



Araştırma Makalesi

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Merve USLU¹, Hatice Kübra ŞAŞMAZ¹, Esra ERELİ¹, Hasim KELEBEK*¹

ÖZ

Bu çalışmada, Adana ilinde satılan 21 farklı kuru incir örneğinin şeker bileşimi, antioksidan kapasitesi, toplam fenolik madde miktarı, aflatoksin B₁ (AFLB₁) toplam aflatoksin (AFLB₁+ AFLB₂+ AFLG₁+ AFLG₂) ve okratoksin A (OTA) gibi mikotoksin analizleri yapılarak toksik özellikleri değerlendirilmiştir. Kuru incirlerin antioksidan aktivitesini belirlemek için 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazollin-6-sülfonik asit) (ABTS) yöntemleri kullanılmıştır. Şeker bileşimi, OTA ve aflatoksin analizleri yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yapılmıştır. Kuru incir örneklerinin %90.5'lik kısmının aflatoksin ve % 76.2'lik kısmının OTA bakımından Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirtilen limitleri aşmadığı belirlenmiştir. İncirlerin toplam fenolik madde, antioksidan kapasite bakımından oldukça zengin potansiyele sahip olduğu ve glikozun baskın şeker olduğu saptanmıştır. Bu çalışma, Adana'da satılan kuru incirlerin antioksidan kapasitesi ve düzeyleri açısından önemli bir değerlendirme sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Ficus carica*, aflatoksin, fenolikler, mikotoksin, antioksidan kapasite, şeker

Evaluation of Bioactive Properties, Aflatoxin and Ochratoxin A Levels of Dried Figs

ABSTRACT

In this study, the sugar composition, antioxidant capacity, total phenolic content, aflatoxin B₁ (AFLB₁), total aflatoxin (AFLB₁+ AFLB₂+ AFLG₁+ AFLG₂), and ochratoxin A (OTA) mycotoxin analyses of 21 different dried fig samples sold in Adana province were performed and their toxic properties were evaluated. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazollin-6-sulphonic acid) (ABTS) methods were used to determine the antioxidant activity of dried figs. Sugar composition, OTA, and aflatoxin analyses were performed by high-performance liquid chromatography (HPLC). It was determined that 90.5% of the dried fig samples did not exceed the limits specified in the Turkish Food Codex Contaminants Regulation regarding aflatoxin and 76.2% regarding OTA. It was determined that figs have a high potential in terms of total phenolic content, antioxidant capacity and glucose is the dominant sugar. This study evaluates the antioxidant capacity and mycotoxin levels of dried figs sold in Adana.

Keywords: *Ficus carica*, aflatoxin, phenolics, mycotoxin, antioxidant capacity, sugar

ORCID ID(Yazar sırasına göre)

0009-0008-6648-4956, 0000-0003-4728-3151, 0009-0005-9424-5483, 0000-0002-8419-3019

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 19.05.2024

Kabul Tarihi: 15.06.2024

¹ Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Adana Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Adana

*E-posta: hkelebek@atu.edu.tr

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Giriş

İncir (*Ficus carica*), dünyanın çeşitli subtropikal bölgelerinde yetiştirilen 800'den fazla ağaç, çalı ve epifit türünün bulunduğu Moraceae familyasına ait bilinen en eski kültür bitkilerinden biridir (Hajam ve Saleem 2022) ve Akdeniz bölgesinde yaygın olarak yetiştirilmesinin yanı sıra Kaliforniya, Avustralya ve Güney Amerika gibi Akdeniz ikliminin hakim olduğu ülkelerde de ticari üretimi yapılmaktadır (Ersoy ve ark., 2017). Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nın incir üretim verileri incelendiğinde, dünya çapındaki incir üretiminin büyük kısmı Türkiye'de (%25,2) olup, bunu Mısır (%15,9), Fas (%11,4), Cezayir (%9,2) ve İran (%8,5) takip etmektedir (FAO, 2021).

İncir meyveleri karbonhidratlar, aminoasitler (lösin, triptofan, fenilalanin, lizin ve histidin, asparajin, alanin, glutamin, serin, glisin ve sistein) organik asitler, mineraller (potasyum, kalsiyum ve demir) açısından zengindir (Morovati ve ark., 2022). İncir meyvelerinde glikoz ve fruktoz baskın monosakkarittir ve malik asit ve sitrik baskın organik asitlerdir (Veberic ve Mikulic-Petkovsek, 2016). İncirler içerdikleri fenolik bileşiklere ve organik asitlere bağlı olarak antioksidan, antidiyabetik, antikanser, nöroprotektif etki, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal aktivitelere sahiptir (Yang ve ark., 2023).

Taze incirin sınırlı dayanıklılığı (7-10 gün) ve taşınma zorluğu, dünya genelinde tanınmasını kısıtlamıştır. Bu meyve, fiziksel hasarlara karşı son derece hassastır ve bu nedenle depolama ömrü çok kısadır, bu da onu taze yerine kurutulmuş olarak tüketime daha uygun hale getirmektedir. Meyvelerin kurutulması saklanması, tarihsel olarak kullanılan etkili gıda koruma yöntemlerinden biridir (Aksoy, 2001). Kuru incir, diğer meyvelerle karşılaştırıldığında yüksek bir polifenol konsantrasyonuna sahiptir ve lif, bakır, manganez, magnezyum, potasyum, kalsiyum ve K vitamini açısından zengindir. Doğrudan tüketilmesinin yanı sıra, konsantre şurup, şarap veya sirke üretiminde de kullanılmaktadır (Desa ve ark., 2019).

Fiziksel, kimyasal, mikrobiyal ve besinsel olmak üzere dört ana grubu kapsayan kurutulmuş meyvelerin genel kalitesini belirleyen birkaç

temel özellik bulunmaktadır. Kurutulacak incirlerde aranan en önemli kriterler, yüksek şeker ve çözünür katı madde içeriği, düşük asit içeriği, açık renkli ve yumuşak dokulu olmasıdır (Aksoy, 2017). Ayrıca kuru incir ticareti için görsel çekicilik, organoleptik özellikler (gözeneklilik, doku, rehidrasyon özellikleri, lezzet), fizikokimyasal özellikler (su aktivitesi vb.) ve güvenlik (mikrobiyal yük, zararlılar ve kirleticiler) diğer kurutulmuş meyvelerde olduğu gibi kalite parametrelerinin başında gelmektedir (Schilter ve ark., 2003; Şen ve ark., 2017).

İncir yüksek oranda şeker içermesi, uygun nem içeriği ve uygunsuz hasat ve hasat sonrası koşulları nedeniyle küf ve birden fazla mikotoksin oluşumunun sıklıkla görüldüğü bir gıdadır (Gilbert ve Senyuva 2008). Mikotoksinler, başta *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* ve *Claviceps* olmak üzere farklı filamentli küfler tarafından üretilen çok çeşitli doğal ikincil metabolitlerdir. Başlıca yaygın mikotoksinler arasında aflatoksinler, deoksinivalenol, zearalenon, okratoksin A (OTA), fumonisinler ve patulin bulunmaktadır (Afsah-Hejri ve ark., 2013). Mikotoksinlerle kontaminasyon, gıda zehirlenmesi vakalarının yanı sıra uluslararası ticaret sorunlarına da sıklıkla sebep olmaktadır (Shephard, 2008). Kuru incirde yaygın olarak tespit edilen mikotoksin türlerinden biri *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) enfeksiyonundan gelişen Aflatoksindir. Bu bileşikler, Gıda ve İlaç İdaresi tarafından çok düşük eşik değerlerinde izlemeye ve ürün reddine tabidir (Dünya Sağlık Örgütü, 2012). İncirin aflatoksinle kontaminasyonu ağaç üzerinde başlamakta kurutma, paketlenme ve satışa kadar olan sürecinde devam etmektedir. Ayrıca OTA ve fumonisinler de fazlaca bulunabilmektedir. Bu toksik fungal metabolitlerin görülme sıklığı, ihraç edilen kontamine ürünlerin reddedilmesi nedeniyle üreticilerin ekonomik kayıplarına yol açmaktadır (Heperkan ve ark., 2012). Ayrıca, kuru incirlerde bildirilen diğer ilgili mikotoksinler fumonisin B₁, kojik asit, fusarik asit ve tenuazonik asittir (Di Sanzo ve ark., 2018; Sulyok ve ark., 2020). İncirdeki toksisiteleri ve sıklıkları nedeniyle, birçok ülke tüketicilerin sağlığını korumak amacıyla mikotoksinler için düzenlemeler oluşturmuştur (Trucksess ve Scott,

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

2008). Bu toksin bileşikleri için limitler, mikotoksin türünün yanı sıra ülkeler arasında da değişebilmektedir. Yasal sınırın üzerinde aflatoksin veya okratoksinlerle kirlenmiş incirler, bu mikotoksinlerin kanserojen, mutajenik ve teratojenik olma potansiyeline sahip olması nedeniyle mevcut haliyle tüketilememektedir (Abrunhosa ve ark., 2016). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC), mevcut bilimsel kanıtlara dayanarak mikotoksinlerin kanserojenliğini beş grupta (Grup 1, 2A, 2B, 3 ve 4) sınıflandırmıştır (IARC, 2006; IARC, 2016). Aflatoksin B₁ (AFLB₁), Grup 1 kanserojen olarak sınıflandırılırken OTA Grup 2B olası kanserojenler olarak sınıflandırılmıştır (Ostry ve ark., 2017).

Uluslararası Kuruyemiş ve Kuru Meyve Konseyi'nin (INC) yayınladığı 2019/2020 istatistiksel incelemesine göre Türkiye, yaklaşık 90.000 ton üretimle küresel kuru incir talebinin %55'inden fazlasını karşılamaktadır ve kuru incirin ana üreticilerinden biri olarak bilinmektedir (INC, 2021). Bu toksik bileşiklerin miktarını tespit edilmesi büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışma, ülkemizde gerek sağlığa yararı gerekse ihracatı ile ekonomiye katkısı bakımıyla önemli yere sahip olan kuru incirin, aflatoksin, okrotoksin ve kalite parametrelerini incelemek amacıyla ele alınmıştır. Bu kapsamda Adana ilinin farklı satış noktalarından alınmış kuru incir örneklerinin, AFLB₁, toplam aflatoksin (AFLB₁+AFLB₂+AFLG₁+AFLG₂) ve OTA gibi mikotoksin analizleri yapılarak toksik özelliklerinin belirlenmesinin yanı sıra genel bileşimlerinin ve biyoaktif özellikleri saptanması amaçlanmıştır.

Materyal-Yöntem

Materyal

Çalışmamızda kullanılan toplam 21 adet kuru incir örneği, Adana ilindeki toptan/perakende satış noktalarından, "Gıda Maddelerinde Mikotoksinlerin Seviyesinin Resmi Kontrolü İçin Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği (Tebliğ No:2007/21)" esas alınarak tesadüfi örnekleme yöntemine göre alınmıştır. Örnekler alfabeğe göre adlandırılmıştır. Temmuz-Ağustos aylarında 2021 yılı mahsulü kuru incirler orijinal

ürün ambalajlı ve dökme olarak en az 500 g olacak şekilde satış noktalarından satın alınmıştır. Bekleme süresince soğuk ve ışiksiz ortamda muhafaza edilmiştir.

Kimyasallar

PBS (fosfat tamponlu tuz çözeltisi), metanol (HPLC saflıkta), sodyum hidrokisit, potasyum bromür (KBr), sodyum asetat, nitrik asit etanol (HPLC grade), asetonitril (HPLC), Folin-Ciocalteu reaktifi, formik asit Merck'ten (Darmstat, Almanya); şeker standartları (glikoz, fruktoz, laktoz, sakaroz) Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, ABD) temin edilmiştir. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), ABTS [2,2-azinobis-(3-etil-benzotiazolin-6-sülfonik asit)] ve Trolox ((+/-)-6-hidroksi-2,5, 7,8-tetrametil-kroman-2-karboksilik asit), Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, ABD) ve etanol Riedel de Haen Co. (Seelze, Almanya) firmalarından temin edilmiştir. Aflatoksin standardı (Trilogy-2.6 µg/mL), Okratoksin standardı (Trilogy-10 µg/mL) kullanılmıştır. HPLC'de mobil fazların hazırlanmasında ultra saf su kullanılmıştır. Standart çözeltiler ve diğer hassas çözeltiler günlük olarak hazırlanmıştır.

Yöntem

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu

Kuru incirlerden 5 gram örnek alınarak üzerine 20 ml metanol/su (80/20) ilave edilmiş ve 25 °C sabit sıcaklıkta, 60 dakika süreyle karıştırılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu süre sonunda elde edilen ekstrakt 5500 rpm'de 15 dakika 4°C'de santrifüj (Hettich Universal 320R) edilmiş ve üstteki berrak kısım alınıp 0.45 µm'lik membran filtrelerden (Whatman Inc., Clinton, NJ, ABD) süzülerek antioksidan kapasite ve fenolik madde analizleri yapılmıştır (Kelebek ve ark. 2009).

Antioksidan aktivite tayini

Kuru incirleri antioksidan aktivite DPPH ve ABTS olmak üzere iki farklı yöntemle belirlenmiştir. Serbest radikalleri önleme yeteneğini ölçebilen DPPH (2,2, difenil 1-pikri hidrazil) reaktifi kullanılarak ve metanol içerisinde gerçekleşen reaksiyonun zamana karşı değişiminin 515 nm'de UV-Vis (Agilent -Cary 60) spektrofotometredeki ölçüm sonuçlarına

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

göre yapılmıştır (Brand-Williams ve ark., 1995; Kelebek ve ark., 2009). ABTS yöntemi Kelebek ve ark., (2017)'nin yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntem için 7 mM ABTS (2,2'-Azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic asit) 2.45 mM potasyumbisülfat ile karıştırılarak karanlık ortamda 12-16 saat bekletilmiş ve daha sonra bu solüsyon sodyum asetat (pH 4.5) tamponu ile UV-VIS spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda 0.700 ± 0.01 absorbans verecek şekilde seyreltilmiştir. Daha sonra 20 µl kuru incir ekstraktlarına 2.98 ml hazırlanan tampon karıştırılarak spektrofotometrede 734 nm dalga boyunda absorbans ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri Trolox (10-100 µmol/L) standart eğim çizelgesi ile hesaplanarak sonuçlar mmol/L trolox cinsinden ifade edilmiştir.

Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde analizi, Shahidi (2015)'in uyguladığı yöntemde bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. 20 ml ekstrakt üzerine Folin-Ciocalteu reaktifi ilave edilmiş 3 dakika bekletilerek üzerine 1 ml %20'lik sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir ve daha sonra 0.9 ml distile su eklenmiş ve karıştırılmıştır. 1 saat oda koşullarında karanlıkta bekletilen karışım UV spektrofotometre (Agilent Carry 60) kullanılarak 765 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri gallik asit (31,25–500 ppm) standart eğrisi ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar mg gallik asit eşdeğerleri (GAE)/100 gram kuru madde cinsinden ifade edilmiştir.

Şeker Tayini

Kuru incirde şeker analizleri için, 4 g örnek alınıp üzerine 20 ml 5 mM'lık sülfürik asit çözeltisi (mobil faz) eklenerek 60 dakika süresince ekstraksiyon yapılmıştır. Bu süre sonunda elde edilen ekstrakt 6500 devir/ 20 dakikada 4°C'de santrifüj (Hettich Universal 320R) edilmiş ve 0.45 µm'lik membran filtrelerden geçirilerek süzümüştür (Lee ve Coates, 2000). Shimadzu Prominence-i LC-2030C enjekte edilerek örneklerdeki şeker miktarları belirlenmiştir. Çalışmada, Aminex HPX-87H (300 x 7.8 mm) (Bio-Rad, California, USA) kolon ve taşıyıcı faz olarak 5 mM'lık

sülfürik asit çözeltisi kullanılmıştır ve bu fazın akış hızı 0.5 ml/dakika olarak ve izokritik sistemle sağlanmıştır. Bileşiklerinin miktarlarının saptanması amacıyla, her bir standart madde için beş farklı konsantrasyonda çözelti hazırlanmıştır ve cihaza enjekte edilerek her bir bileşik için kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve bu eğrilerden de bileşiklerin miktarları saptanmıştır. Örneklerdeki şeker konsantrasyonlarının belirlenmesi refraktif indeks dedektörü (RID) kullanılarak dış standart yöntemiyle gerçekleştirilmiştir.

Aflatoksin B₁ (AFLB₁) toplam aflatoksin (AFLB₁+ AFLB₂+ AFLG₁+ AFLG₂) tayini Örnek hazırlama

Kuru incir örneklerinin analizi için AOAC Resmi Yöntemi 999.07 (Stroka ve ark., 2000) kullanılmıştır. 50 gram numune üzerine 300 ml metanol:su (240:60) ve 5 g NaCl ilave edilmiştir ve bir Waring blender kullanılarak 3 dakika süreyle karıştırılmıştır.

Ekstrakt kaba filtre kağıdından geçirilmiş ve süzüntüden 10 ml alınarak üzerine 60 ml PBS ilave edilmiş ve iyice karıştırılarak numune seyreltilmiştir. Seyreltilmiş ekstraktının tamamı immuni affinite kolonundan (Aokin AG, Berlin, Almanya) 1-2 damla/saniye akış hızında geçirilmiştir. Kolon 20 ml (2 x 10 ml) su ile yıkanmıştır. Kolondan 1-2 damla/saniye hızla 0.5 ml metanol (HPLC Grade) geçirilmiştir ve 1 dakika beklendikten sonra 0.75 ml metanol eklenmiştir. Son olarak kolona 1.75 ultra saf su eklenerek tamamının kolondan geçmesi sağlanmıştır. Süzüntü, küçük vialde alınmış ve HPLC cihazına enjeksiyonu yapılmıştır.

Kromatografik analiz

Kromatografik analiz, floresans dedektörüne (HPLC-FLD) bağlanmış bir Shimadzu (Tokyo, Japonya) yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile gerçekleştirilmiştir. Kolon fırınının sıcaklığı 25 °C'de tutulmuştur ve mobil faz olarak distile su-asetonitril-metanol (600 /200 /300 v/v/v) karışımı kullanılmıştır. Çözeltinin 1 litresine elektrokimyasal türevlendirme için 120 mg KBr ve 350 µl 4 mol HNO₃ ilave edilmiştir. İzokritik bir elüsyon programı ile 1 ml/dk akış hızı kullanılmıştır. Floresan detektörü, uyarılma ve emisyon için

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

sırasıyla 360 ve 440 nm dalga boylarına ayarlanmıştır. Enjeksiyon hacmi 100 µl olarak ayarlanmış ve ODS-3 C18 (250 x 4,6 mm) kolonu kullanılmıştır. Analiz süresi 20 dakika olarak belirlenmiştir. Numunelerin cihaza enjeksiyonundan önce kalibrasyon eğrisi, hazırlanmış olduğumuz standart solüsyonu kullanarak kontrol edilmiş ve her bir numuneden 100 µl enjeksiyon yapılarak analizler yürütülmüştür.

Aflatoksin B₁ (AFLB₁) toplam aflatoksin (AFLB₁+ AFLB₂+ AFLG₁+ AFLG₂) Tayin Limiti ve Ölçüm Limiti

Tayin limiti (LOD) ve ölçüm limiti (LOQ) çalışması için kontrol örneğine 0.5 ppb

düzeyinde AFLB₁, G₁ ve 0.125 ppb AFLB₂, AFLG₂ standardı eklenerek 10 adet geri alma çalışması yapılmıştır. LOD ve LOQ, geri kazanım deneylerinin verilerine dayanarak ISO11843 bölüm 2'ye göre hesaplanmıştır. LOD'ler, kontrol örneğinin 10 tekrarlı analizinin standart sapmasının (SD) üç katı olarak (3 x SD), LOQ'lar karşılık gelen SD'nin 10 katı (10 x SD) olarak, tayin limitleri (LOD) ise sırasıyla, AFLB₁ 0.15 ppb, AFLB₂ 0.03 ppb, AFLG₁ 0.11 ppb ve AFLG₂ 0.04 ppb olarak hesaplanmıştır. Aynı şekilde ölçüm limitleri (LOQ), AFLB₁ için 0.5 ppb, AFLB₂ için 0.11 ppb, AFLG₁ için 0.35 ppb ve AFLG₂ için 0.13 ppb olarak belirlenmiştir. HPLC cihazında aflatoksin tayin ve ölçüm limitleri Tablo 1 'de verilmiştir.

Tablo 1. Aflatoksin tayin ve ölçüm limitleri

Sıra	AFLB ₁ (0.5 ppb)	AFLB ₂ (0.125 ppb)	AFLG ₁ (0.5 ppb)	AFLG ₂ (0.125 ppb)
1	0.36	0.10	0.38	0.11
2	0.40	0.11	0.43	0.12
3	0.40	0.11	0.42	0.11
4	0.38	0.10	0.42	0.11
5	0.41	0.11	0.39	0.11
6	0.46	0.13	0.45	0.11
7	0.49	0.11	0.47	0.11
8	0.49	0.12	0.47	0.12
9	0.47	0.13	0.48	0.15
10	0.47	0.13	0.46	0.12
Ort	0.43	0.11	0.44	0.12
S.Sapma	0.05	0.01	0.04	0.01
3xS.Sapma	0.15	0.03	0.11	0.04
10xS.Sapma	0.50	0.11	0.35	0.13
LOD	0.15	0.03	0.11	0.04
LOQ(Hesaplanan)	0.50	0.11	0.35	0.13

Lineer ölçüm aralığını belirlemek amacıyla; AFLB₁ standartları 0.25 ppb, 0.5 ppb, 1 ppb, 2 ppb, 4 ppb ve 8 ppb konsantrasyon düzeylerinde olmak üzere 6 farklı konsantrasyonda hazırlanarak Agilent 1100 HPLC cihazına üç tekrarlı olacak şekilde enjekte edilmiş ve kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Geri kazanım çalışmalarında kontrol örneğine maksimum kalıntı limiti (MRL) olan 10 ppb düzeyinde AFLB₁, AFLG₁ ve 2.5 ppb AFLB₂, AFLG₂ standardı eklenerek okumalar yapılmıştır. Geri kazanım değerleri, AFLB₁ için 9.2 µg/kg, AFLB₂ için 2.25 µg/kg, AFLG₁ için 8.9 µg/kg,

AFLG₂ için 2.26 µg/kg olarak belirlenmiştir ve bu değerler Tablo 2'de verilmiştir.

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Tablo 2. Geri kazanım çalışmalarında AFLB₁, AFLB₂, AFLG₁, AFLG₂ oranları

Aflatoksin	Eklenen Toksin Miktarı (µg/kg)	HPLC Geri Kazanım Değeri (µg/kg)	Aflatoksin Geri Kazanım Değeri (%)
AFLB ₁	10	9.2	92
AFLB ₂	2.5	2.25	90
AFLG ₁	10	8.9	89
AFLG ₂	2.5	2.26	91

Okratoksin A (OTA) Analizi

Örnek hazırlama

Kuru incir örneklerinin analizi için, AOAC Official Method 2000.03 metodu uygulanmıştır. 25 gram numune üzerine 150 ml asetonitril:su (90:60) ilave edilmiştir ve bir waring blenderi kullanılarak 3 dakika süreyle karıştırılmıştır. Ekstrakt kaba filtre kağıdından geçirilmiştir. Süzüntüden 4 ml alınarak üzerine 44 ml PBS ilave edilmiş ve iyice karıştırılarak numune seyreltilmiştir. Seyreltilmiş ekstraktın tamamı immuni affinite kolonundan (PriboMIP™, Çin) 5 ml/dk akış hızında geçirilmiştir. Kolon 10 ml (2 x 10 ml) su ile yıkanmış ve ardından. 1-2 damla/saniye hızla 1 ml metanol (HPLC Grade) geçirilmiştir. Son olarak kolona 1 ml ultra saf su eklenerek tamamının kolondan geçmesi sağlanmıştır. Süzüntü küçük vialle alınmış ve HPLC cihazına enjekte edilmiştir.

Kromatografik analiz

Kromatografik analiz, floresans dedektörüne (HPLC-FLD) bağlanmış bir Shimadzu (Tokyo, Japonya) yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile gerçekleştirilmiştir. Kolon fırınının sıcaklığı 40 °C'de ayarlanmış ve mobil faz olarak su-asetonitril-asetik asit (510/480/10 v/v/v) karışımı kullanılmıştır. İzokritik bir elüsyon programı ile 1 ml/dk akış hızı kullanılmıştır. Floresan detektörü, uyarılma ve emisyon için sırasıyla 333 ve 443 nm dalga boylarına ayarlanmıştır. HPLC sistemine

enjeksiyon hacmi 100 µl olarak belirlenmiş ve ODS-3 C18 (250 x 4,6 mm) kolonu kullanılmıştır. Çalıştırma süresi 20 dakika olarak belirlenmiştir. Numunelerin cihaza enjeksiyonundan önce kalibrasyon eğrisi hazırlanmış olduğumuz standart solüsyonu kullanarak kontrol edilmiş ve her bir numuneden 100 µl enjeksiyon yapılarak analizler yürütülmüştür.

Okratoksin A Tayin Limiti ve Ölçüm Limiti

Tayin limiti (LOD) ve ölçüm limiti (LOQ) çalışması için kontrol örneğine 1ppb düzeyinde OTA standardı eklenerek 10 adet geri alma çalışması yapılmıştır. LOD ve LOQ, geri kazanım deneylerinin verilerine dayanarak ISO11843 bölüm 2'ye göre hesaplanmıştır. LOD'ler, kontrol örneğinin 10 tekrarlı analizinin standart sapmasının (SD) üç katı olarak h (3 x SD), LOQ'lar karşılık gelen SD'nin 10 katı (10 x SD) olarak ve Tayin limitleri (LOD) 0.14 ppb, ölçüm limitleri (LOQ) 0.48 ppb olarak belirlenmiştir. HPLC analizinde OTA tayin ve ölçüm limitleri Tablo 3.'te verilmiştir. Lineer ölçüm aralığını belirlemek amacıyla; OTA standartları 0.25 ppb, 0.5 ppb, 1 ppb, 3 ppb, 5 ppb ve 10 ppb konsantrasyon düzeylerinde olmak üzere 6 farklı konsantrasyonda hazırlanarak Shimadzu HPLC cihazına her biri üç tekrarlı olacak şekilde enjekte edilmiş ve kalibrasyon grafiği çizilmiştir.

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Tablo 3. OTA tayin limiti ve ölçüm limiti çalışması

Sıra	1 ppb
1	0.87
2	0.94
3	0.9
4	0.84
5	0.95
6	0.93
7	0.93
8	0.92
9	0.95
10	1.02
Ort	0.9250
S.Sapma	0.0488
LOD=3xS.Sapma	0.1465
LOQ=10xS.Sapma	0.4882
LOD	0.1465
LOQ (hesaplanan)	0.4882

Geri kazanım çalışmaları için Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde OTA'nın kuru incir için belirlenmiş limiti bulunmamaktadır. Ancak kurutulmuş asma meyveleri için belirlenmiş olan limit 10 µg/kg değeri kriter olarak kabul edilirse, 10 µg/kg düzeyinde okratoksin standardı kontrol örneğine eklenerek okuma yapılmıştır. Geri kazanım değeri; 9.7 µg/kg saptanmış ve geri kazanım yüzdesi %97 olarak hesaplanmıştır.

İstatistiksel Analizler

Çalışma kapsamında incelenen kuru incir örneklerinin analiz sonuçları SPSS 22 paket programı (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) kullanılarak %95 güven seviyesinde ($p < 0.05$) varyans analizine tabi tutulmuştur ve Duncan çoklu karşılaştırma testine göre, önemli bulunan farklılıklar incelenmiştir. Ayrıca, XL-STAT 2019 (Addinsoft, Newyork City, NY, USA) paket programı kullanılarak verilere temel bileşen analizleri uygulanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Kuru incirlerin antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde içeriği

Adana ilinde satış noktalarından alınan 21 farklı kuru incir örneğinin antioksidan kapasitesi ABTS ve DPPH olmak üzere iki farklı yöntemle belirlenmiş ve Tablo 4'de verilmiştir. Kuru incir örnekleri arasında antioksidan içeriği bakımından istatistiksel yönden önemli ($p < 0.05$) farklılıklar olduğu belirlenmiştir. DPPH ve ABTS yöntemlerinde sırasıyla antioksidan kapasite en yüksek T örneğinde 546.7 µmol trolox/100 g kuru madde, 1367.0 µmol trolox/100 g kuru madde ve en düşük C örneğinde 296.2 µmol trolox/100 g kuru madde, 675.7 µmol trolox/100 g olarak saptanmıştır. Tablo 4'te görüldüğü gibi ABTS yönteminde sonuçlar daha yüksek değerlerde çıkmıştır, yapılan araştırmalarda bunun sebebinin, ABTS yönteminde incirin içerdiği hidrofilik antioksidan bileşiklerin daha iyi absorban vermesinden kaynaklandığı belirtilmektedir (Cano ve ark., 2002; Opitz ve ark., 2014). Daha önce yapılan çalışmalara göre incirin antioksidan kapasitesi fitokimyasal bileşik miktarıyla yüksek oranda ilişkili olduğu saptanmıştır (Ammar ve ark., 2015; Çalışkan ve Polat, 2011; Faleh ve ark., 2012; Ouchemoukh ve ark., 2012). Kamiloglu ve Çapanoglu (2015), yaptıkları çalışmada kuru incirlerin DPPH yöntemine göre antioksidan kapasitelerini 222-739 mg trolox /100 g kuru madde arasında olduğunu saptamışlardır.

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Tablo 4. Örneklerin toplam fenolik madde, antioksidan aktivite sonuçları

Örnek Kodu	DPPH**	ABTS**	Toplam Fenolik Madde***
A	339.4 ± 1.86 ^{bcd}	714.9 ± 5.13 ^{abc}	153.5 ± 1.22 ^{bc}
B	393.5 ± 4.33 ^{efgh}	817.0 ± 4.95 ^{efg}	174.3 ± 1.61 ^{ghi}
C	296.2 ± 0.35 ^a	675.7 ± 0.18 ^a	131.6 ± 2.40 ^a
D	372.7 ± 1.77 ^{defg}	802.3 ± 0.71 ^{def}	171.3 ± 3.17 ^{gh}
E	460.8 ± 1.94 ^{ik}	928.7 ± 0.71 ^{hi}	209.3 ± 3.12 ^j
F	400.4 ± 1.86 ^{fghi}	842.9 ± 2.65 ^{fg}	176.7 ± 2.24 ^{ghi}
G	368.6 ± 0.00 ^{defg}	769.1 ± 2.56 ^{cde}	166.0 ± 1.01 ^{defg}
H	408.5 ± 4.60 ^{ghi}	856.2 ± 0.09 ^{fg}	179.3 ± 1.80 ^{hi}
I	324.7 ± 1.86 ^{abc}	695.3 ± 1.15 ^{ab}	150.8 ± 0.42 ^{bc}
J	355.7 ± 2.47 ^{cde}	759.3 ± 2.56 ^{cde}	157.2 ± 2.07 ^{bcd}
K	308.3 ± 5.83 ^{ab}	686.8 ± 0.44 ^{ab}	147.8 ± 1.40 ^b
L	485.9 ± 2.03 ^{kl}	1259.0 ± 0.35 ^j	258.4 ± 1.50 ^l
M	438.4 ± 6.0 ^{ij}	874.6 ± 3.45 ^{gh}	206.0 ± 2.11 ^j
N	361.8 ± 0.71 ^{cdef}	762.8 ± 0.09 ^{cde}	160.3 ± 1.19 ^{cdef}
O	463.8 ± 1.06 ^{jk}	981.0 ± 0.18 ⁱ	245.4 ± 0.62 ^k
P	521.0 ± 0.53 ^{lm}	1265.1 ± 0.53 ^j	256.6 ± 2.81 ^l
R	343.1 ± 0.53 ^{bcd}	743.8 ± 1.41 ^{bcd}	156.1 ± 2.20 ^{bcd}
S	372.1 ± 0.27 ^{defg}	800.4 ± 2.83 ^{def}	167.2 ± 1.40 ^{efg}
T	546.7 ± 2.65 ^m	1367.0 ± 3.71 ^k	269.6 ± 0.10 ^m
U	423.6 ± 1.15 ^{hij}	861.8 ± 0.62 ^{fg}	184.6 ± 1.91 ⁱ
V	372.4 ± 0.00 ^{defg}	801.8 ± 1.50 ^{def}	169.8 ± 1.59 ^{fgh}

^{a-m} Aynı sütündeki farklı üstel harfler örnekler arasında önemli fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). **µmol trolox/100g kuru madde. *** mg GAE /100 g kuru madde

Kuru incirin fenolik asitler, flavonoidler ve karotenoidler açısından zengin bir kaynak olduğu ve insan sağlığı üzerine olumlu faydaları yapılan birçok çalışmada rapor edilmiştir (Chang ve ark., 2016; Sandhu ve ark., 2023). Yapılan toplam fenolik madde analizinde en yüksek içerik T örneğinde 269,6 mg GAE/100 g kuru madde ve en düşük C örneğinde 131,6 mg GAE/100 g kuru madde olarak saptanmıştır. Antioksidan kapasite analizinde DPPH ve ABTS yöntemleriyle sonuçlanan en yüksek T ve en düşük kapasite C örneğinde tespit edilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda kuru incir ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriğini 399,49 mg GAE/100 g kuru ağırlık (Bey ve ark., 2013), 756,6 mg GAE/100 g kuru ağırlık (Debib ve ark., 2014) ve 45,24 mg GAE/100 g kuru ağırlık (Hoxha ve ark., 2015) 644,11 mg GAE/100 g kuru ağırlık (Bey ve Louaileche, 2015) olarak tespit etmişlerdir. Literatürde yapılan çalışmalarda, kuru incirlerin toplam fenolik madde miktarı göz önüne alındığında,

çalışmamızda elde edilen sonuçlarla benzer olduğu görülmektedir.

Şeker bileşimi

Kuru incirlerde sakkaroz, glikoz ve fruktoz bileşikleri belirlenmiştir. Kuru incirlerde baskın şekerin glikoz olduğu tespit edilmiş ve belirlenen sakkaroz, glikoz, fruktoz ve toplam şeker miktarları arasında istatistiksel olarak (p <0.05) önemli farklar saptanmıştır. Örneklerde glikoz ve fruktoz baskın olup G/F oranının yaklaşık 1.5 dolayında olduğu belirlenmiştir. Tablo 5'te görüldüğü gibi 21 adet kuru incir örneğinin glikoz ve sakkaroz miktarları en düşük N örneğinde saptanmış olup sırasıyla bu değerler 378,21 g/kg kuru madde ve 248,94 g/kg kuru madde olarak saptanmıştır. Ayrıca en düşük fruktoz miktarının T örneğinde olduğu tespit edilmiştir. En yüksek toplam şeker miktarı K örneğine ait olup, K örneğinin içerdiği toplam şeker miktarı 863,44 g/kg kuru madde olarak belirlenmiştir. En düşük şeker içeriğine sahip N

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

örneğin şeker içeriği ise 658.63 g/kg kuru madde olarak saptanmıştır.

Tablo 5. Kuru incir örneklerinin şeker bileşimi

Örnek	Sakkaroz	Glikoz	Fruktoz	Toplam Şeker
A	27.66 ± 0.19 ^{bcde}	438.70 ± 5.43 ^{bcd}	298.85 ± 0.51 ^{gh}	765.21 ± 6.12 ^{de}
B	28.27 ± 0.01 ^{bcde}	433.91 ± 0.63 ^{abcd}	293.58 ± 0.52 ^{defgh}	755.76 ± 1.16 ^{abcd}
C	27.77 ± 0.22 ^{bcd}	422.12 ± 0.00 ^{abc}	294.18 ± 0.00 ^{bcdefg}	744.06 ± 0.22 ^{abcd}
D	29.73 ± 0.06 ^{bcde}	462.82 ± 0.08 ^{abcd}	319.82 ± 0.07 ^h	813.24 ± 0.54 ^{de}
E	32.76 ± 0.30 ^{cde}	415.89 ± 0.23 ^{ab}	278.18 ± 0.15 ^{abcde}	726.83 ± 0.37 ^{abc}
F	25.41 ± 0.39 ^{abc}	407.65 ± 0.00 ^{abc}	297.19 ± 0.07 ^{efgh}	730.26 ± 0.32 ^{abcd}
G	25.78 ± 0.25 ^{abc}	402.9 ± 2.65 ^{ab}	273.38 ± 0.18 ^{abcdef}	702.05 ± 2.58 ^{ab}
H	29.46 ± 0.28 ^{cde}	400.38 ± 0.36 ^{abc}	267.84 ± 0.27 ^{abcdef}	697.68 ± 0.35 ^{abcd}
I	25.30 ± 0.27 ^{abc}	434.46 ± 3.13 ^{abcd}	284.46 ± 3.57 ^{defgh}	744.22 ± 6.44 ^{bcd}
J	26.27 ± 0.15 ^{abc}	406.52 ± 0.28 ^{abc}	279.46 ± 0.06 ^{abcdefg}	712.25 ± 0.18 ^{abcd}
K	27.59 ± 0.38 ^{bcde}	495.67 ± 1.81 ^f	340.17 ± 1.43 ⁱ	863.44 ± 3.63 ^f
L	31.57 ± 0.25 ^{def}	397.32 ± 4.05 ^{abcd}	289.04 ± 1.30 ^{fgh}	717.93 ± 5.11 ^{bcd}
M	31.59 ± 0.09 ^{ef}	445.7 ± 3.17 ^{cd}	284.80 ± 4.08 ^{cdefgh}	762.09 ± 7.15 ^{cde}
N	19.79 ± 0.22 ^a	378.21 ± 1.65 ^a	260.64 ± 0.36 ^{abcd}	658.63 ± 2.23 ^a
O	20.36 ± 0.67 ^{ab}	393.97 ± 0.84 ^{abc}	253.36 ± 0.49 ^{ab}	667.70 ± 0.66 ^{ab}
P	27.81 ± 0.93 ^{abc}	398.33 ± 0.72 ^{ab}	264.59 ± 0.38 ^{abc}	690.73 ± 0.18 ^{ab}
R	28.3 ± 0.19 ^{abcd}	425.92 ± 0.63 ^{abc}	282.39 ± 0.18 ^{abcdef}	736.61 ± 0.63 ^{abcd}
S	28.07 ± 0.17 ^{abcd}	422.17 ± 0.20 ^{abc}	274.08 ± 0.04 ^{abcde}	724.32 ± 0.00 ^{abcd}
T	24.87 ± 0.11 ^{abc}	391.2 ± 0.00 ^{abc}	248.94 ± 0.00 ^a	665.01 ± 0.11 ^{ab}
U	36.49 ± 0.22 ^f	479.57 ± 2.13 ^{ef}	336.56 ± 1.23 ⁱ	852.63 ± 3.58 ^{ef}
V	31.16 ± 0.12 ^{bcde}	429.56 ± 0.41 ^{abc}	272.83 ± 0.25 ^{abcdef}	733.54 ± 0.04 ^{abcd}

^{a-i} Aynı sütundaki farklı üstel harfler örnekler arasında önemli bir fark olduğunu göstermektedir (p<0.05). *g/kg kuru madde

Aflatoksin B₁ (AFLB₁) ve Toplam Aflatoksin Miktarları

Kuru incirlerin işlenmesi, depolanması sırasındaki sıcaklık ve nem koşulları, toksijenik küflerin çoğalmasına ve daha fazla mikotoksin üretmelerine sebep olmaktadır. Mikotoksinler, kuru incirlerde hem hasat öncesi hem de hasat sonrası dönemde oluşabilecek en tehlikeli bileşiklerdir ve en sık bulunan mikotoksinler aflatoksinler ve OTA'dır (Bircan, 2009; Drusch ve Aumann 2005). Aflatoksinler, toksijenik *Aspergillus* türlerinden, özellikle *A. flavus* ve *A. parasiticus* tarafından üretilen spesifik bir mikotoksin grubudur. Çeşitli aflatoksin türleri bilinmektedir, ancak sadece AFLB₁, AFLB₂, AFLG₁ ve AFLG₂ doğada doğal olarak oluşan formlardır. Bunlar arasında AFLB₁ gıda ürünlerinde en belirgin olanıdır ve diğer üç alfatoksin türü AFLB₁'in yokluğunda genellikle

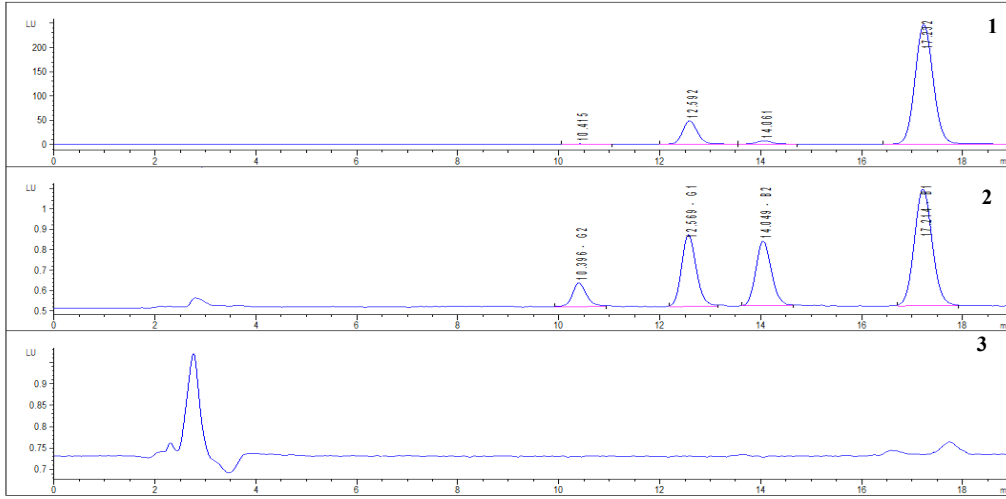
gözlenmemektedir (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi EFSA 2018). Kanserojen, bağışıklık sistemini baskılayıcı, genotoksik ve mutajeniktirler (Khan ve ark., 2021). İnsanların alfatoksinlerle maruz kalmasının zararlı sağlık etkileri, bu toksinlerle kirlenmiş tarım ürünlerinin tüketilmesiyle ilişkili önemli halk sağlığı risklerini oluşturmakta ve insanların ölümüne neden olabilmektedir. Aflatoksinler hem insan sağlığı hem de tarımsal kayıplar açısından büyük önem taşımaktadır. Birçok ülke ve uluslararası kuruluş farklı gıdalar için aflatoksinlerin maksimum seviyelerini belirlemektedir. Türkiye'nin mikotoksinlere ilişkin ulusal mevzuatı AB mevzuatı ile uyumlu hale getirilmiştir (Kabak, 2021).

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Çalışmamız kapsamında piyasadan sağlanan kuru incirlerde yapılan değerlendirmeler sonucunda, elde edilen sonuçların %90,5 oranı Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde yer alan kuru incirlerde AFLB₁ ve toplam aflatoksin (AFLB₁+AFLB₂+AFLG₁+AFLG₂) limitleri olan 8-10 µg/kg limitini aşmadığı (05 Kasım 2023 tarihli ve 32360 sayılı resmi gazete 'de yayınlanan "Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde " 2025 yılında bu limit 6-10 µg/kg olarak belirlenmiştir) ve ilgili yönetmeliğe uygunluğu tespit edilmiştir. Analiz yapılan numunelerin %9,5'inin ise LOQ seviyesini aştığı ve sonuçların geri kazanımlara göre hesaplanmasıyla gıda güvenliği açısından

tüketim limitlerine uymadığı ve risk oluşturma potansiyelinin olduğu görülmüştür.

Tablo 6'da görüldüğü gibi LOQ seviyesini aşan numunelerden P numunesinin AFLB₁ değeri 15.6 µg/kg, T numunesinin AFLB₁ değeri 909.75 µg/kg olarak tespit edilmiş ve ilgili limitlere uygunsuzluğu saptanmıştır. Toplam aflatoksin değerleri incelendiğinde, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde belirtilen limitlere göre P numunesinin maksimum limitten 2 kat fazla, T numunesinin ise yaklaşık 100 kat fazla toksin içerdiği saptanmıştır. Elde edilen kromatogramlar Şekil 1'de verilmiştir. Ayrıca Tablo 6'da numunelerde tespit edilen ve ölçüm limitini aşmış P ve T örneklerinin aflatoksin sonuçları verilmiştir.



Şekil 1. AFLB₁ analizi kromatogramlarının karşılaştırılması (1. T örneği, 2. 1 ppb AFLB₁ standardı, 3. Kontrol örneği)

Örneklerin AFLB₁ ve toplam aflatoksin değerleri sırasıyla P örneği için AFLB₁ 16.95 µg/kg, AFLB₂ 1.01 µg/kg, AFLG₁ 14.2 µg/kg, AFLG₂ 0.6 µg/kg, toplam aflatoksin 32.83 µg/kg ve T örneği için AFLB₁ 909.75 µg/kg, AFLB₂ 10.53 µg/kg, AFLG₁ 242.6 µg/kg, AFLG₂ 0.91 µg/kg ve toplam aflatoksin 1163.8 µg/kg olarak belirlenmiştir (Tablo 6).

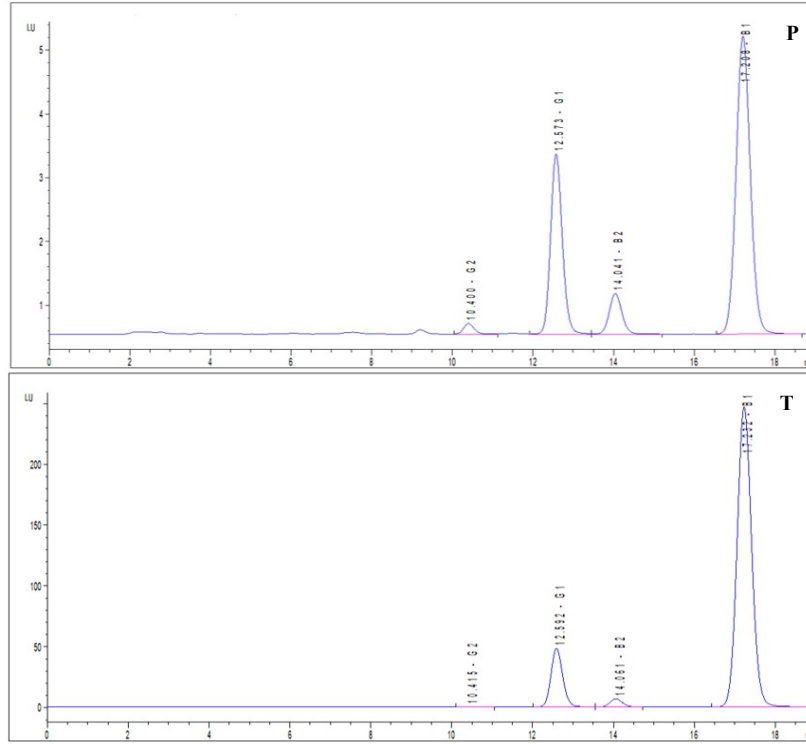
Kuru incirlerde aflatoksinlerin varlığına ilişkin birçok çalışma yapılmıştır. Brezilya'da 19 kuru incir örneği üzerinde yapılan bir çalışmada, dokuz örnekte 0.3–2 µg/kg ve bir örnekte 1500 µg/kg aralığında AFLB₁ tespit edilmiştir

(Iamanaka ve ark., 2007). Şenyuva ve ark., (2007), 2003-2006 yılları arasında ihracata yönelik olarak toplanan kuru incir örneklerinde aflatoksinleri araştırmış ve örneklerin %2.5'inin ve %3.35'inin AFLB₁ ve toplam aflatoksin açısından sırasıyla 2 ve 4 µg/kg sınırını aştığını bildirmiştir.

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Tablo 6. Kuru incir örneklerinde HPLC yöntemi ile aflatoksin bulguları

Örnek	P	T
AFLB ₁ (µg/kg)	16.95 ± 3.65	909.75 ± 191.04
AFLB ₂ (µg/kg)	1.01 ± 0.23	10.53 ± 2.42
AFLG ₁ (µg/kg)	14.2 ± 3.85	242.6 ± 65.5
AFLG ₂ (µg/kg)	0.6 ± 0.23	0.91 ± 0.35
Toplam Aflatoksin (µg/kg)	32.83 ± 5.25	1163.8 ± 201.98



Şekil 2. P ve T örneğine ait aflatoksin kromatogramı

Okratoksin A (OTA) Tayini

Okratoksin A (OTA), esas olarak ılıman iklimlerdeki *Penicillium verrucosum* ve sıcak ve tropik ülkelerdeki *Aspergillus ochraceus* ve *Aspergillus carbonarius* tarafından üretilen ve hasattan önce veya depolama sırasında tarım ürünlerini kirletebilen bir böbrek toksini olarak bilinmektedir ve miktarının tespit edilmesi kuru incirlerin ihracatı için oldukça önemlidir. Bu bileşiğin Balkan Endemik Nefropatisi olarak adlandırılan ölümcül insan böbrek hastalığıyla ve üst üriner sistemdeki tümörlerin görülme sıklığında artışla ilişkilendirilmiştir (EFSA, 2006).

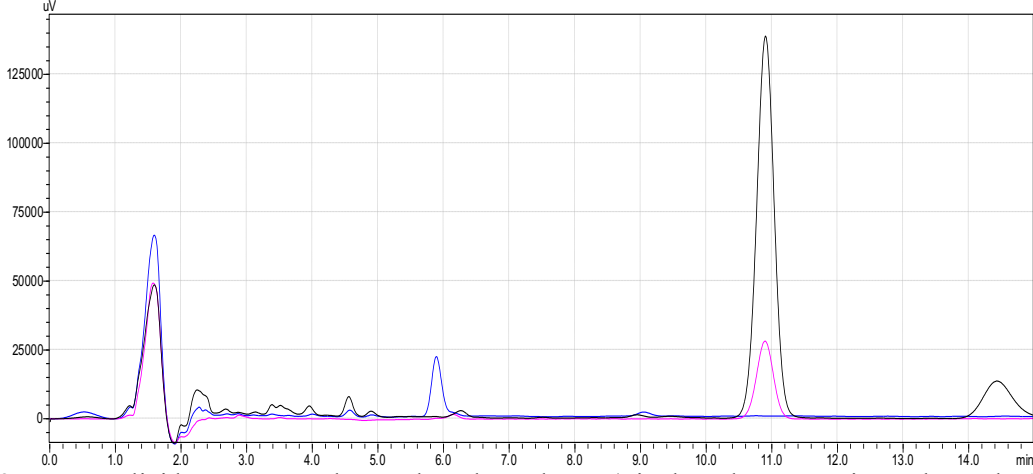
Piyasadan toplanan kuru incir numunelerinin, OTA miktarları değerlendirildiğinde elde edilen sonuçların %76.2 oranında LOQ seviyesini

aşmadığı ve bu numunelerin gıda güvenliği açısından risk teşkil etmediği tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde OTA'nın kuru incir için belirlenmiş herhangi bir limiti bulunmamaktadır. Bu sebeple kuru incirin OTA analiz sonuçlarının yorumlanabilmesi için 5 Ağustos 2022 tarihli Komisyon Yönetmeliği (AB) 2022/1370 kuru incir meyvelerine belirlenmiş limit olan 8 µg/kg değeri kriter olarak kabul edilmiştir. Bu kritik değere göre T numunesi ilgili limiti yaklaşık 18 kat, B numunesi ilgili limiti 13 kat ve V numunesi ilgili limiti yaklaşık 6 kat aştığı saptanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde yer alan kuru meyvelerde OTA maksimum limiti 31.12.2024 itibarıyla 10 µg/kg olarak belirlenmiştir. Kromatogramların

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

karşılaştırılması amacıyla kontrol örneği, 10 ppb OTA standardı ve T örneğinin kromatogramları Şekil 3'de verilmiştir. Ayrıca Tablo 7'de

numunelerde tespit edilen ve ölçüm limitini aşmış numunelerin sonuçları verilmiştir.



Şekil 3. OTA analizi kromatogramlarının karşılaştırılması (Siyah renk: T örneği, pembe renk: 10 ppb OTA standardı, mavi renk: Kontrol)

Örneklerin OTA değerleri sırasıyla B örneği için 109.8 µg/kg, L örneği için 3.1 µg/kg, M örneği için 8.76 µg/kg, T örneği için 154.2 µg/kg ve V örneği için 49.6 µg/kg olduğu saptanmıştır. OTA üretimini etkileyen en önemli faktörler sıcaklık ve su aktivitesidir. İncirlerin hasat edilmesi, kurutulması, kurutma sonrası taşınması ve depolanması sırasında OTA seviyeleri artış

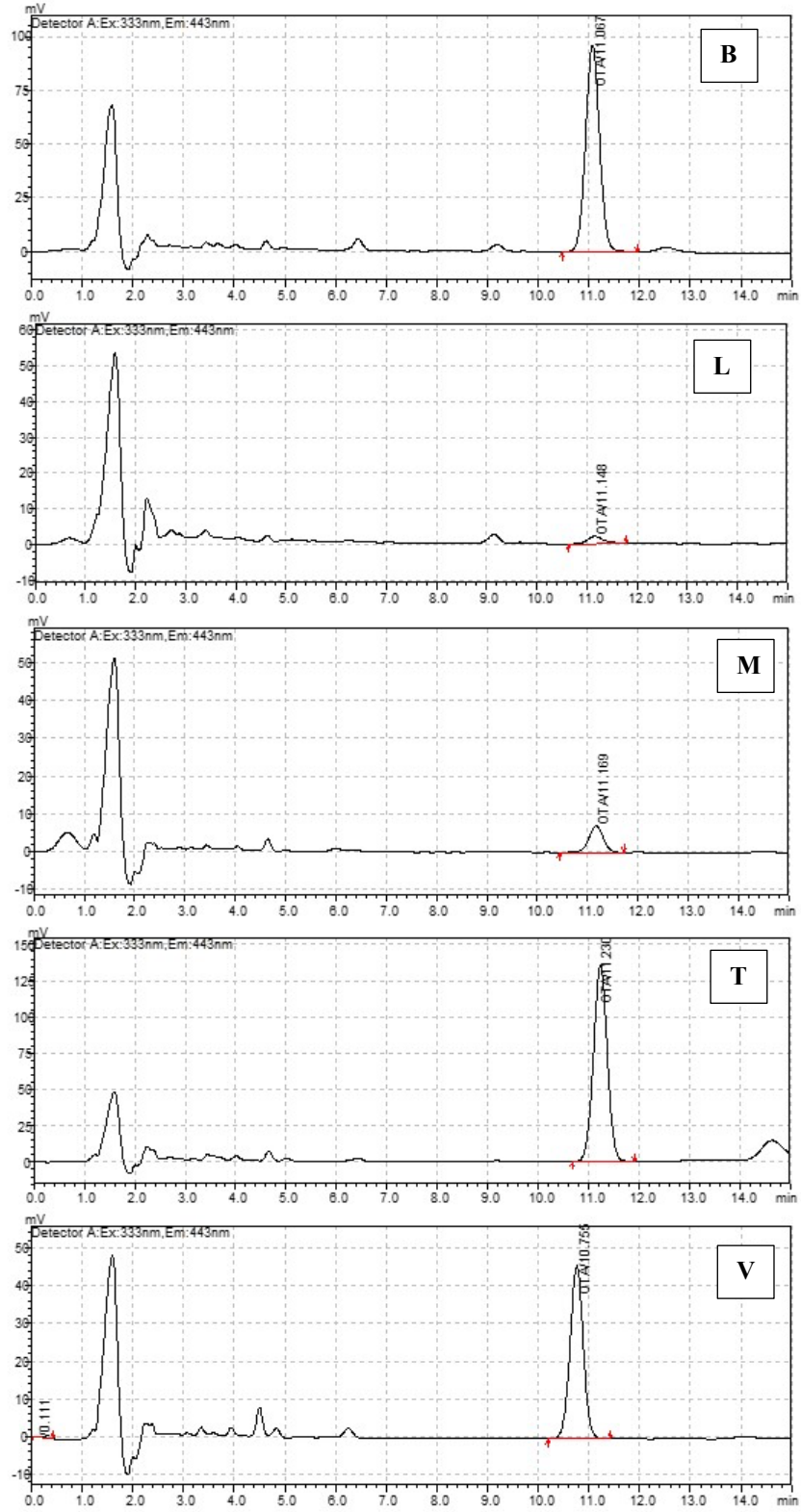
göstermiş olabilir. Daha önce yapılan bir çalışmada, Ege Bölgesinden kurutma aşamasında 115 örnek alınmış ve 115 örneğin 55'inde (%47.2) 0.12 ile 15.31 arasında değişen düzeyde OTA bulunduğunu tespit etmişlerdir (Karbancıoğlu-Güler ve Heperkan 2008).

Tablo 7. Kuru incir örneklerinde HPLC yöntemi ile OTA bulguları

Örnek	B	L	M	T	V
Okratoksin A (OTA) (µg/kg)	109.8 ± 19.76 ^d	3.1 ± 0.56 ^a	8.76 ± 1.57 ^b	154.2 ± 27.76 ^c	49.6 ± 8.92 ^c

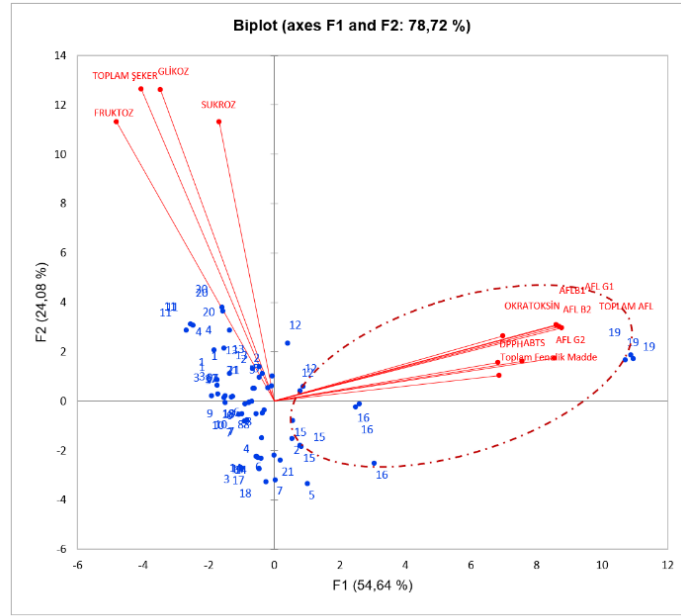
^{a-c} Aynı satırdaki farklı üstel harfler örnekler arasında önemli bir fark olduğunu göstermektedir (p<0.05).

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi



Şekil 4. Örneklerin OTA kromatogramı

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi



Şekil 5. Kuru incirlerin antioksidan aktivite, şeker ve toksin analizlerinin PCA biplotu (1(A), 2(B), 3(C), 4(D), 5(E), 6(F), 7(G), 8(H), 9(I), 10(J), 11(K), 12(L), 13(M), 14(N), 15(O), 16(P), 17(R), 18(S), 19(T), 20(U), 21(V))

Kuru incir örneklerinden elde edilen veriler temel bileşen (PCA) analizlerine tabii tutulmuştur. Kuru incirlerin analizlerinde PCA modeli, toplam varyansın %78,72'sini açıklayan iki temel grup oluşturmuştur (Şekil 5. PC1 %54,64 ve PC2 toplam varyansın %24,08'ini oluşturmuştur). Grafiğin sağ tarafı antioksidan kapasite ve toksin analizlerini ve sol tarafı ise şeker analizlerine ait verileri içermektedir. 12 numaralı L örneği ile 19 numaralı T örneğinin grafiğimizin sağ üst tarafında gruplar oluşturmuştur. Grafikten gözlemlenebileceği gibi L, P ve T örnekleri toksik ve antioksidan yapıları bileşiklerle karakterize edilirken, örneklerimizden A, H, K, L, M, N, U grafiğin sol üst tarafında yer alıp, toplam şeker ve şeker bileşenleri ile karakterize edilir. Özellikle P ve T örnekleri yüksek aflatoksin ve okratoksin içerikleri ile dikkati çekmektedir.

Sonuç

Çalışmamız kapsamında Adana ilindeki toptan ve perakende satış noktalarından sağlanan 21 adet kuru incirlerin şeker bileşimi, antioksidan kapasitesi (DPPH ve ABTS), toplam fenolik madde miktarı, OTA ve aflatoksin analizleri HPLC ile yapılmıştır. Kuru incir örneklerinin %90,5'inin AFLB₁ ve toplam aflatoksin

sonuçlarının Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği limitlerine uygun olduğu belirlenmiştir. Analizi yapılan iki örnekte aflatoksin miktarlarının tüketim limitlerine uymadığına tespit edilmiştir. Özellikle P ve T örneklerindeki AFLB₁ miktarları, yasal limitlere kıyasla önemli ölçüde yüksek olduğu, T örneğinin ise insan sağlığına toksik etki gösteren bir numune olarak öne çıktığı saptanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirlenmiş bir limit olmamasına rağmen, OTA analizleri yapılmış ve örneklerin çoğunluğunun belirlenen LOQ seviyelerini aşmadığı belirlenmiştir. Ancak, özellikle T örneği OTA miktarı açısından önemli bir risk teşkil etmektedir. Şeker içeriği analizleri, özellikle glikozun en baskın şeker olduğunu ve T örneğinin en yüksek toplam şeker miktarına sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, antioksidan kapasite ve toplam fenolik madde analizleri, T örneğinin bu açılardan da en yüksek değerlere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Kuru incirlerin üretiminden tüketimine kadar olan süreçte güvenilirliğinin sağlanması, iç piyasa ve ihracat aşamalarının sık sık denetlenmesi ve toksin analizlerinin düzenli olarak gerçekleştirilmesi büyük bir öneme sahiptir.

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Teşekkür

Bu çalışma Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje Numarası: 21303018) tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Abrunhosa, L., Morales, H., Soares, C., Calado, T., Vila-Chã, A. S., Pereira, M., & Venâncio, A. (2016). A Review of Mycotoxins in Food and Feed Products in Portugal and Estimation of Probable Daily Intakes. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(2), 249–265. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.720619>
- Afsah-Hejri, L., Jinap, S., Hajeb, P., Radu, S., & Shakibazadeh, S. (2013). A review on mycotoxins in food and feed: Malaysia case study. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 12: 629–651.
- Aksoy U., Can H.Z., Hepaksoy S., Sahin N. (2001). Fig cultivation. TARP Turkey Agricultural Research Project Press, Izmir, Turkey.
- Aksoy, U. (2017). The dried fig management and the potential for new products. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1173.65>.
- Ammar, S., del Mar Contreras, M., Belguith-Hadrich, O., Segura-Carretero, A., & Bouaziz, M. (2015). Assessment of the distribution of phenolic compounds and contribution to the antioxidant activity in Tunisian fig leaves, fruits, skins, and pulps using mass spectrometry-based analysis. *Food & function*, 6(12), 3663–3677.
- Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), (2006). Opinion of the scientific panel on the contaminants in the food chain on a request from the commission related to ochratoxin A in food. Question No EFSA-Q-2005–154. *EFSA J.* 365, 1–56.
- Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Knutsen, H. K., Alexander, J., Barregård, L., Bignami, M., Brüschweiler, B., ... & Petersen, A. (2018). Effect on public health of a possible increase of the maximum level for 'aflatoxin total' from 4 to 10 µg/kg in peanuts and processed products thereof, intended for direct human consumption or use as an ingredient in foodstuffs. *EFSA Journal*, 16(2), e05175.
- Bey, M. B., & Louaileche, H. (2015). A comparative study of phytochemical profile and in vitro antioxidant activities of dark and light dried fig (*Ficus carica L.*) varieties. *The Journal of Phytopharmacology*, 4(1), 41–48.
- Bey, M. B., Louaileche, H., & Zemouri, S. (2013). Optimization of phenolic compound recovery and antioxidant activity of light and dark dried fig (*Ficus carica L.*) varieties. *Food Science and Biotechnology*, 22, 1613–1619.
- Bircan, C. (2009). Incidence of ochratoxin A in dried fruits and co-occurrence with aflatoxins in dried figs. *Food and Chemical Toxicology*, 47(8), 1996–2001.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
- Çalışkan, O., & Polat, A. A. (2011). Phytochemical and antioxidant properties of selected fig (*Ficus carica L.*) accessions from the eastern Mediterranean region of Turkey. *Scientia Horticulturae*, 128(4), 473–478.
- Cano, A., Alcaraz, O., Acosta, M., & Arnao, M. B. (2002). On-line antioxidant activity determination: comparison of hydrophilic and lipophilic antioxidant activity using the ABTS*+ assay. *Redox report : communications in free radical research*, 7(2), 103–109. <https://doi.org/10.1179/135100002125000334>
- Chang, S. K., Alasalvar, C., & Shahidi, F. (2016). Review of dried fruits: Phytochemicals, antioxidant efficacies, and health benefits. *Journal of functional foods*, 21, 113–132.
- Debib, A., Tir-Touil, A., Mothana, R. A., Meddah, B., & Sonnet, P. (2014). Phenolic Content, Antioxidant and

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

- Antimicrobial Activities of Two Fruit Varieties of A Algerian *Ficus carica* L. Journal of food biochemistry, 38(2), 207-215.
- Desa, W. N. M., Mohammad, M., & Fudholi, A. (2019). Review of drying technology of fig. Trends in Food Science & Technology, 88, 93-103.
- Di Sanzo, R., Carabetta, S., Campone, L., Bonavita, S., Iaria, D., Fuda, S., & Russo, M. (2018). Assessment of mycotoxins co-occurrence in Italian dried figs and in dried figs-based products. Journal of Food Safety, 38(6), e12536.
- Drusch, S., & Aumann, J. (2005). Mycotoxins in fruits: Microbiology, occurrence, and changes during fruit processing. Advances in food and nutrition research, 50, 33-78.
- Ersoy, N., Gozlekci, S., Gok, V., & Yilmaz, S. (2017). Fig (*Ficus carica* L.) fruit : Some Physical and Chemical Properties. Acta Horticulturae. 329–334.
- Faleh, E., Oliveira, A. P., Valentão, P., Ferchichi, A., Silva, B. M., & Andrade, P. B. (2012). Influence of Tunisian *Ficus carica* fruit variability in phenolic profiles and in vitro radical scavenging potential. Revista Brasileira de Farmacognosia, 22, 1282-1289.
- Food and Agricultural Organization (FAO), 2021. FAO Statistical Databases and Datasets. Available from <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> L (cited 2021 Dec 20)
- Gilbert, J., & Senyuva, H. (2008). Fungal and mycotoxin contamination of dried figs-a review. JSM Mycotoxins, 58(2), 73-82.
- Hajam, T. A., & Saleem, H. (2022). Phytochemistry, biological activities, industrial and traditional uses of fig (*Ficus carica*): A review. Chemico-Biological Interactions, 110237.
- Heperkan, D., Moretti, A., Dikmen, C. D., & Logrieco, A. F. (2012). Toxigenic fungi and mycotoxin associated with figs in the Mediterranean area. Phytopathologia Mediterranea, 119-130.
- Hoxha, L., Kongoli, R., & Hoxha, M. (2015). Antioxidant activity of some dried autochthonous Albanian fig (*Ficus carica*) cultivars. International Journal of Crop Science and Technology, 1(2), 20-26.
- Iamanaka, B. T., de Menezes, H. C., Vicente, E., Leite, R. S., & Taniwaki, M. H. (2007). Aflatoxigenic fungi and aflatoxins occurrence in sultanas and dried figs commercialized in Brazil. Food control, 18(5), 454-457.
- International Agency for Research on Cancer (IARC), (2016). Agents classified by the IARC Monographs, Volumes 1–116. Retrieved from <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/>. Accessed October 25, 2016
- International Agency for Research on Cancer (IARC). (2006). Preamble to the IARC Monographs. Scientific Review and Evaluation. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Preamble/currentbscientificintro0706.php>. Published.
- International Nut and Dried Fruit Council (INC), 2021. INC statistics. Available from <https://www.nutfruit.org/industry/statistics> (cited 2021, Dec 22).
- International Organization for Standardization. ISO 11843–2 Capability of Detection. ISO Copyright office; Geneva, Switzerland: 2000.
- Kabak, B. (2021). Aflatoxins in foodstuffs: Occurrence and risk assessment in Turkey. Journal of Food Composition and Analysis, 96, 103734.
- Kamiloglu, S., & Capanoglu, E. (2015). Polyphenol content in figs (*Ficus carica* L.): Effect of sun-drying. International Journal of Food Properties, 18(3), 521-535.
- Karbancıoğlu-Güler, F., & Heperkan, D. (2008). Natural occurrence of ochratoxin A in dried figs. Analytica chimica acta, 617(1-2), 32–36.
- Kelebek, H., Selli, S., Canbas, A., & Cabaroglu, T. (2009). HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. Microchemical Journal, 91(2), 187-192.

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

- Kelebek, H., Selli, S., Kadiroğlu, P., Kola, O., Kesen, S., Uçar, B., & Çetiner, B. (2017). Bioactive compounds and antioxidant potential in tomato pastes as affected by hot and cold break process. *Food Chemistry*, 220, 31-41.
- Khan R, Ghazali F.M., Mahyudin N.A., Samsudin NIP. (2021). Aflatoxin Biosynthesis, Genetic Regulation, Toxicity, and Control Strategies: A Review. *Journal of Fungi*.; 7(8):606.
- Lee, H. S., & Coates, G. A. (2000). Quantitative study of free sugars and myo-inositol in citrus juices by HPLC and a literature compilation. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 23, 2123- 2141.
- Morovati, M. R., Ghanbari-Movahed, M., Barton, E. M., Farzaei, M. H., & Bishayee, A. (2022). A systematic review on potential anticancer activities of *Ficus carica L.* with focus on cellular and molecular mechanisms. *Phytomedicine*, 154333.
- Opitz, S. E. W., Smrke, S., Goodman, B. A., & Yeretian, C. (2014). Methodology for the Measurement of Antioxidant Capacity of Coffee. *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages*, 253–264. doi:10.1016/b978-0-12-404738-9.00026-x
- Ostry, V., Malir, F., Toman, J., & Grosse, Y. (2017). Mycotoxins as human carcinogens—the IARC Monographs classification. *Mycotoxin research*, 33, 65-73.
- Ouchemoukh, S., Hachoud, S., Boudraham, H., Mokrani, A., & Louaileche, H. (2012). Antioxidant activities of some dried fruits consumed in Algeria. *LWT-Food Science and Technology*, 49(2), 329-332.
- Sandhu, A. K., Islam, M., Edirisinghe, I., & Burton-Freeman, B. (2023). Phytochemical Composition and Health Benefits of Figs (Fresh and Dried): A Review of Literature from 2000 to 2022. *Nutrients*, 15(11), 2623. <https://doi.org/10.3390/nu15112>
- Schilter, B., Andersson, C., Anton, R., Constable, A., Kleiner, J., O'Brien, J., Renwick, A. G., Korver, O., Smit, F., Walker, R., & Natural Toxin Task Force of the European Branch of the International Life Sciences Institute (2003). Guidance for the safety assessment of botanicals and botanical preparations for use in food and food supplements. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 41(12), 1625–1649.
- Şen, F., Aksoy, U., Özer, K. B., Can, H. Z., Köseoğlu, İ., & Konak, R. (2017). Impact of yearly conditions on major physical and chemical properties of fresh, semi-dried and sun-dried fig (*Ficus carica L.* 'Sarılöp') fruit. *Acta Horticulturae*, (1173), 309–314. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1173.53>.
- Senyuva, H. Z., Gilbert, J., & Ulken, U. (2007). Aflatoxins in Turkish dried figs intended for export to the European Union. *Journal of food protection*, 70(4), 1029-1032.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897.
- Shephard, G. S. (2008). Impact of mycotoxins on human health in developing countries. *Food Additives and contaminants*, 25(2), 146-151.
- Stroka, J., Anklam, E., Jörissen, U. & Gilbert, J. (2000). Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste, and paprika powder: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 83(2), 320-340
- Sulyok, M., Krska, R., & Senyuva, H. (2020). Profiles of fungal metabolites including regulated mycotoxins in individual dried Turkish figs by LC-MS/MS. *Mycotoxin Research*, 36(4), 381-387.
- Trucksess, M. W., & Scott, P. M. (2008). Mycotoxins in botanicals and dried fruits:

Kuru İncirlerin Biyoaktif Özellikleri, Aflatoksin ve Okratoksin A Düzeylerinin Değerlendirilmesi

- a review. *Food Additives and Contaminants*, 25(2), 181-192.
- Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. 5 Kasım 2023 tarih ve 32360 sayılı Resmî Gazete, Ankara.
- Veberic, R., & Mikulic-Petkovsek, M. (2016). Phytochemical composition of common fig (*Ficus carica L.*) cultivars. In *Nutritional composition of fruit cultivars* (pp. 235-255). Academic Press.
- Yang, Q., Liu, Y., Guo, Y., Jiang, Y., Wen, L., & Yang, B. (2023). New insights of fig (*Ficus carica L.*) as a potential function food. *Trends in Food Science & Technology*, 104146.