU, no 165/2010) sırasıyla 5 ppb ve 10 ppb olduğu bildirilmektedir (Anonymous, 2010; Anonim, 2011). Tablo 3’de görüldüğü gibi, kırmızı biber örneklerinin %28’i (7 adet) AFB₁ açısından standartlara uymadığı tespit edilmiştir. Analiz edilen örneklerin toplam AF açısından %16’sı (4 adet) dışında yasal limitleri aşmadığı belirlenmiştir. Sonuçlara göre, genelde kırmızı pul biber örneklerinin aflatoksin içeriklerinin çok düşük olduğu görülmektedir. Örneklerden bazılarının tespit limitinin üzerinde çıkması, kullanılan taze biber çeşit, kalitesi ve içerdiği su aktivitesi, kurutma sıcaklığı, proses ortamı ve iklim koşullarından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Ayrıca üretim zamanlarının ve kurutma süresinin farklı olması bu farklılıkların oluşmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Kontrollü şartlarda üretilen kırmızı biberlerde aflatoksin içeriklerin çok düşük olduğu belirtilmektedir (Marin ve ark., 2009).

Zahra ve ark., (2018) Pakistan’daki kırmızı biber, karabiber, incir ve kuru kayısıdan oluşan toplam 90 örneği incelenmiş ve ince tabaka kromatografisi (TLC) kullanılarak analiz etmiştir. Örneklerin

%26'sında (24 adet) aflatoksin B₁ tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, kırmızı biber 23,99-97,42 µg kg⁻¹ arasında, karabiber 47,68-75,78 µg kg⁻¹, incir 6,72-14,43 µg kg⁻¹, incir ise 10-13,2 µg kg⁻¹ arasında tespit edilmiştir. Kuzukiran ve ark., (2018) tarafından öğütülmüş 45 adet kırmızı toz biberlerde toplam aflatoksin (AF) içeriği incelenmiştir. Toplanan örneklerden %51,12'sinin AF'ler ile kirlenmiş olduğu bulunmuş, ancak yalnızca % 28,89'unun maksimum kalıntı limitleri üzerinde AF içerdiği tespit edilmiştir. Ardıç ve ark., (2008) tarafından 75 kırmızı biber örneğinde aflatoksin taraması yapılmış ve örneklerin %14,7'sinin AFB₁ açısından standartlara uymadığı tesbit edilmiştir. Hindistan'da kırmızı biberlerin %18'inin MRL'nin üzerinde AF içerdiği tespit edilmiştir (Reddy ve ark., 2001). Şanlıurfa'da satılan kırmızı biberlerde %31 oranında MRL'nin üzerinde AF içerdiği tespit edilmiştir (Karaaslan ve Arslangray, 2015).

Avrupa Birliği'ndeki toplam aflatoksinlerin (B₁+B₂+G₁+G₂) yasal sınırı, 165/2010 / AB Komisyon Tüzüğüne göre 10g kg⁻¹'dir. Macaristan'da kırmızı biberlerde yapılan bir çalışmada, 22 adet numunenin 2'si aflatoksin B₁ ile kirlenmiş, her ikisi de yasal limitin altında tespit edilmiştir (4,33 ± 1,06 ve 3,44 ± 1,11 g kg⁻¹) (Helga ve ark., 2018). Peter ve Cotty (2017) tarafından Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Nijerya'da piyasadan toplanan chili biberlerde AFB₁ araştırılmıştır. Amerikada 169 adet chili biber örneğinin %64'ünde, Nijerya'da 55 adet chili biberlerin %93'ünde AFB₁ tespit edilmiştir. Amerikada'ki kirli örnekler 20 µg kg⁻¹ ila 94,9 µg kg⁻¹ arasında, Nijerya'daki kirli örnekler maksimum 156 µg kg⁻¹ AFB₁ içerdiği tespit edilmiştir. Iqbal ve ark., (2017) tarafından Pakistan restoranlarında bulunan 312 adet tam yağlı biber, biber tozu, ezilmiş kırmızı biber ve acı biber sosu numuneleri aflatoksin (AF) ve okratoksin A yönünden araştırılmıştır. 312 örnekten 176'nın (%56,4) AF'lerle pozitif olduğunu ve 312 örneğin 126'sının (%40,4) OTA ile kontamine olduğunu bulmuşlardır. Toplam ortalama, toplam AF 12,50±1,91 µg kg⁻¹, toplam ortalama OTA düzeyi 16,68 ± 2,58 µg kg⁻¹, LOD ile 120,9 µg kg⁻¹ arasında tespit edilmiştir.

Biberlerde genel olarak aflatoksin görülme sıklığı ve seviyeleri yüksektir. Çünkü kırmızı biber üretiminde, kullanılan taze biberlerin su içeriğinin yüksek olması sebebiyle ve karakteristik rengini elde etmek için uzun kurutma süreleri uygulanmaktadır. Aflatoksin oluşumunda kurutma süresinin de önemli bir etken olduğu ve bu sürenin uzamasına bağlı olarak aflatoksin oluşumunun da arttığı belirtilmektedir (Cho ve ark., 2008). Bu durumda tüketiciler için ciddi sağlık tehlikeleri oluşturabilmektedir.

Özellikle kırmızı pul biberin doğal yada suni olarak kurutulması sırasında, biberlerin sıcaklığının yükseltilmesi ve böylece kurutma işleminin daha etkin ve hızlı gerçekleşmesinin de su aktivitesinin hızlı düşmesinde ve aflatoksin gelişimini engellemede etkili olduğu bildirilmektedir (Atasoy ve ark., 2016).

4. Sonuç

Sonuç olarak, kuru incir örneklerimizin %44'ünde (11 adet), toplam AF, %36'sında (9 adet numune) AFB₁, %24'ünde (6 adet) AFG₁ tespit edilmiştir. Toplam AF'lerin konsantrasyonları 10,10 ile 19,81 µg kg⁻¹ arasında, AFB₁'lerin konsantrasyonları 6,52 ile 12,56 µg kg⁻¹ arasında AFG₁'lerin konsantrasyonları 5,12 ile 5,87 µg kg⁻¹ arasında değişmiştir. Kırmızı biber örneklerinin %28'i (7 adet) AFB₁, %16'sı (4 adet) toplam AF açısından standartlara uymadığı tespit edilmiştir. Biber örneklerinin, toplam AF açısından %16'sı (4 adet) dışında yasal limitleri aşmadığı belirlenmiştir.

Tarımsal gelişmelerin daha iyi uygulandığı günümüz dünyasında geleneksel olarak genelde güneşte kurutma yönteminin neden olduğu aflatoksin ve diğer mikotoksin içeren ürünler, tüketicilerde ciddi sağlık sorunlarına neden olmakta, ürünlerde yasal limitlerin üzerinde değerlerin tespit edilmesi halinde de üreticiler için de büyük ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır. Ticari olarak da satılan kurutulmuş meyvelerin, ve baharatların uygun olmayan şartlarda depolanması aşamalarında küf gelişimi ve dolayısıyla aflatoksin oluşumu söz konusudur. Mikotoksin riskinin önlenmesinde en baştan uygulanması gerekli en iyi strateji, gıdaların üretimden tüketime kadar toksin bulaşması muhtemel üretim aşamalarında özellikle nem kontrolü yapılmalı, iyi tarım uygulamalarının (GTP) ve iyi üretim tekniklerinin kullanılması (GMP), gıdaların aflatoksin yönünden analitik yöntemlerle analizleri yapılarak, yüksek aflatoksin içeren gıdaların tüketilmesine izin verilmemesidir. Ayrıca mikotoksinlere rastlanılan gıda maddelerinin besin kaynağı olarak kullanılmasının ve ticari anlamda alınıp satılmasının yasal düzenlemeler ile devlet tarafından düzenlenip, gerekli kontrollerin daha sık yapılıp, izlenmesi gereklidir. Bu çalışmada olduğu gibi diğer birçok çalışmada, kurutulmuş meyvelerde ve baharatlarda sağlık üzerine toksik etkilere sahip olan aflatoksin varlığının araştırılması ile insan sağlığı için risk oluşturacak düzeyde toksin içerip içermediğinin belirlenmesinin literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacı Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduğunu beyan ederler.

5. Kaynakça

- Akova Y. Kuru incir. T. C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi Sektör Raporu 2009.
- Anonim. Türk Gıda Kodeksi (TGK) Bulaşanlar Yönetmeliği. T.C. Resmi Gazete, 28157(3), 29 Aralık 2011.

- Anonymous. Commission Regulation (EU) No 165/2010, Amending Regulation (EC) No 1881/2006 Setting Maximum Levels for Certain Contaminants In Foodstuffs as Regards Aflatoxins. Official Journal of The European Union, 53, 27.02.2010.
- AOAC. 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. 2000; 83:320-340.
- Ardic M., Karakaya Y., Atasever M., Durmaz H. Determination of aflatoxin b₁ levels in deep-red ground pepper (isot) using immunoaffinity column combined with elisa. Food and Chemical Toxicolog 2008; 46: 1596-1599.
- Artık N. Gıda mikotoksinleri ve insan sağlığı açısından önemi. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Yayın Dairesi Başkanlığı, Gıda Serisi No: 6, Ankara, 2007; 9-57.
- Atasoy AF., Hayoğlu İ., Korkmaz A., Kara E., Yıldırım A. Geleneksel ev isot baharatının aflatoksin içeriğinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi 2017; 21(1): 35-40.
- Babalıs SJ., Belessiotis VG. Influence of drying conditions on the drying constants and moisture diffusivity during the thin-layer drying of figs. Journal of Food Engineering 2004; 65: 449-458.
- Bircan C., Barringer SA., Ulken U., Pehlivan R. Increased aflatoxin contamination of dried figs in a drought year, Journal of Scientific Research 2008; 25: 1400-1408.
- Bircan C., Koç M. Aflatoxins in dried figs in Turkey: A comparative survey on the exported and locally consumed dried figs for assessment of exposure. Journal of Agricultural Science and Technology; 2012; 14: 1265-1274.
- Blesa J., Soriano JM., Molto JC., Manes J. Limited survey for the presence of aflatoxins in foods from local markets and supermarkets in Valencia, Spain. Food Addit. Contam 2004; 21: 165-171.
- Cemeroğlu B., Özkan M. Kurutma teknolojisi. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Başkent Klise Matbaacılık, Ankara, Türkiye 2004; 479-618.
- Cho SH., Lee CH., Jang MR., Son YW., Lee SM., Choi IS., Kim SH., Kim DB. Aflatoxins contamination in spices and processed spice products commercialized in Korea. Food Chemistry 2008; 107: 1283-1288.
- Council for Agricultural Science and Technology Mycotoxins. Risks in Plant, Animal and Human Systems Council; Ames, Iowa, USA, 2003.
- Duman AD., Zorlugenç B., Evliya B. Kahramanmaraş'ta kırmızı biberin önemi ve sorunları. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi 2003; 5(1): 111-117.
- Helga M., Éva K., Zsolt Z., Rita T., Farkasa A., Nóra A. Chemical characteristics of spice paprika of different origins, Food Control 2018; 83: 54-60.
- Heperkan D. The importance of mycotoxins and a brief history of mycotoxin studies in Turkey. ARI Bulletin of Istanbul Technical University 2006; 54: 18-27.

- Inan F., Pala M., Doymaz I. Use of ozone in detoxification of aflatoxin b1 in red pepper. *Journal of Stored Products Research* 2007; 43: 425–429.
- Iqbal SZ., Asi MR., Mehmood Z., Mumtaz A., Malik N. Survey of aflatoxins and ochratoxin A in retail market chilies and chili sauce samples. *Food Control* 2017; 81: 218-223.
- Kabak B. Aflatoxins in hazelnuts and dried figs: Occurrence and exposure assessment. *Food Chemistry* 2016; 211: 8-16.
- Karaca H., Nas S. Aflatoxins, patulin and ergosterol contents of dried figs in Turkey. *Food Additives and Contaminant* 2006, 23(5): 502-508.
- Karbancıoğlu-Güler F., Heperkan D. Natural occurrence of Ochratoxin A in dried figs. *Analytica Chimica Acta*, 2008; 617: 32-36.
- Kuzukiran O., Filazi A., Yurdakok-Dikmen B., Ozansoy-Cengiz G., Safa-Gurcan I., Karabulut E., Tansel-Sireli U. The effects of aflatoxin residues on nutritional contents in ground red chili peppers (*Capsicum annum*), *Toxin Reviews* 2018; doi: 10.1080/15569543.2018.1532964
- Marin S., Colom C., Sanchis V., Ramos AJ. Modelling of growth of aflatoxigenic *a. flavus* isolates from red chilli powder as a function of water availability. *International Journal of Food Microbiology* 2009; 128: 491–496.
- Magan N., Olsen M. *Mycotoxins in food: Detection and control*. Woodhead Publishing Ltd: New York, 2004; 471.
- Mimoune NA., Manzanares NA., Gracia LG., Campana AMG., Sabaou KBN., Riba A. *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxins in dried figs and nuts in Algeria. *Food Additives and Contaminants: Part B* 2018; 11(2): 119-125.
- Reddy SV., Mayi DK., Reddy MU., Thirumala-Devi K., Reddy DVR. Aflatoxins B1 in different grades of chillies (*Capsicum annum* L.) in India as determined by indirect competitive-ELISA. *Food Additives and Contaminants*, 2001; 18: 553–558.
- Peter S., Cotty J. Aflatoxin contamination of dried red chilies: Contrasts between the United States and Nigeria, two markets differing in regulation enforcement. *Food Control* 2017; 80: 374- 379.
- Sabuncuoğlu SA., Baydar T., Giray B., Şahin G. Mikotoksinler: toksik etkileri, degradasyonları, oluşumlarının önlenmesi ve zararlı etkilerinin azaltılması. *Hacettepe Üniv Ecz Fak Derg*, 2008; 28(1): 63-92.
- Thompson M. Recent trends in Inter-laboratory Precision at ppb and sub-ppb Concentrations in Relation to Fitness for Purpose Criteria in Proficiency Testing, *Analyst* 2000; 385-386.
- Zahra N., Khan M., Mehmood Z., Saeed MK., Kalim I., Ahmad I., Malik KA. Determination of aflatoxins in spices and dried fruits. *Journal of Scientific Research* 2018; 10(3): 315-321.