

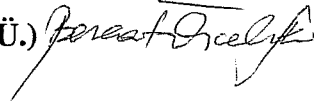
**KURU İNCİRDE AFLATOKSİN VARLIĞININ
BELİRLENMESİ**

**YÜKSEKLİSANS TEZİ
Biyolog Nesrin MEÇİK
(506021414)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : Temmuz 2007
Tezin Savunulduğu Tarih : 12 Haziran 2007**

**Tez Danışmanı : Prof.Dr. Dilek HEPERKAN
Diğer Jüri Üyeleri Prof.Dr. Kamil BOSTAN (İ.Ü.)**

Doç.Dr. Beraat ÖZÇELİK (İ.T.Ü.)



HAZİRAN 2007

ÖNSÖZ

Bu çalışmada Ege Bölgesi çeşitli incir üreticilerinden toplanan incir numunelerinde aflatoksin varlığı HPLC ve ELISA metotları ile incelenmiştir.

Çalışmam boyunca ilgi ve desteğini eksik etmeyen değerli hocam Prof.Dr.Dilek Heperkan'a, çalışmam sırasında yardımlarından dolayı Araştırma Görevlisi Funda Karbancıoğlu Güler'e, bana çalışma olanağı sağlayan İstanbul Üniversitesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı öğretim görevlisi değerli hocalarım Prof. Dr. Kamil Bostan ve Yard. Doç. Dr. Hilal Çolak'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmayı yüksek lisans öğrenimim süresince sabır ve desteklerini esirgemeyen anne ve babama, eşim Berkant Meçik ve kızlarım Bilge ile Aslı'ya ithaf ediyorum.

Haziran, 2007

Nesrin Meçik

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR.....	iii
TABLO LİSTESİ.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
SEMBOL LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	vii
SUMMARY.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1 Kuru İncir Üretimi.....	3
2.1.1 Kuru incirin tanımı.....	3
2.1.2 Kuru incir üretimi.....	3
2.1.3 Dünya'da ve Türkiye'de kuru incir ihracatı ve ithalatı.....	5
2.1.4 Kuru incir tüketimi.....	6
2.1.5 Kuru incir üretim yöntemleri.....	6
2.1.6 Kuru incirin beslenme açısından önemi.....	7
2.2 Kuru İncirde Görülen Bozulmalar.....	8
2.3 Kuru İncirde Küf ve Mikotoksin Oluşumu.....	9
2.3.1 Küf ve mikotoksin oluşumuna etki eden faktörler.....	9
2.3.2 Kuru incirde küf ve mikotoksin oluşumuna etki eden faktörler.....	10
2.3.3 Kuru incirde küf ve mikotoksin oluşumuna neden olan küflerin özellikleri.....	11
2.3.3.1 <i>Aspergillus flavus</i>	12
2.3.3.2 <i>Aspergillus parasiticus</i>	12
2.4 Kuru İncirde Bulunan Mikotoksinler.....	13
2.4.1 Aflatoksinler.....	13
2.4.1.1 Aflatoksinlerin kimyasal özellikleri.....	13
2.4.1.2 Aflatoksin üreten küfler ve izole edildikleri gıdalar.....	15
2.4.1.3 Aflatoksinlerin biyolojik etkileri.....	16
2.4.1.4 Aflatoksin analizleri.....	16
2.4.1.5 Aflatoksinlerle ilgili yasal düzenlemeler.....	20
2.4.2 Kuru incirlerde küf gelişimi ve aflatoksin oluşumuyla ilgili yapılan çalışmalar.....	22
2.4.3 Kuru incirde aflatoksin oluşumunun önlenmesi.....	25
3. MATERYAL VE METOT.....	27
3.1 Materyal.....	26
3.1.1 İncir numuneleri.....	26
3.1.2 Ekipman.....	28
3.1.3 Kullanılan çözeltiler.....	29
3.1.3.1 Aflatoksin standart çözeltisi.....	29
3.1.3.2 HPLC kalibrasyon çözeltisi.....	29

2.1.3.3 Mobil faz.....	30
3.2 Metot	30
3.2.1 Ekstraksiyon.....	30
3.2.2 ELISA ile toplam aflatoksin analizi.....	31
3.2.3 HPLC ile aflatoksin analizi	32
3.2.4 Geri kazanım.....	32
3.2.5 Belirleme limitlerinin ölçümü	32
3.2.6 Dikkat edilecek noktalar.....	33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	34
5. SONUÇ.....	45
KAYNAKLAR.....	46
ÖZGEÇMİŞ.....	61

KISALTMALAR

AF	: Aflatoksin
AFBO	: Aflatoksin B ₁ 8,9 epoksit
HPLC	: High Pressure Liquid Chromatography
TLC	: Thin Layer Chromatography
ELISA	: Enzyme Linked Immunoassay
AOAC	: Association of Analytical Chemists
IAK	: Immünoafinite Kolon
IARC	: International Agency for Research on Cancer
MS	: Mass Spectroscopy
PBS	: Phosphate Buffer Solution

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1 :Türkiye kuru incir üretimi (Anon, 2003 ;Anon,2005a).....	4
Tablo 2.2 :Dünya kuru incir üretimi (Anon,2003).....	5
Tablo 2.3 :Türkiye taze ve kuru incir ihracatı (Anon, 2005a).....	5
Tablo 2.4 :Türkiye taze ve kuru incir ithalatı (Anon, 2003).....	6
Tablo 2.5 :100 gr. kuru incirin besin değeri içerikleri (Anon, 2003).....	8
Tablo 2.6 :Aflatoksinlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri (Cole ve Milbra, 2003).....	14
Tablo 2.7 :Aflatoksin analizinde kullanılan immünolojik teknikler.....	18
Tablo 2.8 :FDA tarafından belirlenen toplam aflatoksin limitleri.....	21
Tablo 2.9 :Türk gıda kodeksi 2002/63 no’lu tebliğine göre gıdalarda bulunması gereken maksimum aflatoksin seviyeleri.....	22
Tablo 3.10 :Kuru incir numunelerinin toplandığı bölgeler.....	28
Tablo 3.11 :HPLC kalibrasyon çözeltileri ve içerdikleri aflatoksin miktarı.....	30
Tablo 3.12 :HPLC yöntemi belirleme limiti ölçümü için hazırlanan standart çözeltilerin konsantrasyonları ve içerdikleri aflatoksin miktarı.....	33
Tablo 4.13 :HPLC analizinde aflatoksin belirleme limitleri	36
Tablo 4.14 :HPLC yönteminde geri kazanım değerleri	37
Tablo 4.15 :2003 yılına ait kuru incir örneklerinde HPLC ve ELISA yöntemi ile aflatoksin bulguları.....	40
Tablo 4.16 :2004 yılına ait kuru incir örneklerinde HPLC ve ELISA yöntemi ile aflatoksin bulguları	41
Tablo 4.17 :Kuru incirlerde aflatoksin belirlenen örnek sayılarının ELISA ve HPLC yöntemlerindeki dağılımının karşılaştırılması.....	42
Tablo 4.18 :HPLC yöntemine göre pozitif çıkan örneklerde bölgelere göre aflatoksin dağılımı.....	43
Tablo 4.19 :HPLC yöntemine göre yasal limitlerin (Toplam AF>4ppb) üzerinde aflatoksin içeren 2003-2004 yıllarına ait örneklerin bölgelere göre aflatoksin dağılımı.....	44

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1 : Kuru incirlerin kerevetlerde kurutulması(Aksoy, 2001).....	7
Şekil 2.2 : Aflatoksinlerin kimyasal yapıları(Tarin ve diğ, 2004).....	15
Şekil 2.3 : Immünoafinite kolonun mikotoksin saflaştırma prensibi (Magan ve Olsen, 2004).....	19
Şekil 4.4 : Aflatoksin B ₁ 'in kalibrasyon grafiği.....	37
Şekil 4.5 : Aflatoksin B ₂ 'nin kalibrasyon grafiği.....	38
Şekil 4.6 : Aflatoksin G ₁ 'in kalibrasyon grafiği.....	38
Şekil 4.7 : Aflatoksin G ₂ 'nin kalibrasyon grafiği.....	39
Şekil A1 : HPLC Aflatoksin standartı kromatogramı.....	52
Şekil A2 : 04.03 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	53
Şekil A3 : 06.03 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	53
Şekil A4 : 08.03 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	54
Şekil A5 : 26.03 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	54
Şekil A6 : 42.03 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	55
Şekil A7 : 61.03 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	55
Şekil A8 : 64.03 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	56
Şekil A9 : 65.03 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	56
Şekil A10 : 68.03 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	57
Şekil A11 : 69.03 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	57
Şekil A12 : 70.03 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	58
Şekil A13 : 02.04 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	58
Şekil A14 : 03.04 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	59
Şekil A15 : 04.04 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	59
Şekil A16 : 41.04 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	60
Şekil A17 : 43.04 nolu incir örneğinin HPLC kromatogramı.....	60

SEMBOL LİSTESİ

a_w	: Su aktivitesi değeri
D değeri	: Herhangi bir öldürücü işlemde (ısıl işlem, ısınlama, kimyasal madde uygulaması vb.) mikroorganizma popülasyonunda %90 ölüm için (1 logaritma birimi azalma) için gereken süre.
LD₅₀	: Test popülasyonunun yüzde ellisinin ölümüne neden olan doz

KURU İNCİRDE AFLATOKSİN VARLIĞININ BELİRLENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada Ege bölgesi; Germencik, Erbeyli, İncirliova, Söke, Selçuk, Ortaklar, Torbalı'daki çeşitli incir üreticilerinden, 1'er kg numune olacak şekilde toplanan 44 incir numunesinde aflatoksin varlığı incelenmiştir.

Kuru incir numunelerinde ELISA analizi AgraQuant® 1-20 Toplam Aflatoksin test prosedürüne göre yapılmıştır. Kuru incir numunelerinde HPLC ile aflatoksin analizi "AOAC 999.07 Fıstık Ezmesi, Antepfıstığı ezmesi, İncir Ezmesi ve Acı Pulbiber Tozunda Aflatoksin Belirlenmesi" resmi metoduna göre Kolon Sonrası Türevlendirme ile Immunoafinite kolon Sıvı Kromatografi yöntemiyle yapılmıştır. Bu amaçla toplanan kuru incir örnekleri önce metanol ekstraksiyonu uygulanmış, elde edilen ekstrakt daha sonra Immünoafinite kolondan geçirilerek aflatoksinlerin kolonda tutulması sağlanmıştır. Kolon daha sonra yıkanarak, elüsyon işlemi ile aflatoksinler saflaştırılmıştır.

Elde edilen elüent yüksek basınç sıvı kromatografi cihazı (HPLC) ile incelenmiş ve aflatoksin miktarı hesaplanmıştır.

Çalışmada 7 ayrı bölgeden toplanan 44 kuru incir numunesi ELISA ve IAK saflaştırma HPLC ile analiz edilmiş iki yöntem arasında farklı sonuçlar elde edilmiştir. HPLC yöntemiyle analiz sonucu incir numunelerinin 11'inde aflatoksin tespit edilmiştir. ELISA yöntemiyle analiz edilen 44 kuru incir numunesinden 14'ünde aflatoksin tespit edilmiştir.

Yaptığımız çalışmada kuru incir numunelerinde ELISA ile ölçülen toplam aflatoksin değerleri HPLC ile elde edilen değerlerden oldukça yüksektir. ELISA metodu ile HPLC analizinden elde ettiğimiz sonuçlar arasında değişkenlik bulunması ELISA metodunun tarama amaçlı kullanılabileceğini göstermektedir.

DETERMINATION OF THE PRESENCE OF AFLATOXINS IN DRIED FIG SUMMARY

In this study, aflatoxin presence was inspected in dried fig samples collected from Aegean region of Turkey. For this purpose, 44 dried fig samples were collected from Germencik, Erbeyli, İncirliova, Söke, Selçuk, Ortaklar and Torbalı and they were analyzed for their aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂ and total aflatoxin content. Samples were collected as amount of 1 kg of each.

The aflatoxin presence in 44 dried fig samples were firstly analyzed with ELISA AgraQuant® 1-20 Toplam Aflatoksin test procedure.

The aflatoxin presence in dried fig samples were analyzed with AOAC 999.07 “Immunoaffinity Column Cleanup with Liquid Chromatography Using Post-Column Bromination for Determination of Aflatoxins in Peanut Butter, Pistachio Paste, Fig Paste and Paprika Powder” method. For this purpose, dried fig samples were firstly extracted with methanol. Then extracts were applied to an Immunoaffinity Column containing antibodies specific for aflatoxins. Aflatoxins were removed from Immunoaffinity Column and were quantified by reversed phase liquid chromatography.

44 dried fig samples were analyzed by HPLC and 11 of them were determined to contain aflatoxins. Dried fig samples analyzed with ELISA, 14 of them were determined to contain aflatoxin.

In this study, total aflatoxin levels of fig samples analyzed by ELISA were higher than aflatoxin levels detected by HPLC method. Due to high variability between data obtained by the ELISA method and the HPLC methods, it was concluded that the ELISA method is applicable only as a screening method.

1. GİRİŞ

Kuru incir ülkemiz ekonomisi açısından önemli ihracat ürünlerindendir. İncir hem sofralık incir olarak hem de kuru incir olarak tüketilmektedir (Aksoy, 2001)

Ülkemiz dünya taze ve kuru incir üretiminde ilk sırada yer almaktadır. Dünya taze incir üretiminin %23,6'sını, dünya kuru incir üretiminin ise % 54.3'ünü tek başına karşılamaktadır. Türkiye'yi sırasıyla Mısır, Yunanistan , İran , Fas ve İspanya izlemektedir (Anonim, 2003).

Kuru incir hasadı olgunlaşıp yere düşen incirlerin elle toplanması ile yapılmaktadır. Yere düşen incirler toplanıp yerden 10-15 cm yükseklikte kerevet adı verilen plastik veya galvanizli telden yapılmış ızgaralara serilmekte ve %20-22 neme ulaşana kadar 5 gün süreyle kurutulmaktadır (Aksoy, 2001).

Küfler, insan sağlığı ve ürünün kalitesi açısından önemlidir. Küflerin üründe gelişme koşullarının araştırılması, bunların üründe gelişmelerinin önlenmesi açısından önemlidir.

Yapılan çalışmalarda incir mikroflorasında *Aspergillus niger*, *A. parasiticus*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *Penicillium expansum*, *Cladosporium* spp., *Rhizopus* sp, *Fusarium* spp, *Trichoderma* sp., *Mucor* sp. varlığı belirlenmiştir (Arıcı, 2001; Var ve diğ., 2001).

Özay (1989), çeşitli incir bahçelerinden ve işletmelerinden topladığı 1988 yılı mahsulü 103 incir numunesinin aflatoksin içeriklerini incelemiş, incir örneklerinin %29'unda aflatoksin saptamıştır.

Boyacıoğlu ve diğ., (1989), 1985-1986 yılları arası Türkiye'den İsviçre'ye ihracat edilen 1986 mahsulü kuru incirlerden kurutma aşamasında toplanan örneklerin %4'ünde aflatoksin B₁, %2'sinde aflatoksin B₂ ve %2'sinde aflatoksin G₁ saptamışlardır. İşleme ve depolama aşamasında toplanan örneklerde aflatoksine rastlanmamıştır.

Şenyuva ve diğ. (2005) çeşitli ihracatçılardan tedarik ettikleri, Türkiye'den Avrupa Birliği ülkelerine ihracat edilen 2003-2004 üretimi kuru incirlerde okratoksin A ve

aflatoksin oluşumunu incelemiştir. Bu çalışma sonunda 2003 yılında üretilen kuru incirlerde 58 örnekten 9'unda 35.1 ng/g aflatoksin B₁ saptanmıştır. 2004 yılında üretilen kuru incirlerde ise 41 örnekten 18'inde 20.6 ng/g aflatoksin B₁ saptanmıştır.

Çalışmamızda çeşitli üreticilerden tedarik edilen kuru incir numunelerinde aflatoksin varlığı ELISA ve Immünoafinite kolon-Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi (HPLC) yöntemiyle belirlenmiş ve iki yöntem karşılaştırılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Kuru İncir Üretimi

2.1.1 Kuru incir tanımı

Kuru İncir, *Ficus carica domestica* L. türüne giren ağaçların olgun, meyvelerinin hasat edildikten sonra yapay ya da doğal metotlarla kurutulmasıyla elde edilen ,doğrudan ya da işlendikten sonra insan tüketimine sunulan incir olarak tanımlanmaktadır.

Kuru incir boyutlarına göre ekstra, birinci, ikinci sınıf ve endüstriyel olarak sınıflandırılmaktadır. Buna göre 1 kiloya 60 adetten az incir gelirse ekstra, 60-80 arası sayıda gelirse 1.sınıf, 80-110 arası sayıda gelirse 2.sınıf olarak sınıflandırılır. Endüstriyel incir ise hiçbir sınıfa girmeyen hurda olarak nitelendirilmektedir (Anonim, 2002a).

İşlenmiş kuru incir, ılık su ile yıkanmış, sapı kesilmiş olan kuru incir, işlenmemiş kuru incir ise dalından koparıldıktan sonra hiçbir işleme tabi tutulmayan incir olarak tanımlanmaktadır. İncir kurutulduktan sonra son neminin %20-22 arası olması gerekmektedir (Aksoy, 2001).

Kuru incirin kalite kriterlerine uygun, sağlam, bozulmamış, çürümemiş, kokuşmamış ve bütün halde bulunması gerekmektedir. Canlı veya ölü böcek, kemiriciler ve yabancı madde içermemelidir. Kuru incirlerin nemi %26'dan fazla olmamalıdır. Ancak ithalâtçı ülkenin yönetmeliklerine uygun ise gerekli koruyucu maddelerle muamele edilmiş olan kuru incirlerin nemi %30'a kadar kabul edilebilmektedir (Anonim, 2002a).

2.1.2 Kuru incir üretimi

Kuru incir ekonomik potansiyele sahip önemli ihracat ürünlerimizdendir. İncir ülkemizin kıyı bölgelerinde, Büyük ve Küçük Menderes Havzalarında, Güneydoğu Anadolu'da ve İç Anadolu'da yetişmektedir. Ticari olarak kuru incir yetiştiriciliği yapılan bölgeler; Ege Bölgesi Aydın (Germencik), Birgi (Ödemiş), İzmir il sınırları

içinde kalan Büyük ve Küçük Menderes orta havzası, Tire, Bursa ve çevresidir. Salihli (Manisa), Mut (İçel) ve Gaziantep'te özellikle sofralık incir olarak bilinen incir üretimi yapılmaktadır (Aksoy, 2001). Ege Bölgesinde yetişen sarılop çeşidi, meyve kabuğunun inceliği, kalın etli ve şekerce zangin, yumuşak oluşu nedeni ile kurutmalık incir olarak bilinmektedir (Var ve diğ., 2001).

Ülkemiz dünya taze ve kuru incir üretiminde ilk sırada yer almaktadır. Dünya taze incir üretiminin %23.6'sını, dünya kuru incir üretimin ise %54.3'ünü tek başına karşılamaktadır. Türkiye'yi sırasıyla Mısır (%17.4), Yunanistan (7.4), İran (6.6), Fas (6.3) ve İspanya (5.8) izlemektedir (Anonim, 2003). Türkiye kuru incir üretimi tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1: Türkiye Kuru İncir Üretimi (Anonim, 2003; Anonim, 2005a)

Yıllar	Üretim Miktarı (ton)
1998	50.981
1999	52.684
2000	49.001
2001	48.028
2002	52.684
2003	54.571
2004	55.631

2004 yılında 275.000 tonluk incir üretimimizin 220.000 tonu kurutmalık, kalan 55.000 tonu ise taze olarak tüketilmektedir. Taze incirin 10.376 tonluk yaklaşık %18'lik bölümü ihraç edilmektedir (Anonim, 2005a).

Dünyada 2002 yılı itibarıyla 419 bin hektar alanda incir üretimi yapılmakta ve elde edilen incir miktarı 1,1 milyon tondur. Türkiye 2003 yılında 46.500 ton üretimle dünya kuru incir üretiminin %60'ını oluşturmaktadır. Türkiye'yi sırasıyla Yunanistan , ABD , İtalya, Portekiz ve İspanya izlemektedir. Dünya kuru incir üretimi tablo 2.2'de gösterilmiştir (Anonim, 2003).

Tablo 2.2: Dünya Kuru İncir Üretimi (ton) (Anonim, 2003).

Ülkeler	1998	1999	2000
Türkiye	50.981	52.684	49.001
Yunanistan	12.250	12.400	12.500
ABD	12.400	12.650	12.500
İtalya	7.200	6.475	7.000
Portekiz	4.200	4.200	4.000
İspanya	3.600	3.500	3.700

2.1.3 Dünya'da ve Türkiye'de kuru incir ihracatı ve ithalatı

Dünyada her yıl yaklaşık 60-70 bin ton kuru incir ihracatı yapılmaktadır. Dünya ihracatının ortalama %55'i ülkemiz tarafından gerçekleştirilmektedir. İhracatımızın %58'i Avrupa Birliği ülkelerine yönelik olup, ihracat yaptığımız başlıca ülkeler Almanya, Fransa, İngiltere, İtalya ve İsveç'tir. Diğer kuru incir alıcı ülkeler ise Hollanda, Avusturya, İsrail ve İsviçre'dir. Dünya ihracatında Türkiye'yi Yunanistan takip etmektedir (Anonim, 2003).

2005 yılının ilk dokuz aylık döneminde kuru incir ihracat miktarı 23.060 ton, ihracat değeri ise 46.6 milyon dolar seviyesine ulaşmıştır. AB ülkelerine yönelik ihracat geçen yılın aynı dönemine göre %18 artışla 9.8 milyon dolara ulaşmıştır. Kuru incir ihracatında 10.4 milyon dolarla Fransa ilk sırada yer almaktadır. Bu ülkeyi sırasıyla, Almanya (7 milyon dolar), İtalya (3.1 milyon dolar), İsviçre (2.6 milyon dolar) izlemektedir. İhracatımızdaki diğer önemli ülkeler Rusya Federasyonu, Hollanda, İngiltere ve İspanya'dır (Anonim, 2005b). Türkiye taze ve kuru incir ihracatı tablo 2.3'te gösterilmiştir.

Tablo 2.3: Türkiye Taze ve Kuru İncir İhracatı (Anonim, 2005a).

Yıllar	Kuru incir	Değer(1000\$)	Taze incir	Değer(1000\$)
	Miktar(Mt)		Miktar(Mt)	
1998	37.024	71.168	4.387	5.837
1999	40.238	70.278	6.253	6.357
2000	43.066	68.038	-	-
2001	39.284	66.216	6.409	6.713
2002	35.052	70.553	6.412	5.898
2003	42.081	78.028	9.138	11.374
2004	53.121	90.956	10.336	13.643

Önemli incir üreticisi olan Türkiye az miktarda kuru incir ithal etmektedir. Diğer kuru incir ithal eden ülkeler Almanya, Fransa ve İngiltere'dir. İtalya ihracatçı ülke olduğu gibi kuru incir ithalatı da yapmaktadır. Türkiye taze ve kuru incir ithalatı tablo 2.4'te gösterilmektedir.

Tablo 2.4: Türkiye Taze ve Kuru İncir İthalatı (Anonim, 2003).

Yıllar	Kuru İncir		Taze İncir	
	Miktar (Mt)	Değer (1000\$)	Miktar (Mt)	Değer (1000\$)
1998	797	1.392	0	0
1999	762	1.622	12	14
2000	1.015	1.818	-	-
2001	1.491	2.613	0	0

2.1.4 Kuru incir tüketimi

Dünyada üretilen 90.000 ton civarındaki kuru incir üretiminin yaklaşık %30-40'ı üretici ülkelerce tüketilmektedir. Kuru incir uluslararası pazarlarda, çerezlik olarak tüketildiği gibi pasta imalatında, çeşitli yemeklerin yapımında, dilimlenmiş olarak ekmek imalatında, şekerli mamuller imalatında ve meyve karışımlarında kullanılmaktadır. Kalitesi düşük olanlardan pekmez, hurda incirlerden de etil alkol üretilmektedir. Etil alkolün üretimi esnasında ortaya çıkan incir çekirdekleri de boya, kozmetik ve ilaç sanayinde değerlendirilmektedir (Anonim, 2003).

Ülkemizde üretilen incirin %30'u taze olarak iç pazarda, %70'i kuru incir olarak dış ve iç pazarda tüketilmektedir. Kişi başına yıllık kuru incir tüketimi yaklaşık 150-200 g'dır. Türkiye'nin yıllık kuru incir tüketim miktarı ise ortalama 5-6 bin ton civarındadır (Anonim, 2003).

Türkiye kuru incir tüketimi 1999 yılında 6.508 ton, 2000 yılında 2.084 ton ve 2001 yılında 5.827 tondur (Anonim, 2003).

2.1.6 Kuru incir üretim yöntemleri

Kuru incir üretimi, önce bahçenin seçilerek incir çeliklerinin dikilmesiyle başlar. İncir çelikleri daha kolay köklenebildiği için tercih edilmektedir. Güneş yanıklığına karşı incir fidanının boyu dikim sırasında 50-100 cm'den kesilir. Meyveler irileşmeye başladığında ağacın sarkan dallarındaki incirlerde güneş yanıklığı ortaya çıkar. Yüzeyinin üçte birinden fazlası güneş yanıklığı nedeniyle derimsi hale gelmiş meyveler özürlü kabul edilerek hurdaya ayrılır (Aksoy, 2001).

Kuru incir hasadı olgunlaşıp yere düşen incirlerin elle toplanması ile yapılmaktadır. Yere düşen incirler toplanıp yerden 10-15 cm yükseklikte kerevet adı verilen plastik veya galvanizli telden yapılmış ızgaralara serilmekte ve nemi %20-22 olana dek kurutulmaktadır. İncirlerin bu şekilde kurutulması yaklaşık 5 gün sürmektedir (Özay ve Alperden,1989; Aksoy, 2001).



Şekil 2.1: Kuru İncirlerin Kerevetlerde Kurutulması (Aksoy, 2001).

Kuru incirlerde kurutma son yıllarda güneş enerjisinden yararlanılan solar kurutma sistemleri ile yapılmaktadır. Bu yöntemle %50-60 nem içeren incirler, toprağa dökülmeden önce, ağaçtan toplanarak, plastik telli kerevetlere dizilmekte, buradan solar kurutma tüneline sokularak, meyvedeki nem oranının %20-22 seviyesine düşmesi sağlanmaktadır.

Kuru incirler buradan incir işletmelerine alınarak kurtlanmaya karşı metil bromitle fumigasyon işlemi uygulanmaktadır (Anonim, 2003). Kuru incirlerin kerevetlere dizilerek kurutulması şekil 2.1’de gösterilmiştir.

2.1.8 Kuru incirin beslenme açısından önemi

Kuru incir yüksek kalsiyum, fosfor ve şeker içeriği ile oldukça besleyici bir meyvedir. Enerji değeri ise 217 kcal’dir. 100g kuru incirin besin değeri içerikleri tablo 2.5’te gösterilmiştir.

Tablo 2.5: 100 g. Kuru İncirin Besin Değeri İçerikleri (Anonim, 2003).

Enerji(kcal)	217
Protein(g)	4
Şeker (g)	55.3
Yağ (g)	1.2
Diyet Lifi (g)	6.7
Kalsiyum (mg)	138
Fosfor (mg)	163
Demir (mg)	4.2
Magnezyum (mg)	91.5
Vitamin B1 (mg)	0.073
Vitamin B2 (mg)	0.072

2.2 Kuru İncirde Görülen Bozulmalar

İncir meyvesinde kök uyuzu, çelik marazı, sürme (siyah küf) ve iç çürüklüğü gibi hastalıklar görülebilmektedir. *Aspergillus niger* sürme hastalığına ve *Fusarium* spp. olgunlaşma döneminde meyve içinin yumuşayıp pembeleşmesi ve ağızdan pembe renkli sıvının akması ile belirgin iç çürüklüğüne neden olmaktadır. Bu etmenler erkek incirlerde geliştiğinden ilek meyveleri asılırken çürümüş ve içi kahverengileşmiş olanların ayrılması gerekmektedir. Bahçe dönemindeki incir zararlıları arasında en önemlileri kanlı balsıra, akarlar, ekşilik böcekleri ve sirke sinekleridir (Aksoy, 2001).

İncir meyvesine mayalar sineklerle bulaşmakta ve meyve içersine kadar ulaşmaktadır. Mayalar nedeniyle meyvede ekşime meydana gelmektedir. Bunun sonucunda incirde fermente olmuş tat, sirkemsi koku oluşmaktadır. İncir meyvesinde bozulmaya neden olan başlıca mayalar, *Saccharomyces* spp., *Candida* spp., *Pichia*, *Hanseniaspora*, *Debaryomyces* türleridir (Mrak ve diğ., 1942).

İncirin kurutuluncaya kadar geçirdiği aşamalarda çok fazla hırpalanması kalitesinin düşmesine neden olur. Çuvallarda ürün yükü nedeni ile ezilme ve parçalanmalar, bez torbalarda havalanmanın yetersizliği nedeni ile ekşimeler, jüt çuvallarda ise liflerin meyveye yapışma riski bulunmaktadır. İncirde fermentasyon nedeniyle tat, koku ve görünüm bozuklukları meydana gelmektedir (Aksoy, 2001).

Uzun süre güneş ışınlarına maruz kalan incirler elastikiyetini kaybeder, sertleşir ve güneş yanıklığı meydana gelir. Aşırı derecede kuruyan incirler, sertleşir ve doğal rengini kaybeder, lezzet kaybına uğrar (Anonim, 2002a).

2.3 Kuru İncirde Küf ve Mikotoksin Oluşumu

İncir meyvesi yüksek oranda şeker içeriği, hasat ve hasat sonrası koşullar nedeniyle küf ve mikotoksin oluşumunun görüldüğü bir üründür. İncir tarlada küfle kontamine olmakta, küf ve mikotoksin oluşumu daha sonraki aşamalarda da devam etmektedir (Buchanan ve diğ, 1975).

2.3.1 Küf ve mikotoksin oluşumuna etki eden faktörler

Mikotoksinler, küfler tarafından sentezlenen sekonder metabolitlerdir. Gıdalarda mikotoksin oluşturan başlıca küfler *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* türleridir.

Üründe mikotoksin oluşumunda, depolama koşulları gibi dış faktörlerin yanında gıdanın kimyasal ve fiziksel kompozisyonu da önemli rol oynar. Gıdada mikotoksin oluşumunda kültüre alma, hasat, depolama ve taşıma şartları kadar, coğrafik ve mevsimsel faktörler de etkilidir. Sıcaklık, nem, üründe fiziksel hasar meydana gelmesi gibi faktörler nedeniyle hasat öncesi ve hasat sonrası üründe küf kolonizasyonu ve mikotoksin oluşumu görülebilmektedir (Bhatnagar ve diğ.,2004).

Genel olarak küfler 25°C’de, %80 bağıl nemde iyi gelişirler. Aflatoksinler uygun sıcaklıkta ve yüksek bağıl nemde hem hasat öncesi hem de hasat sonrası oluşabilmektedir (Helferich ve Winter, 2000)

Meyveler 2.5-5.0 arası pH’ya sahiptirler. Pekçok küf asidik koşullarda gelişebilir. Meyvelerin olgunlaşması sırasında pH artar, dokuları yumuşar, çözünür karbonhidratlar meyvede birikmeye başlar. Bu dönemde meyve küf gelişimine oldukça hassas hale gelir (Splittstoesser, 1987).

Hasat öncesi ya da sonrası küf ve mikotoksin oluşumu görülen ürünler mısır, yerfıstığı, pamuk tohumu, pirinç, kabuklu yemişler, tahıllar ve meyvelerdir. Et, süt, yumurta gibi hayvansal gıdalar ise hayvan yemleriyle hayvana geçerek mikotoksinlerle kontamine olurlar (Jay ve diğ., 2005).

Gıdada mikotoksin oluşumu gıdanın nem içeriği ve içerdiği küf florası kadar kurutma ve depolama şartlarına da bağlıdır. Gıdada küf bulunmaması mikotoksin

olmadığı ya da küf olması mikotoksin bulunduğu anlamına gelmemektedir. Gıdada küf olmadan mikotoksin bulunması mikotoksinin gıda işleme prosesinden önce, erken aşamalarda oluştuğunu göstermektedir. Küfler uzaklaştırılsa bile kimyasal stabiliteleri nedeniyle mikotoksinler işleme süresince bozulmadan kalabilirler (De Vries, 1997).

Küfler depo koşullarında %13-18 nemde iyi gelişirler. Bullerman ve diğ.(1984) genel olarak mikotoksin oluşumunun %13-16 nemde başladığını ve %20-25 nemde maksimuma ulaştığını belirtmiştir (Bullerman, 1979; Ominski ve diğ., 1994).

2.3.2 Kuru incirde küf ve mikotoksin oluşumuna etki eden faktörler

Yapılan çalışmalarda incir mikroflorasında *Aspergillus niger*, *A. parasiticus*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *Penicillium expansum*, *Cladosporium spp.*, *Rhizopus sp.*, *Fusarium spp.*, *Trichoderma sp.*, *Mucor sp.* varlığı belirlenmiştir (Arıcı, 2001; Var ve diğ., 2001). Bunlardan *A.niger*, *A.parasiticus*-*A.flavus* ve *Fusarium*'un en sık rastlanan küfler olduğu belirtilmektedir (Heperkan, 2005).

İncir meyvesi 4.8-5.0 arası pH'ya, %22 (0.68 su aktivitesi değeri) neme sahiptir (Splittstoesser, 1987).

Buchanan ve diğ.(1975), olgun incir meyvesinde mikotoksin oluşturan başlıca küfün *Aspergillus flavus* olduğunu belirtmişlerdir. Meyve yüzeyi kadar, sineklerle küfün meyvenin içine kadar bulaşması da sözkonusudur. Bu araştırmacılar incirin olgunlaşma, hasat ve kurutma sıcaklıklarının 27-30°C arası değiştiğini, bunun da küf gelişimi ve mikotoksin oluşumu için uygun bir ortam olduğunu belirtmişlerdir. Depolanmış ürünlerde nem oranının %13-18'in üzerinde olması mikotoksin oluşumuna neden olmaktadır .

Buchanan ve diğ.(1975) yeşil, olgunlaşmamış incirin küf kolonizasyonu ve aflatoksin oluşumuna dirençli olduğu, *Aspergillus flavus*' un inciri olgunlaşma safhasında enfekte ettiği ve aflatoksin ürettiğini belirtmiştir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada bu küf türünün incirin hangi safhalarında kolonize olduğu, incirde aflatoksin oluşumu, kurutma hızının aflatoksin oluşumuna etkisini ve böcek ve sineklerin inciri enfekte etmedeki rollerini incelemişlerdir. İncirdeki aflatoksin miktarı ince tabaka yöntemiyle tayin edilmiştir. Çalışma sonucunda aflatoksin konsantrasyonu ve küf üremesindeki artışın, meyvedeki nem miktarının düşüp, kurummasına kadar geçen sürede devam ettiğini ortaya koymuşlardır .

Morton ve diğ. (1979) kuru incir, kayısı, ananas ve kuru üzümü küf ve aflatoksin oluşumunun görüldüğü potansiyel substratlar olarak tanımlamışlardır. Bu örneklerle *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* türlerini aşilayarak aflatoksin oluşumunu incelemişlerdir. Bu çalışmada kuru inciri aflatoksin oluşturma potansiyeli yönünden kayısıdan sonra ikinci sırada olarak sınıflandırmışlar ve aflatoksin B₁ ile birlikte aflatoksin G₁ ve G₂ de oluşturduklarını belirtmiştir.

Steiner ve diğ.(1988) kuru incirde aflatoksin oluşumuyla ve UV ışığı altında parlak yeşilimsi fuloresan oluşumu arasında korelasyon olduğunu belirtmiştir.

Özay (1989), incirin *A.flavus* ve *A.parasiticus* küflerinin gelişimi için uygun bir substrat olduğunu, yetiştirildiği bölgelerde, olgunlaşma ve hasat dönemindeki sıcaklıkların (28-30°C), küf ve mikotoksin oluşumu için ideal sıcaklıklar olduğunu vurgulamıştır .

Pitt ve Hocking (1997), kuru incirde *A. flavus* ve *A.niger*'in en yaygın rastlanan türler olduğunu ve incirin yüksek şeker konsantrasyonu nedeniyle kayısı ve üzümünden daha fazla küf kontaminasyonuna maruz kaldığını belirtmişlerdir .

A.flavus-A.parasiticus kontaminasyonu, ağaçtan toplanan olgun incirlerde %41, toprak üzerinden temin edilenlerde %21, güneşte kurutulmuş incirlerde %42, depolardan alınan incirlerde %33, işletmelerden alınan incirlerde %25, incir ezmesinde ise %25'tir (Heperkan, 2005).

Yapılan çalışmalarda ağaçtan alınan incir örneklerinde aflatoksin miktarları %32 (3.7-60.0 AFB₁ ve 3.2-37.7 AFG₁), yere düşen incirlerde %21 (1.8-63.0 AFB₁ ve 15.2-78.9 AFG₁), kurutmadan alınan örneklerde %17 (0.5-3.7 AFB₁ ve 0.5-4.0 AFG₁), depodan alınanlarda %33, işleme aşamasından alınan incirlerde %25 ve incir ezmesinde %60'tır (Özay ve Alperden, 1991).

2.3.3 Kuru incirde aflatoksin oluşumuna neden olan küflerin özellikleri

Kuru incirde aflatoksin oluşturan başlıca küfler *A.flavus* ve *A.parasiticus*'tur. *A.parasiticus* ve *A.flavus*'un genellikle hasat öncesi bulaştığı ve depolanan ürünlerde toksin oluşturdıkları belirtilmektedir (De Vires ve diğ., 2002; Özay ve Alperden, 1991).

Yapılan çalışmalarda *A.flavus* ve *A.parasiticus* 2,7,41 ve 46°C sıcaklıklarda wort agarda 8 gün boyunca geliştirilmiş ve bu süre boyunca aflatoksin oluşumu

gözlendi. Başka bir çalışmada *A.parasiticus*'un 35°C'de maksimum gelişme gösterdiği, 25 °C'de ise en yüksek miktarda toksin ürettiği görülmüştür (Jay ve diğ., 2005).

2.3.3.1 *A. flavus*

A.flavus doğada havada ve toprakta yaygın bulunur. Aflatoksin B₁, B₂, siklapiazonik asit ve kojik asit mikotoksinlerini üretir (Horn ve diğ, 1996).

Buğday, mısır, pamuk tohumu, pirinç, arpa, buğday kepeği, un, fıstık, soya, süpürge darısı, kırmızıbiber, kurutulmuş hindistancevizi, akdarı, yeşil kahve çekirdeği, kırmızı pulbiber gibi düşük nem içeriğine sahip, depolanan ürünlerde yaygın olarak görülür. Ayrıca fındık, incir, tahıllar, sütte bulunur. Nem içeriğinin az olması bu ürünlerde *Penicillium* ve *Fusarium* gibi yarışmacı küflerin gelişimini engeller (Park ve diğ., 2000; Bhatnagar ve Garcia ,2001).

A.flavus, gelişme sıcaklıkları minimum 10-12°C, maximum 43-48°C,optimum 33°C'dir. 0.78 su aktivitesi (aw) değerinde 33°C'de, 0.84 su aktivitesi değerinde 25°C'de iyi gelişir. 2.1-11.2 arası pH'larda gelişir, pH 3.4-10 arası optimum gelişme gösterir. Isıya dayanıklılığı, yüksek aw ve nötral pH değerinde D₄₅ değeri 160 saat, D₅₀ 16 saat, D₅₂ 40-45 dak, D₆₀ 1 dak, değerleriyle belirtilir. *A.flavus* 13-37°C'de, 0.82 aw üzerinde, 16-31°C optimum sıcaklıkta ve 0.95-0.99 aw arası aflatoksin üretir (Pitt ve Hocking ,1997).

2.3.3.2 *A. parasiticus*

A.parasiticus mısır, yarfıstığı, soya, kasava, incir, pamuk tohumu, fındık, tahıllar, süt, süpürge darısı gibi gıdalarda ve toprakta bulunur. *A.flavus* gibi sıcak bölgelerde yaygın olarak görülür. Aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂ ve kojik asit mikotoksinlerini üretir (Horn ve diğ,1996; Bhatnagar ve Garcia, 2001).

A.parasiticus 12-42°C'de, optimum 32°C sıcaklıkta iyi gelişir. 25°C'de 0.82, 30°C'de 0.81 ve 37°C'de 0.80 minimum su aktivitesi değerine sahiptir. 12-40 °C ve , 0.86'nın altındaki a_w değerlerinde, 3-8 arası pH değerlerinde aflatoksin üretir (Pitt ve Hocking ,1997).

2.4 Kuru İncirde Bulunan Mikotoksinler

Yapılan çeşitli çalışmalarda kuru incirde bulunan başlıca mikotoksinlerin aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, okratoksin A, ve kojik asit olduğu görülmüştür (Steiner, 1993).

2.4.1 Aflatoksinler

2.4.1.1 Aflatoksinlerin kimyasal özellikleri

Aflatoksinler, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* küfleri tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir (Pitt ve Hocking, 1997).

Aflatoksinler difuranocoumarinler olarak adlandırılıp iki gruba ayrılır: difurocoumarocyclopentenone serisi (AFB₁, AFB₂, AFB_{2A}, AFM₁, AFM₂, AFM_{2A} ve aflatoxicol) ve difurocoumarolactone serisi (AFG₁, AFG₂, AFG_{2A}, AFGM₁, AFGM₂, AFGM_{2A} ve AFB₃). Aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂ ve M₁ doğal floresan verirler. Aflatoksin B₁ ve B₂ 365nm dalga boylu UV ışığında mavi floresan; G₁ ve G₂ yeşil floresan verir (Boundra ve diğ,1994; Pitt ve Hocking, 1997; Helferich ve Winter, 2000; Cole ve Milbra , 2003; Betina, 1993). Aflatoksinlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri tablo 2.6'da gösterilmiştir.

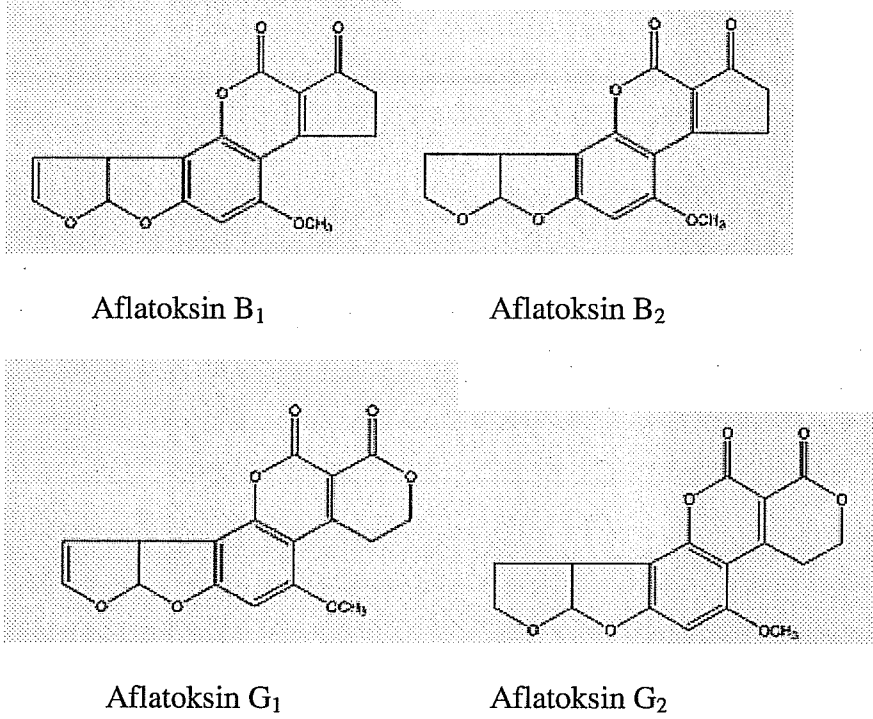
Tablo 2.6: Aflatoksinlerin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri (Cole ve Milbra, 2003).

Aflatoxin	Molekül Formülü	Molekül Ağırlığı	Erime Noktası (°C)
B ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312.06339	268-269
B ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.07904	286-289
G ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328.05830	244-246
G ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330.07395	237-240
M ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328.05830	299
M ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330.07395	293
B _{2A}	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330.07395	240
G _{2A}	C ₁₇ H ₁₄ O ₈	346.06887	190

Aflatoksinler suda çözünmediklerinden, kloroform, metanol, asetonitril, aseton, diklorometan gibi polar organik solventlerle ekstrakte edilirler (Stroka ve diğ., 2000; Blesa ve diğ., 2003, Betina, 1993)

Aflatoksinler 250°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda bozulurlar. Isı uygulaması ile üründe aflatoksinin inaktivasyonu ürünün nem içeriği ile de ilişkilidir. Örneğin %30 nem içeren pamuk tohumu yeminde 2 saat 100 °C'lik ısı uygulaması ile aflatoksinde %85'lik azalma meydana gelmektedir. Yem %6.6 nem içerdiğinde aynı koşullarda %50 oranında aflatoksin azaltılabilmektedir (Magan ve Olsen, 2004).

Amonyak (NH₄OH)-ısı işlemi ve yüksek basınç beraber kullanıldığında aflatoksinin inaktive olduğu belirtilmektedir. Bu reaksiyon sonucu lakton halkası açılmakta ve aflatoksin molekülü inaktive olmaktadır. Bunun yanında monometilamin, NaOH, NaOCl ve hidrojen peroksit de aflatoksinin yapısını bozan bileşiklerdir. Etanol fermentasyonu ise aflatoksinin azaltılmasına çok az etki göstermiştir (Helferich ve Winter, 2000; Park ve diğ., 2000).



Şekil 2.2: Aflatoksinlerin Kimyasal Yapıları (Tarin ve diğ., 2004).

Aflatoksinlerin kimyasal yapıları şekil 2.2’de gösterilmiştir.

2.4.1.2 Aflatoksin üreten küfler ve izole edildikleri gıdalar

Aflatoksinler mısır, fıstık, pamuk tohumu, kabuklu yemişler ve tahıllar (Shier ve diğ., 2005; Wilson ve Payne, 1994), baharatlar, incir ve kuru meyveler gibi pek çok üründe bulunurlar (Iamanaka ve diğ., 2005). Aflatoksin oluşumu, küfün ürüne tarlada bulaşması ve kolonizasyonu ile başlar ve hasat, kurutma, depolama ve işleme süresince devam etmektedir (Bedard ve Massey, 2006).

Aflatoksin içeren ürünler, badem, Brezilya fındığı, fındık, antepfıstığı, mahun cevizi (cashew fındığı), fındık, pekan cevizi, incir, kavun çekirdeği, kabak çekirdeği, nilüfer tohumu, badem ezmesi, susam, ayçekirdeği, kırmızı biber, beyaz biber, küçük hindistancevizi (nutmeg), kırmızıbiber, baharat karışımları, pirinç, mısır, mısır içeren ürünler, karışık tahıllar, yarfıstığı, yarfıstığı içeren ürünler, işlenmemiş şeker, soya içeren yemler, fasulye, karabuğday, kırmızıbiber, toz kırmızıbiber, kakao içeren ürünler, pamuk, kurutulmuş hindistan cevizi, süpürgearası, akdarı, yumurta, süt, peynir, yoğurt ve etlerdir (De Vires ve diğ., 2002).

2.4.1.3 Aflatoksinlerin biyolojik etkileri

1960'lı yıllarda hindilerde ve diğer kanatlılarda karaciğer hastalığıyla ortaya çıkan Turkey X sendromu, aflatoksinlerle ilişkilendirilmektedir. Güneydoğu Asya ve Afrika ülkelerinde pek çok kişide karaciğer hastalıkları ve mide bağırsak sistemi kanamaları görülmesi ilgiyi aflatoksinler üzerine çekmiştir. Aflatoksin B₁ (AFB₁), 1993'te Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi (International Agency for Research on Cancer=IARC) tarafından insanlarda karaciğer kanserine neden olan Grup 1 karsinojen olarak tanımlanmaktadır (Stroka ve diğ., 2000; Bedard ve Massey, 2006; Giray ve diğ., 2005).

Aflatoksin B₁'in toksik etkileri tür, cinsiyet, yaş ve genel beslenme gibi faktörlerle değişkenlik göstermektedir. Başlıca hedef organı karaciğerdir. Pekçok hayvan deneylerinde karaciğer lezyonları, karaciğer kanseri ve bağırsakta safra artışı gözlenmiştir. Yavru sıçanlarda LD₅₀ değeri 0.56 mg/kg, genç erkek sıçanlarda 5.5 mg/kg, genç dişilerde 7.4 mg/kg, olgun erkek sıçanlarda 7.2 mg/kg, olgun dişi sıçanlarda 17.9 mg/kg'dır. Maymunlarda LD₅₀ değeri 7.8 mg/kg vücut ağırlığıdır. AFB₁ aynı zamanda genotoksik özelliktedir. Bu toksin solunumla alındığında akciğerlere toksik etki gösterebilmektedir (Park ve diğ., 200).

AFB₁'in toksititesi yüksek derecede reaktif olan AFB₁ 8,9-epoxide (AFBO)'e bioaktivasyonu ile ilgilidir. Aflatoksin B₁ hücrede terminal furan halkasının epoksidasyonu ile AFB₁ 8,9-epoksit'e (AFBO) dönüşür. Oluşan bu bileşiğin DNA, RNA ve proteinler gibi çeşitli hücre bileşenlerine bağlanarak karaciğer kanserine neden olduğu belirtilmektedir (McKean ve diğ., 2006).

Aflatoksin B₂'nin toksik özellikleri aflatoksin B₁ ile aynı olmasına rağmen, toksik potansiyeli daha düşüktür. Hayvan deneylerinde 50µg aflatoksin B₂'nin yaptığı etkiyi, 3.9 µg aflatoksin B₁'in meydana getirdiği saptanmıştır. Aflatoksin G₁, toksik açıdan aflatoksin B₁ ile benzer özellikler taşımasının yanında akut toksititesi B₁'den az, B₂'den fazladır. LD₅₀ değeri ördeklerde 0.785 mg/kg vücut ağırlığıdır. Aflatoksin G₂ diğer aflatoksinler arasında en az toksik özellikte olan mikotoksindir. Ördeklerde LD₅₀ değeri, 2.96mg/kg vücut ağırlığıdır (Cole ve Milbra, 2003).

2.4.1.4 Aflatoksin analizleri

Aflatoksin analizleri, örnekleme, örnek hazırlanması ve örneğin analizlenmesi aşamalarından oluşmaktadır. Belirlenen örnekleme metoduna göre bir partiden belli

miktarda numune alınır. Alınan numunenin o partideki mikotoksin miktarını temsil etmesi gerekmektedir. Alınan numune laboratuarda alt örneklere ayrılarak ,öğütme ve karıştırma işlemlerinden geçirilerek analiz edilmektedir (De Vries ve diğ., 2002).

Aflatoksin analizi, ekstraksiyon, ayırma/saflaştırma ve miktar belirleme basamaklarını içermektedir. Aflatoksinler, TLC ve HPLC gibi kromatografik yöntemler ile ELISA gibi immünolojik testlerle analizlenebilmektedir.

İnce tabaka kromatografide sabit faz, silika jel, alumina (Al_2O_3) ve selüloz gibi partiküllü yapıda plakalardan oluşur. İnce tabaka kromatografi plakasının bir ucuna aflatoksin içeren örnek damlatılır. Plaka, örnek içeren kısım aşağıya gelecek şekilde cam bir tankta bulunan yürütücü solventin içine daldırılır. İnce tabaka kromatografide plakalar solventten daha polar olduklarından yüksek polariteye sahip bileşikler plakada oldukça yavaş ilerler ve burada tutunurlar (Betina, 1993). Yapılan çeşitli doğrulama çalışmalarında ince tabaka kromatografi uygulanmasından önce immünoafinite kolon kullanımının aflatoksin belirleme limitinin 10-50 ng/g olduğu belirlenmiştir (Gilbert ve Anklam, 2002).

Yüksek performans sıvı kromatografi (HPLC), kimyasal yapıları benzer olan bileşikleri birbirinden ayırmak ve miktarlarını belirlemek için kullanılan, hassasiyeti ve kesinliği yüksek, hata oranı düşük, hızlı bir metottur. Ters faz, iyon çifti, normal faz gibi başlıca üç tip HPLC metodu mevcuttur (Kuronen, 1993).

HPLC başlıca iki faz içerir. Bunlar sabit faz ve mobil fazdır. Normal faz HPLC’de katı faz, mobil fazdan daha polardır. Katı faz olarak kullanılan inorganik maddeler silika ve alumina, ya da siyano, amino, diol, nitro bağlı katı faz çeşitleridir. Mobil faz olarak kullanılan organik solventler hekzan gibi zayıf solventler, diklorometan, metil t-bütül eter, etil asetat, ve asetonitril gibi kuvvetli organik solventlerdir. Polar katı faz polar bileşikler bağlayarak maddeler arasında ayırım yapar (Kuronen, 1993).

Ters faz HPLC de mobil faz, katı fazdan daha polardır. Katı faz hidrokarbon yapıda olup, mobil faz organik polar solventlerden oluşur. Mobil fazda çözülmüş bileşikler katı faz ile hidrofobik olarak etkileşirler. Polaritesi yüksek bileşikler kolondan önce çıkarken, polar olmayanlar kolonda daha uzun süre tutulur. Kolon maddesi C18, C8 , fenil ya da siyanopropil bağlı silikadan oluşur. Ters faz HPLC de kullanılan mobil fazlar, metanol, asetonitril, tetrahidrofuran ve bunların suyla kombinasyonlarıdır.

Organik çözücüler kuvvetli, su zayıf bir çözücüdür. Ters faz HPLC de çözücü polaritesi düşükse, çözücünün gücü artar, bileşikler arası seçicilik değişir (Kuronen, 1993).

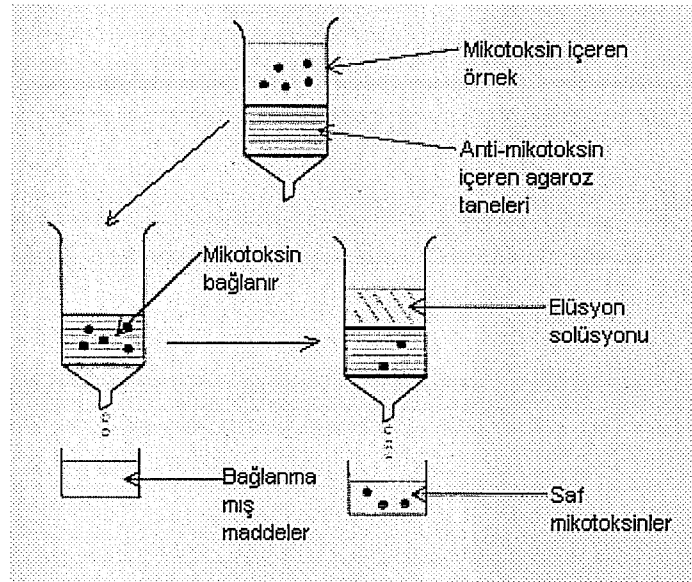
Mikotoksinlere uygulanan immünolojik teknikler, IAK , ELISA (membran, mikrotitre plak ve tüp) teknikleridir (Patel, 2004).

Aflatoksin analizinde kullanılan immünolojik teknikler tablo 2.7’de verilmiştir.

Tablo 2.7: Aflatoksin Analizinde Kullanılan İmmünolojik Teknikler (Patel, 2004)

İmmünoafinite kolon	ELISA		
	Membran	Mikrotitre plak	Tüp
Toplam AF	Toplam AF	Toplam AF	–
Aflatoksin B ₁	–	Aflatoksin B ₁	Aflatoksin B ₁
Aflatoksin B ₁ , B ₂	–	–	–
–	Aflatoksin G ₁ , G ₂	–	–
Aflatoksin M ₁	Aflatoksin M ₁	Aflatoksin M ₁	–
–	Aflatoksin M ₁ ,M ₂	–	–

İmmünoafinite kolon, agaroz içersinde kovalent bağlı anti-mikotoksin antikorlar içerir. İmmünoafinite kolon saflaştırma tekniğinde örnekte bulunan aflatoksinler uygun organik çözücülerde çözüldükten sonra elde edilen ekstrakt HPLC cihazına verilmeden önce belli miktarda aflatoksin tutma kapasitesine sahip antikorlar içeren immüno afinite kolondan (IAK) geçirilir. IAK daha sonra saf suyla yıkanarak bağlanmayan partiküller uzaklaştırılır. IAK da tutulan aflatoksinler metanol gibi çözücüler kullanılarak elüsyon işlemi ile geçirilir ve aflatoksinler saf halde elde edilir. Elde edilen akstrakt çözgenle çözülerek HPLC (Yüksek basınç sıvı kromatografisi), TLC (İnce tabaka kromatografisi) ve MS (Kütle spektroskopisi) yöntemleri ile analiz edilir (Stroka ve diğ., 2000; Candlish ve Stimson,1993).



Şekil 2.3: İmmünoafinite Kolonun Mikotoksin Saflaştırma Prensibi (Patel, 2004)

İmmüno afinite kolonun mikotoksin saflaştırma prensibi şekil 2.3'te gösterilmiştir (Patel, 2004)

Zayıf floresan veren aflatoksin B₁ ve G₁'in floresan yayınımlarının güçlendirilmesi amacıyla HPLC analizinde türevlendirme işlemi yapılmaktadır. Kimyasal yolla türevlendirme kolon öncesi triflorasetikasitle yapılmaktadır. Fakat bu yöntemde aflatoksin B₁ ve G₁ kolondan erken çıkmakta ve solvent pikleri ile örtülmektedir (Anonim, 2006c). Kolon sonrası iyotla türevlendirme yüksek sıcaklıklarda uzun reaksiyon süresi gerektirmekte ve kalibrasyonun hergün yapılması gerekmektedir. Bir diğer kolon sonrası türevlendirme yöntemi ise Kobra cell (CoBrA cell) cihazı kullanılarak mobil faza katılan Potasyum bromürdeki bromür iyonu elektrik akımı ile bromo dönüştürülerek aflatoksinlerin türevlendirilmesi tekniğidir (Anonim, 2006).

Yapılan çeşitli doğrulama çalışmalarında HPLC metodunun belirleme limitlerinin aflatoksin B₁ için 2 ng/g, toplam aflatoksin için 4 ng/g, aflatoksin M₁ için 0.05 ng/g olduğu belirtilmiştir (Gilbert ve Anklam, 2002).

ELISA yöntemi, mikrotitre plak, tüp ya da membran ELISA gibi çeşitli formatlara sahiptir. ELISA yöntemi genellikle, aflatoksinlerin belli bir seviyenin üzerinde olup olmadığını belirlemede kullanılır. Kalitatif, kantitatif ve yarı-kantitatif ölçümler yapılabilir (Patel, 2004).

Direkt yarışmalı ELISA'da numunede bulunan aflatoksinlerle enzim-konjuge bağı aflatoksinler karıştırılır ve antikor içeren kuyulara ilave edilir. Numunedeki aflatoksinlerle standart içindeki aflatoksinler, enzim-konjuge aflatoksinlerle antikorlara bağlanmak için yarışır. Substrat eklenmesiyle oluşan renk 450-630 nm filtreli okuyucuda ölçülür, ve örneğin optik densitesi standartları ile karşılaştırılır (Patel, 2004; Anonim, 2002c).

Fıstık ezmesinde toplam aflatoksin miktarı microtitre plak ELISA analizi ile 9 ppb düzeyinde kantitatif olarak ölçülebilmektedir (Patey ve diğ., 1992).

Toplam aflatoksinler (Afla-cup) Immunoblot membran ELISA ile pamuktohumu ve fıstık ezmesinde > 20 ppb; mısır ve fıstıkta > 30 ppb miktarlarda (Trucksess ve diğ., 1989) ; mısırdaki > 20 ppb, miktarlarda kalitatif ölçüm yapılabilmektedir (Trucksess ve diğ., 1994).

1990 yılında Trucksess ve diğ. tarafından immünoafinite kolon kullanılarak mısır, yerfıstığı ve yerfıstığı ezmesinde toplam aflatoksin belirlenmesi ile ilgili metod ilk aksiyon metodu olarak kabul edilmiştir. Bu metod ile mısır, fıstık ve fıstık ezmesi için toplam aflatoksin belirleme limiti 10 ng/g'dır. Bu metodun aflatoksin belirleme limitinin yüksek oluşu ve Avrupa Birliği yasal gereksinimlerini yerine getirememesi ve ürün çeşidinin artması nedeniyle, Avrupa Komisyonu Standartlar, Ölçüm ve Test Programı (European Commission Standards, Measurement and Testing Programme, SMT) fıstık ezmesi, antepfıstığı ezmesi, incir ezmesi ve kırmızıbiberde metod validasyonu ile ilgili bir proje başlatmıştır. Kolon sonrası türevlendirme ile immünoafinite kolon likit kromatografisi aflatoksin seviyesinin belirlenmesi ile ilgili 999.07 metodu Avrupa Standardizasyon Komitesi (CEN) standardı olarak kabul edilmiştir (Stroka ve diğ., 2000).

Kuru incir numuneleri 999.07 Kolon Sonrası Türevlendirme ile Immünoafinite kolon Sıvı Kromatografi Yöntemiyle Fıstık Ezmesi, Antepfıstığı ezmesi, İncir Ezmesi ve Acı Pulbiber Tozunda Aflatoksin Belirlenmesi metodunun belirleme limiti aflatoksin B₁ için >1ng/g ve toplam aflatoksin için >2.4 ng/g olarak belirtilmektedir (Stroka ve diğ., 2000).

2.4.1.5 Aflatoksinlerle ilgili yasal düzenlemeler

Avrupa Komisyonu aflatoksinle ilgili 194/97 regülasyonuna göre kuru incirde toplam aflatoksin limiti 4 µg/kg, aflatoxin B₁ limiti ise 2 µg/kg; ayıklama ya da

fiziksel işleme tabi tutulacak kabuklu yemişler ve kuru incir için limitler aflatoksin B₁ için 5 µg/kg, ve toplam aflatoksin için limit değeri ise 10 µg/kg'dır (Comission Directive 194/97).

Avrupa Birliği 16 Haziran 1998 Direktifi (Comission Directive 98/53/EEC) kabuklu kuru yemişler, kuru meyveler, tahıllar ve baharatlarda aflatoksin belirlenmesi için örnekleme planını içermektedir. Bu direktife göre bu gıdalardan alınan 30 kg'lık örnekler 10 kg'lık 3 alt örneğe bölündükten sonra, 10 kg'lık her bir alt örnek öğütülüp, karıştırılarak homojenizasyonu sağlanmaktadır (Gilbert ve diğ., 2003).

Kuru incir örnekleme planına göre ≥15 ton ağırlıktaki partiden 30 kg'lık yani 3 adet 10 kg'lık örnekler alınarak, 300 g'lık 100 alt örneğe bölünmektedir. Bu örnekler daha sonra aflatoksin analizi için kullanılmaktadır (Gilbert ve diğ., 2005).

ABD'de FDA gıdalar ve yemlerle ilgili olarak aflatoksin miktarlarını, Brezilya fıındığı, yerfıstığı, yerfıstığı ürünleri ve antepfıstığında AFB₁ limitini 20 ppb (µg/kg) olarak belirlemiştir. Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M₁ limiti ise 0.5 ppb (µg/kg)'dır (Jay ve diğ., 2005). FDA tarafından belirlenen toplam aflatoksin limitleri tablo 2.8'te gösterilmiştir.

Tablo 2.8: FDA Tarafından Belirlenen Toplam Aflatoksin Limitleri (Wood ve diğ., 2003)

Ürünler	İzin verilen maksimum toplam AF miktarı(ppb)
Süt dışında, insanların tüketimine sunulan bütün gıdalar	20
Yavru ve süt veren hayvanlar	20
Sığır,domuz ve kanatlı yemleri	100
Erişkin domuz ve sığır yemleri	300
Süt	0.50

Türk Gıda Kodeksi 2002/63 no'lu tebliğine göre fındık, yer fıstığı ve diğer yağlı kuru meyveler, yağlı tohumlar, incir üzüm ve kurutulmuş meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalarda maksimum mikotoksin seviyeleri aflatoksin B₁ için 5

ppb, toplam aflatoksin(B_1 , B_2 , G_1 , G_2) için 10 ppb şeklinde belirlenmiştir (Anonim, 2002b). Türk Gıda Kodeksi 2002/63 no'lu tebliğine göre gıdalarda bulunması gereken maksimum aflatoksin seviyeleri tablo 2.9'da gösterilmiştir.

Tablo 2.9: Türk Gıda Kodeksi 2002/63 No'lu Tebliğine Göre Gıdalarda Bulunması Gereken Maksimum Aflatoksin Seviyeleri (Anonim, 2002b).

Gıda Maddesi	Maksimum aflatoksin(ppb) seviyesi		
	B_1	$B_1+B_2+G_1+G_2$	M_1
Fındık, yer fıstığı ve diğer yağlı kuru meyveler, yağlı tohumlar, incir üzüm ve kurutulmuş meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar	5	10	
Tahıllar (karabuğday dahil) ve tahıl ürünleri	2	4	
Süt			0.05
Süt tozu			0.50
Peynir			0.25
Bebek mamaları ve devam formülleri (süt bazlı)			0.05
Bebek mamaları ve bebek gıdaları	1	2	
Baharat	5	10	
Diğer gıda maddeleri	5	10	

2.4.2 Kuru incirlerde küf gelişimi ve aflatoksin oluşumuyla ilgili yapılan çalışmalar

1972 yılında Danimarka'ya ihraç edilen kuru incirlerde 938 ppb aflatoksin bulunduğu belirlenmiştir. 1973-1974 yıllarında ABD'ye ihraç edilen 38 parti kuru incirden üçünde aflatoksin bulunduğu nedeniyle Türkiye'ye iade edilmiştir. Yapılan analizler sonucu ABD'ye ihraç edilen 106 incir partisinden sadece 1 tanesinde 10 ppb düzeyinde aflatoksin bulunduğu saptanmıştır (Var ve diğ., 2001).

İsveç'te kuru incirde yapılan analizler neticesinde İsveç Ulusal Gıda Heyeti (Swedish National Food Administration) tarafından 14 Kasım 1988'de ülkede kuru incir satışı yasaklanmıştır.

Danimarka'da tüketilen kuru incir ve ezmesinden alınan 31 örneğin sekizinde 10 g/kg aflatoksin tespit edilmiş ve 26 Kasım 1988'te ülkede Türk kuru incir tüketimi yasaklanmıştır (Var ve diğ., 2001).

Boyacıoğlu ve diğ.(1989), 1985-1986 yılları arası İsviçre'ye ihraç edilen Türk kuru incirlerin aflatoksin içerdiğini belirtmiştir. Bunun üzerine kuru incirler, kurutma, depolama ve ambalajlama aşamalarında toplanarak analiz edilmiştir. 1986 mahsulü kuru incirler; kurutma aşamasında 206 örnek, depolama 64 örnek ve işleme aşamasında 14 örnek Ege Bölgesinden toplanmıştır. Örnekler ince tabaka kromatografi yöntemiyle incelenmiştir. Kurutma aşamasında toplanan örneklerin 8inde ortalama 112.3 ng/g aflatoksin B₁, 50.6 ng/g B₂, 61.4 ng/g G₁ tespit edilmiştir. İşleme ve depolama aşamasında toplanan örneklerde aflatoksine rastlanmamıştır.

Özay (1989), çeşitli incir bahçelerinden ve işletmelerinden aldığı 1988 yılı ürünü 103 incir numunesinin nem içerikleri, su aktivitesi(a_w) değerlerini ve aflatoksin içeriklerini incelemiş ve incir örneklerinin %29'unda 0.5-63 ppb aflatoksin B₁, 0.5-37-7 ppb aflatoksin B₂, 0.5-78.3 ppb aflatoksin G₁, 0.5-12.5 ppb aflatoksin G₂ saptamıştır .

Sharman ve diğ.(1991), İngiltere'de yaptıkları çalışmalarda 1988 Kasım-1989 Ocak tarihleri arasında Türkiye'den ithal edilen kuru incir ve kuru incir ezmesinden aldıkları örneklerin %24'ünün 165 µg/kg toplam aflatoksin içerdiğini saptamıştır. Kuru incir numuneleri 20 kg lık numuneler (20 alt örnek içeren) halinde , incir ezmesi ise 5 kg'lık (20 alt örnek) numuneler halinde test edilmiştir. Örneklerdeki aflatoksin miktarı IAK floresan dedektör-HPLC cihazı ile analiz edilmiştir. Çalışma sonunda 112 parti incir ezmesinin %11'i ve 93 parti kuru incirin %9'unun 40 µg/kg toplam aflatoksin içerdiği saptanmıştır. Bu gözetim programı sonucunda 14 parti incir Türkiye'ye iade edilmiştir .

Steiner ve diğ.(1993), 160 kg kuru incir içeren partiden aldığı 386 kuru incir örneğini incelemiş ve 0.2-30 ng/g arasında değişen konsantrasyonlarda 94 numunede aflatoksin B₁, 49 numunede aflatoksin G₁ saptamışlardır .

2001 yılında yurtiçinde tüketime sunulan kuru incirlerin küf ve aflatoksin içeriklerini saptamaya yönelik yapılan bir çalışmada; Adana, Eskişehir, Gaziantep ve Malatya illerindeki çeşitli marketlerden ve pazarlardan, 16 adet ambalajlı ve 24 adet ambalajsız 40 örnek çeşitli tarihlerde 200 ve 250'g'lık paketler halinde toplanmıştır. Örnekler ince tabaka yöntemiyle analizlenmiş ve ambalajsız örneklerden biri UV ışığı altında yapılan aflatoksin taramasında pozitif sonuç

vermiş ve doğrulama testi sonucu da aflatoksin B₁ olduğu kesinleşmiştir (Var ve diğ., 2001).

2001 yılında yapılan bir diğer çalışmada Erzurum piyasasından toplanan 17 kuru incir numunesi ince tabaka yöntemiyle analizlenmiş ve 5'inde aflatoksin tesbit edilmiştir. Bu çalışmada analizlenen kuru incirlerde toplam aflatoksin miktarlarının 4.1-33.9 µg/kg arasında değiştiği belirtilmektedir (Erdoğan ve diğ., 2003).

Şenyuva ve diğ.(2005) çeşitli ihracatçılardan topladıkları, Türkiye'den Avrupa Birliği ülkelerine ihraç edilen 2003-2004 üretimi kuru incirlerde okratoksin A ve aflatoksin varlığını incelemişlerdir. Daha önce UV ile ayrıştırma işlemi yapılmış kuru incir numunelerini içeren her bir konteynırdan önce 3 adet 10 kg'lık örnek (toplam 30 kg) alınmıştır. Herbir 10kg'lık örnek kendi içinde homojenize edilmiştir. Herbir 10 kg'lık incir ezmesi örneği, 3 eşit parçaya ayrılarak (yaklaşık 3.33 kg) bunların her biri aflatoksin analizi için kullanılmıştır. Bunun yanında 2004 yılında yerel marketlerden rastgele alınan 1 kg'lık kuru incir numuneleri de incelenmiştir. Aflatoksin analizi IAK HPLC/floresan dedektörü ve kolon sonrası türevlendirme cihazı (kobra cell) ile yapılmıştır. Geri kazanım için 20 örnek içeren her yığından alınan 1 örneğe 10ng/g aflatoksin aşılanmıştır. 20 örnekten biri şahit numune, bir örnek ise kontrol numunesi olarak kullanılmıştır. Metodun kabul edilebilir olması için şahit numunenin 0.1ng/g'den az ve aşılanmış örneklerin %85'ten fazla aflatoksin geri kazanımı göstermesi gerektiği belirtilmiştir (Şenyuva ve diğ., 2005).

Bu çalışma sonunda 2003 yılında üretilen kuru incirlerde 58 örnekten 9'unda 35.1 ng/g aflatoksin B₁ saptanmıştır. 2004 yılında üretilen kuru incirlerde ise 41 örnekten 18 örnekte 20.6ng/g aflatoksin B₁ saptanmıştır. Piyasadan aldıkları 20 kuru incir numunesinde aflatoksine rastlanmamıştır (Şenyuva ve diğ., 2005).

Iamanaka ve diğ. (2005) Brezilya'da yaptıkları bir çalışmada Arjantin, Şili, İran ve Türkiye kökenli siyah kuru üzüm, beyaz kuru üzüm ve kuru incir numunelerini çeşitli marketlerden toplayarak nem içerikleri, küf florası ve aflatoksin içeriklerini incelemişlerdir. Toplanan numunelerdeki aflatoksin miktarları AOAC metodu, IAK yüksek basınç sıvı kromatografi cihazı ile analizlenmiştir. Herbir örnekten yaklaşık 500 g numune analiz için kullanılmıştır. Örneklerde *A.flavus* ve *A.parasiticus* küfleri izole edilmiştir. Kuru incirlerde *A.flavus* gelişimiyle beraber aflatoksin oluşumu gözlenmiştir. Kuru incir numunelerinin sekizinde 0.3 µg/kg'dan az,

10'unda 0.3 ile 2.0 µg/kg arası değerlerde aflatoksin B₁ ve B₂'ye rastlanmıştır. Kuru incir numunelerinin birinde 1500 µg/kg aflatoksin B₁ saptanmıştır.

2.4.3 Kuru incirde mikotoksin oluşumunun önlenmesi

Çoksöyler ve diğ.(1991), kuru incirde 0, 3, 5 ve 10kGy'lik ışınlama ile *A.flavus* gelişiminin önlenebileceğini göstermiştir.

İçbal ve Altuğ (1992), SO₂ gazı, ısı, UV ışığı (365nm) ve hidrojen peroksit uygulamasının incirde bulunan aflatoksinler üzerine etkilerini araştırmışlardır. 100 ppb toplam aflatoksin (B₁,B₂,G₁,G₂) ilave edilmiş kuru incir örnekleri, 2000 ppm SO₂ gazı uygulanmış incirlerin 65°C'de, %0.2 hidrojen peroksit çözeltisi ile muamele edilmesi ile kuru incir örneklerindeki toplam aflatoksin oranında %95 azalma meydana gelmiştir.

Üründe aflatoksin oluşumunun önlenmesi öncelikle küf gelişiminin önlenmesini gerektirmektedir. Hasat sonrası ürünün yeterli derecede kurutulması da küf gelişiminin önlenmesinde etkilidir (De Vries, 1997).

Özay ve Alperden(1991), incirlerin sodyum metabisülfite, potasyum metabisülfite, potasyum sorbat, 100°C'de sıcak su uygulaması ve solar kurutma işlemi ile küf ve aflatoksin miktarının azaltılabileceğini belirtmişlerdir .

Proses sırasında uygulanan fiziksel işlemlerin aflatoksin oluşumunun önlenmesindeki etkileri çeşitlidir.Yıkama ve ayırma işlemleri ile aflatoksin içeren ürünlerle içermeyenler ayrılabilir. Mısırdaki uygulanan ıslak öğütme ile az miktarda aflatoksin uzaklaştırılabilmiştir. Kuru öğütme ile buğday unundaki aflatoksin miktarı azalmıştır. Sulu solüsyonlarda kaynatma, otoklavlama ve farklı metodlar kullanarak işleme ile gıda ürünlerinde ısı uygulamasının aflatoksinler üzerindeki etkileri incelenmiş ve aflatoksinler tamamen yok edilememiştir. Pek çok çalışma sonucunda kavrulmuş fındık, mikrodalga işlemi ile kavrulmuş fındık, mısır ve kahve gibi ürünlerde kavurma işleminin aflatoksin miktarının azaltılmasında etkili olduğu gösterilmiştir. Işınlamanın aflatoksinler üzerinde etkisinin bulunmadığı belirtilmektedir (De Vries ve diğ, 2002).

Aflatoksinlerin azaltılmasında kullanılan aktive olmuş karbon ve kilin sulu çözeltide bulunan aflatoksinleri bağladığı, aminosilikatların ise yağlarda ve hayvan yemlerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Fermentasyonun aflatoksinler üzerine etkisi

incelenmiş ve birada aflatoksin B₁ miktarında %70-80 oranında azalma görülmüştür. *Rhizopus oryzae* ve *R.oligosporus* fermentasyonla siklopentan halkasını değişikliğe uğratarak aflatoksin B₁ den 18 kat daha az toksik olan aflatoksikol A ya dönüştürürler. Bu reaksiyonun geri dönüşümlü olduğu belirtilmektedir (Janssen ve diğ., 1997)

Laktik asit fermentasyonunda, pH 4.0'te, aflatoksin B₁ daha az toksik olan aflatoxin B_{2A}'ya dönüşür. Bu değişiklikler aflatoksin molekülünün toksitesini azaltmakta, fakat molekülün tamamen inaktive edilmesi ancak lakton halkasının koparılması ile mümkün olmaktadır. Bu reaksiyon aflatoksin molekülünün 366 nm'de floresan kaybına neden olmaktadır. Oluşan floresan kaybı mutajenitenin azalması ile ilişkilendirilmektedir (Janssen ve diğ.,1997)

Amonyak uygulamasının mısır, fıstık, pamuk tohumu ve yemlerde iyi sonuç verdiği belirtilmiştir. %0.5-2.0 oranında amonyak ile birlikte 45-55 psi basınç, %12-16 nemde 80-100°C sıcaklık uygulamasının oldukça etkili olduğu gösterilmiştir. Amonyak işlemi ile aflatoksinin toksitesi azalmaktadır. Yüksek sıcaklıkta ekstraksiyon, izolasyon ve saflaştırma işlemleri ile aflatoksin molekülü toksik olmayan daha küçük bileşiklere dönüşmektedir (De Vries ve diğ, 2002).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 İncir örnekleri

Çalışmada kullanılan incir örnekleri 2003-2004 yıllarında Ege Bölgesinde, 7 farklı Bölgeden kurutma aşamasındaki incirlerden temin edilmiştir. Örneklerin temin edildiği Bölgeler; Germencik, Erbeyli, İncirliova, Söke, Selçuk, Ortaklar, Torbalı' dır. Toplam 44 adet kuru incir örneği, örnekleme planına uygun olarak alındıktan sonra 4°C'de kontrollü koşullarda laboratuara ulaştırılmıştır. Kuru incir örneklerinin toplandığı Bölgeler tablo 3.10' da gösterilmiştir.

Tablo 3.10: Kuru İncir Örneklerinin Toplandığı Bölgeler

Sıra No.	Örnek No.	Bölge	Sıra No.	Örnek No.	Bölge
1	1-03*	Germencik	23	29-03	İncirliova
2	3-03	“	24	54-03	“
3	4-03	“	25	68-03	“
4	6-03	“	26	40-04	“
5	12-03	“	27	41-04	“
6	26-03	“	28	36-03	Ortaklar
7	56-03	“	29	52-03	“
8	62-03	“	30	33-04	“
9	65-03	“	31	42-04	“
10	2-04*	“	32	43-04	“
11	3-04	“	33	44-04	“
12	9-04	“	34	21-03	Söke
13	11-04	“	35	61-03	“
14	30-04	“	36	19-04	“
15	8-03	Erbeyli	37	22-03	Selçuk
16	11-03	“	38	35-03	“
17	19-03	“	39	69-03	“
18	64-03	“	40	12-04	“
19	9-03	İncirliova	41	42-03	Torbalı
20	10-03	“	42	70-03	“
21	14-03	“	43	71-03	“
22	20-03	“	44	4-04	“

*-03: 2003 yılı örnekleri

-04: 2004 yılı örnekleri

3.1.2 Ekipman

ELISA analizi için gerekli Romer Lab. AgraQuant®1-20 ELISA test kiti Pera Medikal Ltd.Şti. adlı firmadan sağlanmıştır.

ELISA kitlerini yıkamada kullanılan Biotek® ELx 50 Auto Strip Washer yıkayıcı ile kitlerin analizlendiği Biotek® ELx 800 Universal Microplate Reader ELISA okuyucu hazırlanmıştır.

Çalışmada kullanılan stomaher cihazı, blender, terazi (3000g kapasiteli), su banyosu, azot gazı düzeneği, vorteks, hava kabarcığı giderici cihaz hazırlanmıştır.

Maksimum 100ng aflatoksin B₁ kapasitede ve en az %80 aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve en az %60 aflatoksin G₂ geri kazanımı sağlayan Vicam Aflatest®P immünoafinite kolon, Deryalar Analitik Cihazları Ltd.Şti. adlı firmadan sağlanmıştır.

Agilent 1100 serisi manuel enjektör, Kuarternier pompa, Microvakum gaz giderici, ve floresan dedektör ile Agilent 1100 serisi HPLC cihazı, ve Kobra cell cihazı Agilent firmasından sağlanmıştır. HPLC kolonu, Supelco 250×4.6mm, 5µm partikül çaplı, ODS Hypersil ters faz C18 kolon aynı firmadan tedarik edilmiştir.

Çalışmada kullanılacak Aflatoksin standartları (supelco) Deryalar Analitik Cihazları Ltd.Şti. adlı firmadan tedarik edilmiştir.

3.1.3 Kullanılan çözeltiler

3.1.3.1 Aflatoksin standart çözeltisi

0.3 µg/ml G₂, 1 µg/ml G₁, 0.3 µg/ml B₂, 1 µg/ml B₁ aflatoksin içeren, metanol içinde çözünmüş, 1ml aflatoksin standardı, 10ml'lik balonjojede metanolle çizgisine kadar tamamlanarak, 100 ng/ml B₁ ve 100 ng/ml G₁ ile 30 ng/ml B₂ ve 30ng/ml G₂ içeren aflatoksin standart çözeltisi hazırlanmıştır.

3.1.3.2 HPLC kalibrasyon çözeltisi

Aflatoksin standart çözeltisinden sırasıyla 20, 100, 180, 360µl miktarlarda alınarak 4 adet kalibrasyon çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan HPLC kalibrasyon çözeltileri ve içerdikleri aflatoksin miktarı tablo 3.11'de gösterilmiştir.

Tablo 3.11: HPLC Kalibrasyon Çözeltileri ve İçerdikleri Aflatoksin Miktarı

Aflatoksin miktarı (ppb)				Kalibrasyon Std.çöz.	Metanol	Saf su
B ₁	B ₂	G ₁	G ₂			
0.40	0.12	0.40	0.12	20µl	1980µl	3ml
2.0	0.60	2.0	0.60	100µl	1900µl	3ml
3.60	1.80	3.60	1.08	180µl	1820µl	3ml
7.20	2.16	7.20	2.16	360µl	1640µl	3ml

3.1.3.3 Mobil faz

Mobil faz, su/asetonitril/metanol (6+2+3, v/v/v), 110µl %65'lik nitrik asit, 132 mg potasyum bromür (KBr) ile hazırlanmış, filtre edilmiş ve gaz gidericide 10 dakika bekletilerek gazı giderilmiştir.

3.2 Metot

Kuru incir numunelerinde ELISA analizi AgraQuant® 1-20 Toplam Aflatoksin testi prosedürüne göre yapılmıştır (Anonim, 2002c)

Kuru incir numunelerinde HPLC analizi AOAC 999.07 Fıstık Ezmesi, Antepfıstığı ezmesi, İncir Ezmesi ve Acı Pulbiber Tozunda Aflatoksin Belirlenmesi resmi metoduna göre Kolon Sonrası Türevlendirme ile Immunoafinite kolon Sıvı Kromatografi yöntemiyle yapılmıştır (Journal of AOAC, 2000) (Stroka ve diğ., 2000).

3.2.1 Ekstraksiyon

İncir örnekleri et kıyma makinasında kıyılarak ezme haline getirilmiştir. Kıyılmış incirden 300g örnek tartılmış ve 4/5 oranında musluk suyu ilave edilerek stomacher cihazında homojenize edilmiştir. Homojenize edilmiş, bulamaç halindeki bu karışımdan 50g ($\pm 0,1$) alınarak paslanmaz çelik blendıra eklenmiştir. Üzerine 5 g NaCl ve 300 ml metanol-su (8:2;v/v) ilave edilmiştir. Blendır yüksek devirde 3

dakika çalıştırılmıştır. Elde edilen karışım Whatman No:4 (20-25µm) filtre kağıdından süzülerek, filtrat 500ml'lik erleninde toplanmıştır.

Immünoafinite (IA) kolon oda sıcaklığına getirilmiştir. Koşullandırma için kolona 10ml PBS (phospfat buffer saline, pH 7.4) ilave edilerek, dakikada 2-3ml hızda kolondan geçirilmiştir. Kolonda en az 0.5ml PBS kaldığında, üzerine 60ml PBS ve 10ml filtrat eklenerek karışması sağlanmış, kolon musluğu açılarak, dakikada 3ml hızda kolondan geçirilmiştir.

İstenmeyen diğer maddelerin uzaklaştırılması için, kolona 15ml saf su ilave edilmiştir. Kolona en son enjektörle 10 saniye hava verielerek kalan damlaların akması sağlanmış ve süzüntü atılmıştır. Böylece kolonda sadece aflatoksinlerin kalması sağlanmıştır.

Immünoafinite kolon 3ml'lik cam tüpe konmuş ve üzerine 0.5ml (500µl) metanol ilave edilip 1 dak bekletilmiştir. Bu süre sonunda kolona 0.75ml (750µl) metanol daha ilave edilmiş ve yerçekimi kuvvetiyle geçmesi sağlanmıştır. Immünoafinite kolonda kalan metanol de şırınga ile hava vererek kolondan tüpe alınıp, 35-40°C'deki su banyosunda, azot gazı altında metanol uçurulmuştur.

3.2.2 ELISA ile toplam aflatoksin analizi

Ekstraksiyon aşamasından sonra numuneler 1000µl %70'lik metanolde (30/70, su/metanol) çözünerek ELISA analizi için hazırlanmıştır. Mavi renkli dilüsyon kuyularına 200'er µl konjugat konmuştur. Kuyulardan ilk 6 sı aflatoksin standartları diğerleri numuneler için ayrılmıştır. İlk 6 kuyuya sırayla 0, 1, 2, 4, 10, ve 20ppb toplam aflatoksin içeren 100µl standart ilave edilmiştir. Diğer kuyulara sırayla her bir örnekten 100µl pipetlenmiştir. Kuyular hafifçe çalkalanmıştır. Bu karışımdan 100µl alınarak antikor içeren şeffaf kuyulara aktararak 15 dakika inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda antikor içeren kuyuların içeriği boşaltılarak saf suyla 5 kez yıkanmıştır. Kuyular kağıt havlu üzerine ters çevrilerek kurutulmuştur. Her bir kuyuya 100µl substrat ilave edilmiş ve 5 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra 100µl stop solüsyonu eklenmiş, kuyularda oluşan renk 450nm filtreye sahip ELISA okuyucuda analizlenmiştir. Numuneler iki paralel olacak şekilde analizlenmiştir.

3.2.3 HPLC ile aflatoksin analizi

Kolon sonrası türevlendirme için gerekli kobra cell cihazı HPLC cihazına monte edilmiştir.

Mobil fazın akış hızı 1.000 ± 0.005 ml/dak olacak şekilde ayarlanmıştır. Floresans dedektörün eksitasyon dalga boyu 360nm , emisyon dalga boyu 420nm olarak ayarlanmıştır.

Kobra cell cihazı mobil faz B için 1.00ml/dak akış hızında, 100 μ A akım olacak şekilde çalıştırılmıştır. 100 μ l standart aflatoksin karışımı HPLC'ye enjekte edilmiştir. Kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır.

Tutulma zamanları aflatoksin B₁ için yaklaşık 11 dakika, aflatoksin B₂ için 9, aflatoksin G₁ için 8, aflatoksin G₂ için 6 dakikadır.

Daha önce elde edilen ekstrakt 1250 ml metanol ilave edilerek vortekste karıştırılmıştır. 200 μ l ekstrakt HPLC cihazına enjekte edilip, standart pikleri ile numune pikleri karşılaştırılmış ve numunedeki aflatoksin miktarı hesaplanmıştır.

3.2.4 Geri kazanım

4 ng/g aflatoksin B₁, 1.2 ng/g aflatoksin B₂, 4 ng/g aflatoksin G₁ ve 1.2 ng/g aflatoksin G₂ toksin içermeyen incir numunesine katılarak geri kazanım ölçülmüştür.

3.2.5 Belirleme limitlerinin ölçümü

HPLC analizinde aflatoksinlerin belirlenebilecek en düşük değerlerini ölçmek amacıyla aflatoksin standart çözeltisinden (100 ng/g aflatoksin B₁ içeren) Tablo 3.12'de verilen miktarlarda alınıp seyreltilmiştir.

Tablo 3.12: HPLC Yöntemi Belirleme Limiti Ölçümü İçin Hazırlanan Standart Çözeltilerin Konsantrasyonları ve İçerdikleri Aflatoksin Miktarı

Aflatoksin miktarı (ppb)				Aflatoksin standart çözeltisinden alınan miktar(μ l)	Çözeltinin son hacmi (ml)
B ₁	B ₂	G ₁	G ₂		
0.30	0.09	0.30	0.09	30	1.0
0.10	0.03	0.10	0.03	50	5.0
0.20	0.06	0.20	0.06	20	1.0
0.05	0.015	0.05	0.015	25	5.0

3.2.6 Dikkat edilecek noktalar

Aflatoksinler sağlık üzerine olan olumsuz etkilerinden dolayı aflatoksin analizleri sırasında maske, gözlük, eldiven, bone kullanılması gerekmektedir.

Aflatoksinler, gün ışığında kolaylıkla bozunabildiklerinden aflatoksin analizi sırasında kullanılan cam ekipmanlar ve düzenekler ile aflatoksin standart solusyonları, alüminyum folyoya sarılmıştır. Asitlerle bozunabildiklerinden, kullanılan malzemeler (deney tüpler, erlenler) asitle muamele edildikten sonra saf suyla durulanmıştır.

Aflatoksinlerin deney ekipmanlarından uzaklaştırılması, deney numunelerine kontaminasyonun önlenmesi açısından gereklidir. Bu amaçla aflatoksin çalışılan deney malzemeleri ve kaplar %10'luk çamaşır suyu içeren çözeltiyle muamele edilmiştir (Stroka ve diğ., 2000). Daha sonra bulaşık deterjanı ile yıkanarak durulanmış ve saf sudan geçirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Boyacıoğlu ve diğ.(1989), 1985-1986 yılları arası İsviçre'ye ihraç edilen Türk kuru incirlerin aflatoksin içerdiğinin belirlenmesi üzerine, 284 kuru incir örneği toplamış ve analizlenmiştir. Kuru incirler araştırmacılar tarafından kurutma, depolama ve ambalajlama aşamalarında toplanarak analiz edilmiştir. 1986 mahsulü kuru incirler; kurutma aşamasında 206 örnek, depolama 64 örnek ve işleme aşamasında 14 örnek Ege Bölgesinden toplanmıştır. Örnekler ince tabaka kromatografi yöntemiyle incelenmiştir. Kurutma aşamasında toplanan örneklerin 8inde ortalama 112.3 ng/g aflatoksin B₁, 50.6 ng/g B₂, 61.4 ng/g G₁ tespit edilmiştir (Boyacıoğlu ve Gönül, 1989).

Özay (1989), çeşitli incir bahçelerinden ve işletmelerinden aldığı 1988 yılı ürünü 103 incir numunesinin aflatoksin içeriklerini incelemiş ve incir örneklerinin %29'unda 0.5-63ppb aflatoksin B₁, 0.5-37-7ppb aflatoksin B₂, 0.5-78.3ppb aflatoksin G₁, 0.5-12.5 ppb aflatoksin G₂ saptamıştır (Özay ,1989) .

Sharman ve diğ.(1991), 1988-1989 yılları arasında Türkiye'den ithal edilen kuru incir ve kuru incir ezmesinden aldıkları örneklerin %24'ünün 165 µg/kg toplam aflatoksin içerdiğini saptamıştır. Kuru incir numuneleri 20 kg'lık numuneler halinde, incir ezmesi ise 5 kg'lık numuneler halinde test edilmiştir. Örneklerdeki aflatoksin miktarı IAK floresan dedektör-HPLC cihazı ile analiz edilmiştir. Çalışma sonunda 112 parti incir ezmesinin %11'i ve 93 parti kuru incirin %9'unun 40 µg/kg toplam aflatoksin içerdiği saptanmıştır (Sharman ve diğ.,1991) .

Steiner ve diğ.(1993), 160 kg kuru incir içeren partiden aldığı 386 kuru incir örneğini incelemiş ve 0.2-30 ng/g(ppb) arasında değişen konsantrasyonlarda 94 numunede aflatoksin B₁, 49 numunede aflatoksin G₁ saptamıştır (Steiner ve diğ.,1993).

Var ve diğ.(2001), 2001 yılında yurtiçinde tüketime sunulan kuru incirlerin küf ve aflatoksin içeriklerini saptamaya yönelik yaptıkları çalışmada; Adana, Eskişehir,

Gaziantep ve Malatya illerindeki çeşitli marketlerden ve pazarlardan, 16 adet ambalajlı ve 24 adet ambalajsız 40 örnek çeşitli tarihlerde 200 ve 250g'lık paketler halinde toplamıştır. Örnekleri ince tabaka yöntemiyle analizlemiş ve ambalajsız örneklerden birinin UV ışığı altında yapılan aflatoksin taramasında pozitif sonuç verdiği ve doğrulama testi sonucu da aflatoksin B₁ olduğu kesinleşmiştir (Var ve diğ., 2001).

Erdoğan ve diğ.(2003), 17 kuru incir numunesinin 5'inde 4.1-33.9 µg/kg arası seviyelerde toplam aflatoksin (B₁, B₂, G₁,G₂) tespit etmişlerdir.

Şenyuva ve diğ.(2005), 2003 yılı üretimi 58 kuru incir örneğinden 9'unda 35.1 ng/g aflatoksin B₁, 2004 yılı üretimi 41 kuru incir örneklerinden 18'inde 20.6 ng/g aflatoksin B₁ saptamışlardır.

Iamanaka ve diğ.(2005), Arjantin, Şili, İran ve Türkiye kökenli siyah kuru üzüm, beyaz kuru üzüm ve kuru incir numunelerini çeşitli marketlerden toplayarak aflatoksin içeriklerini incelemişlerdir. Toplanan numunelerdeki aflatoksin miktarları AOAC metodu, IAK yüksek basınç sıvı kromatografi cihazı ile analizlenmiştir. Herbir örnekten yaklaşık 500g numune analiz için kullanılmıştır. kuru incir numunelerinin 8inde 0.3 µg/kg'dan az, 10'unda 0.3 ile 2.0 µg/kg arası değerlerde aflatoksin B₁ ve B₂ belirlemişlerdir. Kuru incir numunelerinin birinde 1500 µg/kg (ppb) aflatoksin B₁ saptanmıştır.

Çalışmamızda HPLC ve ELISA yöntemleri birlikte uygulanarak elde edilen değerler karşılaştırılmıştır. Buna göre, 7 farklı bölgeden 2 yıl üst üste temin edilen 44 örneğin HPLC ile analiz edilmesi sonucu 11'inde 0.06-763.24 ppb arası değişen oranlarda toplam aflatoksin tespit edilmiştir. ELISA ile analiz ettiğimiz 44 örneğin 14'ünde aflatoksin tespit edilmiştir.

Kuru incirlerde aflatoksin belirlenen örnek sayılarının ELISA ve HPLC yöntemlerindeki dağılımının karşılaştırılmasına bakacak olursak, ELISA ile analiz edilen, 2003 yılına ait 30 incir örneğinin 9'unda, 1.38-49.20ppb arası oranlarda; 2004 yılına ait 14 incir örneğinden 5'inde, 1.26-48.62ppb arası miktarlarda aflatoksin saptanmıştır.

HPLC ile analiz edilen, 2003 yılına ait 30 kuru incir örneğinin 9'unda, 0.23-763.24ppb arası değişen oranlarda toplam aflatoksin tespit edilmiştir.HPLC analizi

ile 2004 yılına ait 14 kuru incir örneğinden 2'sinde sırayla, 33.91 ile 4.22ppb miktarlarda aflatoksin saptanmıştır.

HPLC yöntemine göre pozitif çıkan örneklerde bölgelere göre aflatoksin dağılımına bakacak olursak, Germencik ilçesinden toplanan 2003 yılına ait 9 numunenin 2'sinde, Erbeyli'den toplanan 4 numunenin 2'sinde, İncirliovadan alınan 7 örneğin 1'inde, Söke'den alınan 2 örneğin 1'inde, Selçuk'tan alınan 3 örneğin 1'inde, Torbalı'dan alınan 3 örneğin 2'sinde aflatoksin saptanmıştır. Söke'den alınan örneklerde aflatoksin saptanmamıştır.

Germencik ilçesinden toplanan 2004 yılına ait 5 örneğin 1'inde, Torbalı'dan alınan 1 örnekte aflatoksin saptanmış, İncirliova, Ortaklar, Söke ve Selçuk'tan alınan 2004 yılına ait numunelerde aflatoksin saptanmamıştır.

HPLC analizinde aflatoksin belirleme limitleri aflatoksin B₁ 0.10ng/ml, aflatoksin G₁ 0.10ng/ml, aflatoksin B₂ 0.09ng/ml, aflatoksin G₂ 0.09ng/ml olarak belirlenmiştir. HPLC analizinde aflatoksin belirleme limitleri tablo 4.13'te gösterilmiştir.

Tablo 4.13: HPLC Analizinde Aflatoksin Belirleme Limitleri

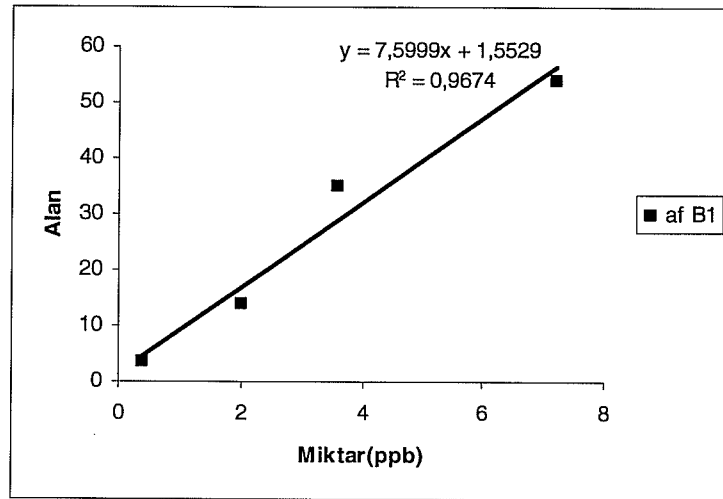
Aflatoksin	HPLC yöntemi aflatoksin belirleme limitleri (ppb)
B ₁	0.10
B ₂	0.09
G ₁	0.10
G ₂	0.09
Toplam AF	0.38

HPLC analizinde geri kazanım değerleri, aflatoksin B₁ 4.05ng/ml, aflatoksin B₂ 1.22ng/ml, aflatoksin G₁ 3.11ng/ml, aflatoksin G₂ 0.80ng/ml ve toplam aflatoksin 9.18ng/ml olarak belirlenmiştir. HPLC yönteminde geri kazanım değerleri tablo 4.14'te gösterilmiştir.

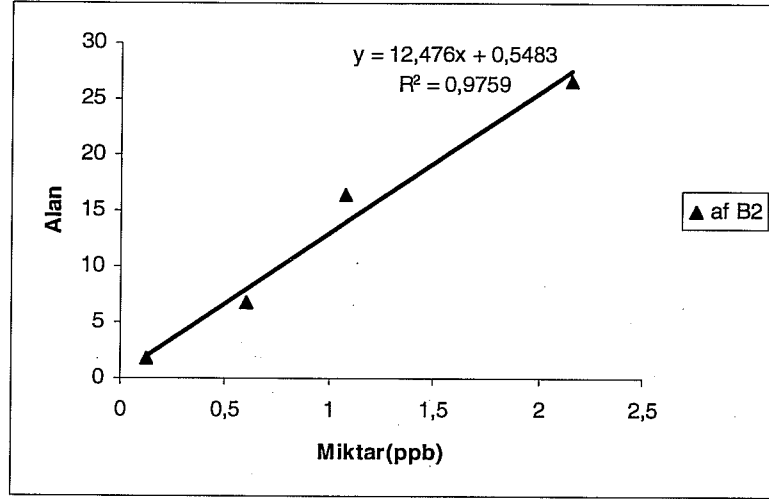
Tablo 4.14: HPLC Yönteminde Geri Kazanım Değerleri

Aflatoksin	Aşılana aflatoksin miktarı,ppb	HPLC yöntemi	
		Aflatoksin geri kazanım değerleri (ppb)	Aflatoksin % geri kazanım değerleri
B ₁	4.0	4.05	101.25
B ₂	1.20	1.22	101.70
G ₁	4.0	3.11	77.75
G ₂	1.20	0.80	67.0
Toplam AF	10.40	9.18	88.27

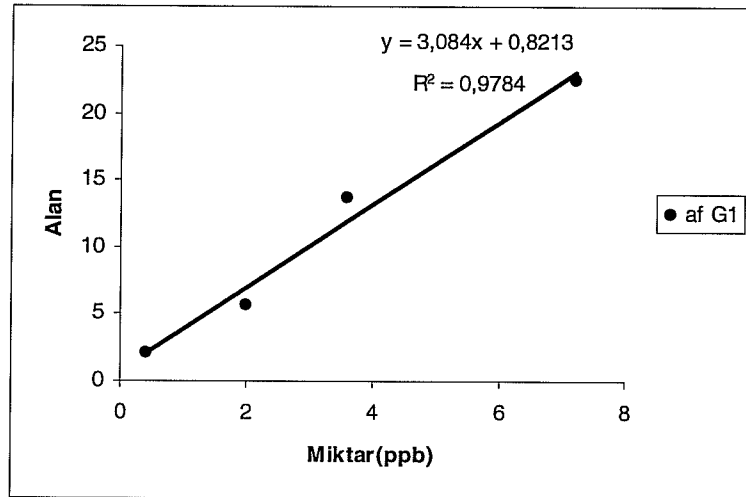
HPLC yöntemine göre aflatoksin B₁, B₂, G₁, ve G₂'nin kalibrasyon grafikleri belirlenmiştir.



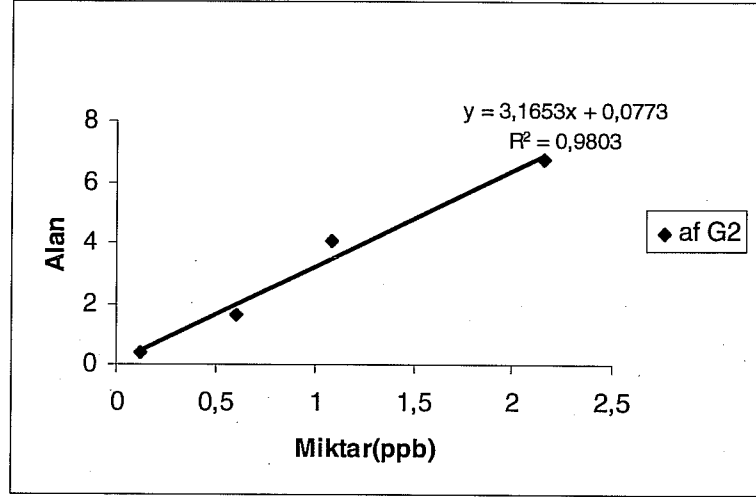
Şekil 4.4: Aflatoksin B₁'in Kalibrasyon Grafiği



Şekil.4.5: Aflatoksin B₂'nin Kalibrasyon Grafiği



Şekil 4.6: Aflatoksin G₁'in Kalibrasyon Grafiği



Şekil 4.7: Aflatoksin G₂'nin Kalibrasyon Grafiği

Aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂'nin kalibrasyon grafikleri şekil 4.4., 4.5., 4.6 ve 4.7'de gösterilmiştir.

HPLC ve ELISA analizi sonucu incelenen 44 kuru incir numunesinde değişen oranlarda aflatoksin belirlenmiştir. ELISA yöntemi ile analiz edilen 44 numunenin 14'ünde aflatoksin saptanırken, HPLC yöntemi ile analiz edilen bu örneklerin 11'inde aflatoksin belirlenmiştir. Çeşitli Bölgelerden toplanan 2003-2004 yılına ait kuru incir numunelerinin HPLC analizi sonucu aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂ ile toplam aflatoksin miktarları ve ELISA analizi sonucu toplam aflatoksin miktarları tablo 4.15'te gösterilmiştir.

Çeşitli bölgelerden toplanan 2003 yılına ait kuru incir örneklerinde HPLC ve ELISA yöntemi ile elde edilen aflatoksin bulguları tablo 4.16’da gösterilmiştir.

Tablo 4.15: 2003 Yılına Ait Kuru İncir Örneklerinde HPLC ve ELISA Yöntemi ile Aflatoksin Bulguları

Sıra no	Örnek no	Bölge	HPLC yöntemi					ELISA yöntemi
			B ₁	B ₂	G ₁	G ₂	Toplam AF	Toplam AF, ppb
1	1-03	Germencik	0	0	0	0	0	<1.0
2	3-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
3	4-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
4	6-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
5	12-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
6	26-03	“	2.93	0.12	0	0	3.05	12.99
7	56-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
8	62-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
9	65-03	“	0.08	0	0.15	0	0.23	1.38
10	8-03	Erbeyli	2.69	0.52	1.12	0	4.33	15.40
11	11-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
12	19-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
13	64-03	“	1.23	0.32	0.36	0	1.91	9.54
14	9-03	İncirliova	0	0	0	0	0	<1.0
15	10-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
16	14-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
17	20-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
18	29-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
19	54-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
20	68-03	“	356.09	3.75	192.84	0	552.67	49.20
21	36-03	Ortaklar	0	0	0	0	0	<1.0
22	52-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
23	21-03	Söke	0	0	0	0	0	<1.0
24	61-03	Söke	696.25	3.50	63.49	0	763.24	49.08
25	22-03	Selçuk	0	0	0	0	0	<1.0
26	35-03	“	0	0	0	0	0	<1.0
27	69-03	“	156.04	16.73	0	0	172.77	47.93
28	42-03	Torbalı	1.32	0.50	0	0	1.82	6.09
29	70-03	“	0.32	0	0	0	0.32	2.07
30	71-03	“	0	0	0	0	0	<1.0

2004 yılına ait kuru incir örneklerinde HPLC ve ELISA yöntemi ile aflatoksin bulguları tablo 4.17’de gösterilmiştir.

Tablo 4.16: 2004 Yılına Ait Kuru İncir Örneklerinde HPLC ve ELISA Yöntemi ile Aflatoksin Bulguları

Sıra no	Örnek no	Bölge	HPLC yöntemi					ELISA yöntemi
			B ₁	B ₂	G ₁	G ₂	Toplam AF	Toplam AF, ppb
1	2-04	Germencik	0	0	0	0	0	<1.0
2	3-04	“	30.46	3.45	0	0	33.91	48.62
3	9-04	“	0	0	0	0	0	<1.0
4	11-04	“	0	0	0	0	0	<1.0
5	30-04	“	0	0	0	0	0	<1.0
6	40-04	İncirliova	0	0	0	0	0	<1.0
7	41-04	“	0	0	0	0	0	1.38
8	33-04	Ortaklar	0	0	0	0	0	<1.0
9	42-04	“	0	0	0	0	0	<1.0
10	43-04	“	0	0	0	0	0	1.26
11	44-04	“	0	0	0	0	0	<1.0
12	19-04	Söke	0	0	0	0	0	<1.0
13	12-04	Selçuk	0	0	0	0	0	1.26
14	4-04	Torbalı	2.32	0.23	1.46	0.21	4.22	35.86

ELISA ve HPLC ile analiz edilen 2003 yılına ait 30 kuru incir örneğinin 9’unda toplam aflatoksin belirlenmiştir. ELISA ile analiz edilen 2004 yılına ait 14 kuru incir numunesinin 5’inde toplam aflatoksin belirlenirken, HPLC yöntemine göre bu örneklerin 2’sinde toplam aflatoksin saptanmıştır. Kuru incirlerde aflatoksin belirlenen örnek sayılarının ELISA ve HPLC yöntemlerindeki dağılımının karşılaştırılması tablo 4.18’de gösterilmiştir.

Tablo 4.17: Kuru İncirlerde Aflatoksin Belirlenen Örnek Sayılarının ELISA ve HPLC Yöntemlerindeki Dağılımının Karşılaştırılması

		Toplam Örnek Sayısı	Pozitif Örnek Sayısı	Aflatoksin İçeren Örnek Sayısı				
				B ₁	B ₂	G ₁	G ₂	TOPLAM AF
ELISA	2003	30	9	-	-	-	-	9
	2004	14	5	-	-	-	-	5
	TOPLAM	44	14	-	-	-	-	14
HPLC	2003	30	9	9	7	4	-	9
	2004	14	2	2	2	1	1	2
	TOPLAM	44	11	11	9	5	1	11

HPLC yöntemine göre pozitif çıkan örneklerde bölgelere göre aflatoksin dağılımına bakacak olursak Germencik'ten toplanan 2003 yılına ait 9 örnekten 2'sinde(%22), Erbeyli'den alınan 4 örneğin 2'sinde (%50), İncirliova'dan alınan 7 örneğin 1'inde(%14.3), Söke'den alınan 2 örneğin 1'inde (%50), Selçuk'tan alınan 3 örneğin 1'inde (33.3) ve Torbalı'dan alınan 3 örneğin 2'sinde (%66.6) aflatoksin belirlenmiştir. Germencik'ten toplanan 2004 yılına ait 5 örnekten 1'inde (%20) ve Torbalı'dan alınan 1 örnekte (%100) aflatoksin belirlenmiştir. HPLC yöntemine göre pozitif çıkan örneklerde bölgelere göre aflatoksin dağılımı tablo 4.19'da gösterilmiştir.

Tablo 4.18: HPLC Yöntemine Göre Pozitif Çıkan Örneklerde Bölgelere Göre Aflatoksin Dağılımı

Bölgeler	2003 yılı			2004 yılı			Toplam	
	Örnek Sayısı	Pozitif Örnek Sayısı	%	Örnek Sayısı	Pozitif Örnek Sayısı	%	Pozitif Örnek Sayısı/Toplam Örnek Sayısı	%
Germencik	9	2	22.2	5	1	20.0	3/14	21.42
Erbeyli	4	2	50	-	-	-	2/4	50
İncirliova	7	1	14.3	2	-	-	1/9	11.1
Ortaklar	2	-	-	4	-	-	0/6	-
Söke	2	1	50	1	-	-	1/3	33.3
Selçuk	3	1	33.3	1	-	-	1/4	25.0
Torbalı	3	2	66.6	1	1	100	3/4	75.0

HPLC analizi sonucu örneklerin (2003 ve 2004) 6'sı yasal limitin (Toplam F>4ppb) üzerinde toplam aflatoksin içermektedir. Bölgelere göre inceleyecek olursak Germencik'ten alınan ve pozitif çıkan 3 örneğin 1'i, Erbeyli'de pozitif çıkan 2 örneğin 1'i, İncirliova'da 1, Söke'de 1, Torbalı'dan alınan ve pozitif çıkan 3 örneğin 1'i yasal limitin üzerindedir. Başka bir deyişle Germencik Bölgesine ait aflatoksin içeren örneklerin %33.3'ü, Erbeyli'ye ait aflatoksin içeren örneklerin %50'si, İncirliova, Söke ve Selçuk Bölgesine ait pozitif çıkan örneklerin %100'ü ile Torbalı Bölgesine ait pozitif çıkan örneklerin %33.3'ü limitin üzerindedir. HPLC yöntemine göre yasal limitlerin (Toplam AF>4ppb) üzerinde aflatoksin içeren 2003-2004 yıllarına ait örneklerin bölgelere göre aflatoksin dağılımı tablo 4.20'de gösterilmiştir.

Tablo 4.19: HPLC Yöntemine Göre Yasal Limitlerin (Toplam AF>4ppb) Üzerinde Aflatoksin İçeren 2003-2004 Yıllarına Ait Örneklerin Bölgelere Göre Aflatoksin Dağılımı

Yasal Limitlerin (Toplam AF>4ppb) Üzerinde aflatoksin içeren 2003-2004 yıllarına ait örnekler			
Bölgeler	Örnek sayısı	Örnek sayısı/toplam pozitif örnek sayısı	%
Germencik	1	1/3	33.3
Erbeyli	1	1/2	50
İncirliova	1	1/1	100
Ortaklar	-	-	-
Söke	1	1/1	100
Selçuk	1	1/1	100
Torbalı	1	1/3	33.3

ELISA ile ölçtüğümüz toplam aflatoksin değerleri HPLC ile elde ettiğimiz değerlerden oldukça yüksektir. ELISA analizi ile elde ettiğimiz toplam aflatoksin miktarlarının yüksek oluşu büyük ölçüde antikorlara bağlanabilen, aflatoksin olmayan diğer maddelerden kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca ELISA analizinde kullanılan kitlerde kuyuların birbirine yakın oluşu kontaminasyon riskini artırmaktadır. Bunun yanında ELISA analizinde ölçüm limitleri içinde pozitif değer elde edilen örneklerin HPLC'deki ölçümleri sonucu aflatoksin tespit edilmesi, ELISA'nın tarama amaçlı kullanılabileceğini göstermiştir (Patel, 2004).

ELISA'da belirleme limitleri oldukça yüksekken (9 ppb) (Patey ve diğ., 1992) HPLC'de B₁ için 0.10 ppb, G₁ için 0.10 ppb, B₂ için 0.09 ppb, G₂ için 0.09 ppb aflatoksin belirleme limitlerinin oldukça düşük oluşu, HPLC'nin daha iyi sonuçlar vermesini sağlamaktadır.

5. SONUÇ

Aflatoksinler toksik ve kanserojen bileşikler olmaları nedeniyle incirde tespit edilmeleri büyük önem taşımaktadır. Aflatoksinlerin gıdalarda en düşük seviyelerde tespit edilmeleri gerekmektedir. Bunun için uygun örnekleme metodu, örnek hazırlama ve analiz metodlarının seçilmesi ve uygulanması gerekmektedir. Aflatoksinlerin analiz yöntemleri çeşitlidir. Aflatoksinler TLC, HPLC gibi kromatografik yöntemlerin yanı sıra, IAK, ELISA gibi immünolojik yöntemlerle de analizlenebilmektedir. ELISA yöntemi ucuz maliyetli oluşu ve kısa sürede sonuç vermesi nedeniyle kullanımı oldukça yaygındır. HPLC yönteminin, kesinlik ve hatasızlık oranı yüksektir ve bu yöntem çeşitli ürünlere uygulanabilmektedir.

Geçmiş yıllarda ihracatta ve yurt içinde tüketimde incirde aflatoksin varlığıyla ilgili çeşitli sorunlar yaşanmıştır. İncirde aflatoksinle ilgili yapılan çalışmalar çeşitlidir. Pek çok araştırmacı incirde aflatoksin varlığını incelemiş ve çeşitli bulgular elde etmişlerdir.

Çalışmada 7 ayrı bölgeden toplanan kuru incir numuneleri ELISA ve IAK saflaştırma HPLC ile analizlenmiş iki yöntem arasında farklı sonuçlar elde edilmiştir. ELISA yöntemi ile analiz edilmiş kuru incir örneklerinin 14'ünde, HPLC yöntemiyle analiz sonucu incir numunelerinin 11'inde aflatoksin tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar neticesinde ELISA'nın kısa sürede sonuç veren, tarama amaçlı kullanılabilecek, bir yöntem olduğu görülmüştür.

Elde edilen veriler sonucunda ülkemizde sık tüketilen bir meyve olan kuru incirin üretimi sırasında aflatoksin oluşumunun önlenmesine yönelik önlemlerin alınması gereklidir.

KAYNAKLAR

- Aksoy U., 2001. Kuru incir üretiminde verim ve kaliteyi artırmaya yönelik uygulamalar, *Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi, Çiftçi Dergisi*, 1.
- Anonim, 2002a. Kuru İncir Standardı, TS-541, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara
- Anonim, 2002b. Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ, *Türk Gıda Kodeksi 2002/63*.
- Anonim, 2002c. *AgraQuant Total Aflatoxin Assay 1-20 Test Procedure*, Romer Labs Inc., USA.
- Anonim, 2003. http://www.tzob.org.tr/tzob/tzob_urun_rapor/rapor_2003_incir.htm
- Anonim, 2005a. http://www.tzob.org.tr/tzob/tzob_ana_sayfa.htm
- Anonim, 2005b. <http://www.ihracat.dtm.gov.tr>
- Anonim, 2006a. <http://www.aflatoxin.info/introduction.asp>
- Anonim, 2006b. <http://www.dtm.gov.tr/ead/ticaret/ticaret.htm>
- Anonim, 2006c. Deryalar analitik cihazları, Kobra cell çalıştırma kılavuzu
- Anton J., 1988. Monthly meteorological bulletin no. 84/85. *Directorate of Governmental Meteorological Affairs*, Ankara, Turkey.
- Arıcı M., 2001. Isolierung von Schimmelpilzen und deren Bestimmung, sowie Mykotoxinanalysen aus Türkischen Feigen, Erdnüssen und Oliven, *Ernährung /Nutrition*, 25, 4, 157-160.
- Bedard L. L., Massey T.E., 2006. Aflatoxin B₁-induced DNA damage and its repair , *Cancer Letters* , 1-10.
- Bennett J.W., Klich M., 2003. Mycotoxins, *Clinical microbiology review*, 16, 497-516.

- Bhatnagar D., Garcia S., 2001.** *Aspergillus, Guide To Foodborne Pathogens*, ed.by Labbe R.G., Garcia S., p.35-50, Elsevier science, UK.
- Bhatnagar D., Payne G.A., Cleveland T.E., Robens J.F., 2004.** Mycotoxins current issues in USA, *Meeting the mycotoxin menace*, 17-47.
- Blesa J., Soriano J.M., Molto J.C., Marin R., Manes J., 2003.** Determination of aflatoxins in peanuts by matrix solid-phase q dispersion and liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **1011**, 1-2, 49-54.
- Boudra H., Le Bars J., Le Bars P., Dupuy J., 1994.** Time of *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin formation in ripening of figs, *Mycopathologia*, **127**, 29-33.
- Boyacıoğlu D., Gönül M., 1990.** Survey of Aflatoxin Contamination of Dried Figs Grown in Turkey in 1986, *Food Additives and Contaminants*, **7**, 2, 235-237..
- Buchanan J.R., Sommer N.F., Fortlage R.J., 1975.** *Aspergillus flavus* infection and Aflatoxin Production in Fig Fruits, *Applied Microbiology*, **30**, 2, 238-241.
- Bullerman L.B., Schroeder L.L., Park K.Y., 1984.** Formation and control of mycotoxins in food, *Journal of Food Protection*, **47**, 637-646.
- Candlish A.A.G., Stimson W.H., 1993.** Emerging Techniques:Immunoaffinity Chromatography, *Techniques and applications*,ed by.Betina V., p.99-123, Elsevier Science, Netherlands.
- Cole J.R., Milbra A.S., 2003.** *Handbook of Secondary Fungal Metabolites*, Academic Press, **1** , 547-569, USA.
- Commission Directive 98/53/EC, 1998.** The Sampling Methods And The Methods Of Analysis For The Official Control Of The Levels For Certain Contaminants In Foodstuff, Official Journal of the European Communities, p.93-101.
- Çoksöyler N., Çaycı P., Özkaya Ş., Tutluer H., 1991.** Determination of the radiation dose of *Aspergillus flavus* spores in dried fig, *Turkish journal of nuclear sciences*, **18**, 2, 47-57.
- De Vries.J., 1997,** *Food Safety and Toxicity*, Woodhead Publishing, Cambridge, UK.
- De Vires J.W., Trucksess M.W., Jacson L.S., 2002.** *Mycotoxins and Food Safety*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, USA.
- Diaz D.E., 2005.** *The mycotoxin blue book*, Nottingham University Press, UK.

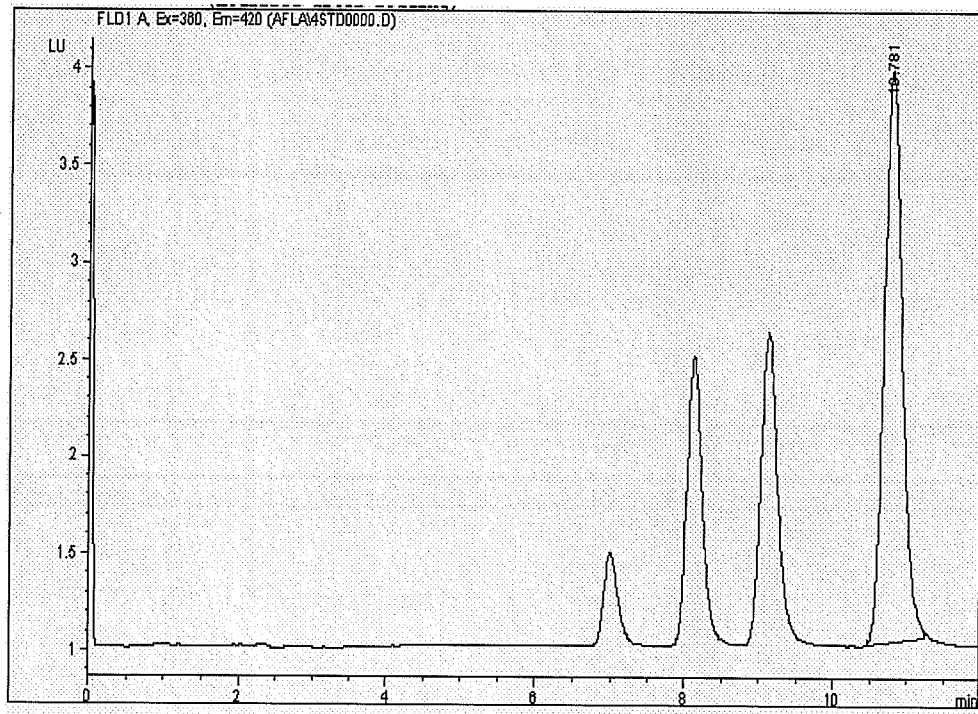
- Drusch S., Ragab W., 2003.** Mycotoxins in Fruits, Fruit Juices and Dried Fruits, *Journal of Food Protection*, **66**, 8, 1514-1527.
- Erdoğan A., Gürses M., Sert S., 2003.** Erzurum’da satışa sunulan Köme(Cevizli Pestil Sucuğu) ve Kuru İncirlerin Aflatoksin İçeriklerinin Saptanması, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **34**, 1, 85-88.
- European Commission, 1998.** Amending Regulation (EC) 194/97 of 31 January 1997 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, Commission Regulation (EC) No. 1525/98, Official Journal of the European Communities L, **201**, 43–46.
- European Comission,2000.** Report of a mission carried out in Turkey from 4th to 8th September 2000,Comission Regulation (EC) No 194/97
- Gilbert, 1993.** Recent advances in analytical methods for mycotoxins, *Food Additives and Contaminants*, **10**, 1, 37-48.
- Gilbert.J., Anklam.E., 2002.** Validation of analytical methods for determining mycotoxins in foodstuffs, *Trends in Analytical Chemistry*, **21**,6-7, 468-486.
- Gilbert J., Vargas E.A., 2003.** Advances in sampling and analysis for aflatoxins in food and animal feed, *Journal of Toxicology*, **22**, 2-3, 381-422.
- Giray B., Girgin G., Engin A.B., Aydın S., Şahin G., 2007.** Aflatoxin levels in wheat samples consumed in some regions of Turkey, *Food Control* ,**18**, 1, 23-29.
- Helferich W., Winter C.K., 2000,** *Food Toxicology*, Woodhead Publishing, Cambridge, UK.
- Heperkan D., Güler F.K., Kaya G.D., 2005.** Türkiye’de Mikotoksin Çalışmaları, *II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildiriler Kitabı*, İstanbul.
- Horn B.W., Grene R.L., Sobolev V.S., Dorner J.W., Powell J.H., Layton R.C, 1996.** Association of morphology and mycotoxin production with vegetative compatability groups in *Aspergillus flavus*, *A.parasiticus* and *A.tamarii*, *Mycologia*, **8**, 4, 574-587.
- Iamanaka B.T., Menezes H.C., Vicente E., Leite R.S.F., Taniwaki M.H., 2007.** Aflatoxigenic fungi and aflatoxins occurrence in sultanas and dried figs commercialized in Brazil, *Food Control*, **18**, 5, 454–457

- İçibal, N. , Altuğ, T., 1992, Degradation of Aflatoxins in Dried Figs by Sulphur Dioxide Alone and in Combination with Heat, Ultraviolet Energy or Hydrogen Peroxide, *Lebensm.-Wiss.U.-Technol.*, **25**, 294-296.
- Janssen M.M.T., Put H.M.C., Nout M.J.R., 1997. Natural toxins, *Food Safety and Toxicity*, Woodhead Publishing, Cambridge, UK.
- Jay J.M., Loessner M.J., Golden D.A., 2005. *Modern Food Microbiology*, p.709-715, Springer Science and Business Media, USA.
- Kuronen P.,1993. Techniques of Liquid Chromatography, *Chromatography of Mycotoxins, Techniques and applications*,ed by.Betina V., p.36-77, Elsevier Science, Netherlands.
- Patel P., 2004. Mycotoxin analysis: current and emerging Technologies, *Mycotoxins in food Detection and control*, ed.by Magan N., Olsen M, Woodhead Publishing, Cambridge, UK
- McKean C., Tang L., Tang M., Billam M., Wang Z., Theodorakis C.W., Kendall R.J., Wang J.-S., 2006. Comparative acute and combinative toxicity of aflatoxin B₁ and fumonisin B₁ in animals and human cells, *Food and Chemical Toxicology*, **44**, 6, 868–876.
- Morton SG, Eadie T, Llewellyn GC, 1979. Aflatoxigenic potential of dried figs, apricots, pineapples, and raisins, *J Assoc Off Anal Chem.* ,**62**, 4, 958-62.
- Moss M.O., 1998. Recent studies of mycotoxins, *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*, **84**, 62S-76S.
- Mrak E.M., Phaff H.J., Vaughn R.H., Hansen H.N., 1942. Yeasts occurring in souring figs, *Journal of bacteriology*, **44**, 441-450.
- Nilüfer D., Boyacıoğlu D., 2002. Comparative Study of Three Different Methods for the Determination of Aflatoxins in Tahini, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **50**, 3375-3379.
- Ominski K.H., Marquardt R.R., Sinha R.N., Abramson D.,1994. Ecological aspects of Growth and Mycotoxin Production by Storage Fungi, *Mycotoxins in Grain Compounds other than Aflatoxin*, p.287-311, Eagan Press, USA.

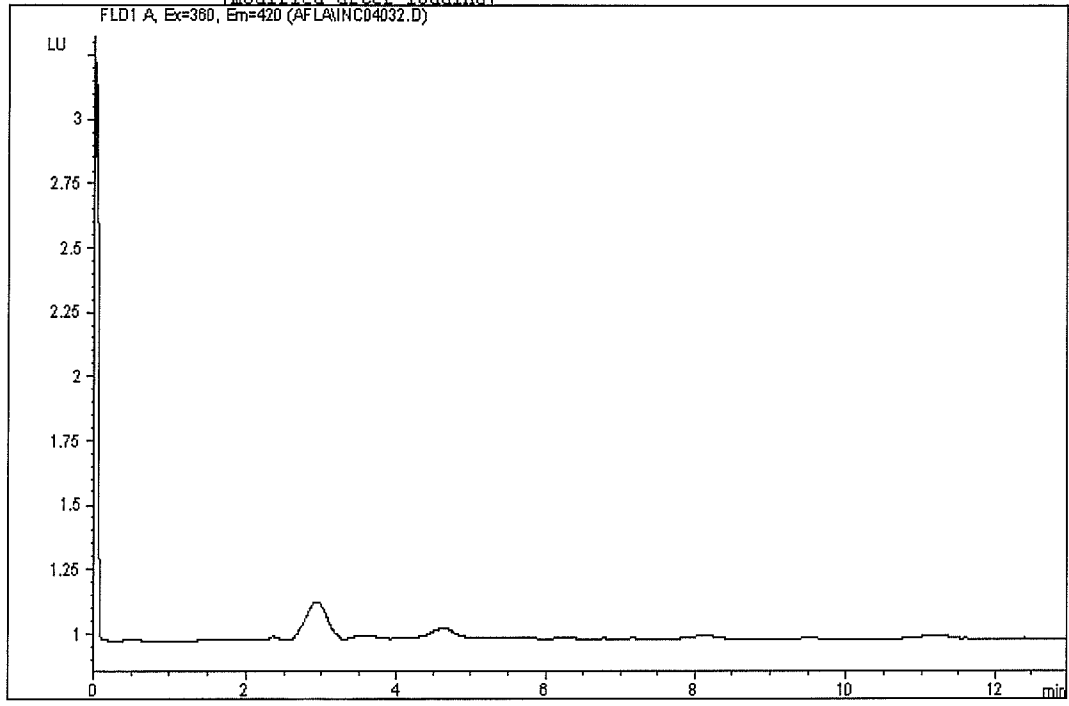
- Özay G.**, 1989. Kuru incirlerde (*Ficus carina* L.) aflatoksin kontaminasyonu, gıdalarda küfler ve mikotoksinler sempozyumu, *Tübitak Marmara Araştırma Merkezi-İstanbul Ticaret Odası*, İstanbul.
- Özay G., Alperden I.**, 1991. Aflatoxin and Ochratoxin A contamination of dried figs (*Ficus carina* L.) from the 1988 crop, *Mycotoxin Research*, **7**, 85-91.
- Park D.L, Ayala C.E, Perez S.E.G, Garcia R.L., Trujillo S.**, 2000. Microbial Toxins in Foods: Algal, Fungal and Bacterial, *Food Toxicology*, Woodhead Publishing, Cambridge, UK.
- Pitt J.I., Hocking A.D.**, 1997. *Fungi and food spoilage*, London, Academic Press., USA.
- 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 Additives and Contaminants*, **8**, 3, 299-304.
- Shier W.T., Lao Y., Steele T.W.J., Abbas H.K.**, 2005. Yellow Pigments Used in Rapid Identification of Aflatoxin-producing *Aspergillus* Strains are Anthraquinones Associated With the Aflatoxin Biosynthetic Pathway, *Bioorganic Chemistry*, **33**, 426-438.
- Splittstoesser D.F.**, 1987. Fruits and fruit products, *Food and beverage mycology*, p.101-128, Van Nostrand Reinhold, USA.
- Steiner W., Brunschweiler K., Leimbacher F., Schneider R.**, 1993. Aflatoxin B₁ and G₁, cyclopiazonic acid, kojik acid and ochratoxin A in dried figs showing BGY-fluorescence, *Mitt. Lebensmittelunters. Hyg.*, **84**, 523-536.
- 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.
- Şenyuva Z., Gilbert J., Özcan S., Ülken U.**, 2005. Survey for Co-occurrence of Ochratoxin A and Aflatoxin B₁ in Dried Figs in Turkey by Using a Single Laboratory-Validated Alkaline Extraction Method for Ochratoxin A., *Journal of Food Protection*, **68**, 7, 1512-1515.

- Tarin A., Rosell M.G., Guardino X., 2004.** Use of high-performance liquid chromatography to assess airborne mycotoxins Aflatoxins and ochratoxin A, *Journal of Chromatography A*, **1047**, 235–240.
- Trucksess, M.W., Stack, M.E., Nesheim, S., Park, D.L., Pohland, A.E., 1989.** Enzyme-linked immunosorbent assay of aflatoxins B₁, B₂, and G₁ in corn, cottonseed, peanuts, peanut butter, and poultry feed: collaborative study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, **72**, 957–962.
- Trucksess M.W., Stack M.E., Nesheim, S., Albert R., Romer T.R., 1994.** Multifunctional column coupled with liquid chromatography for determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ in corn, almonds, brazil nuts, peanuts and pistachio nuts: collaborative study, *Journal of AOAC international*, **77**, 6, 1512–1521.
- Trucksess M.W., Pohland A.E., 2001.** *Mycotoxin protocols, Methods in molecular biology*, p.157, Humana press, USA.
- Ward C.M., Wilkinson A.P., Morgan M.R.A., 1993.** Emerging Techniques: Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) as Alternatives to Chromatographic Techniques, *Chromatography of Mycotoxins, Techniques and applications*, ed by Betina V., p.124–138, Elsevier Science, Netherlands.
- Wilson D.M., Payne G.A., 1994.** Factors affecting aspergillus flavus group infection and aflatoxin contamination of crops, *The Toxicology of Aflatoxins; Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*, p. 309–325, Academic Press, USA.
- Wood G.E., Trucksess M.W., Henry S.H., 2003.** Major fungal toxins of regulatory concern, *International handbook of foodborne pathogens*, ed. by Miliotis M.D., Bier J.W., Marcel Dekker, USA
- Var I., Evliya B., Zorlugenç B., Duman A.D., 2001.** Kuru incirlerde Küf İzolasyonu ve Tanımlanması ve Aflatoksin Belirlenmesi, *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **16**, 1, 61–66.

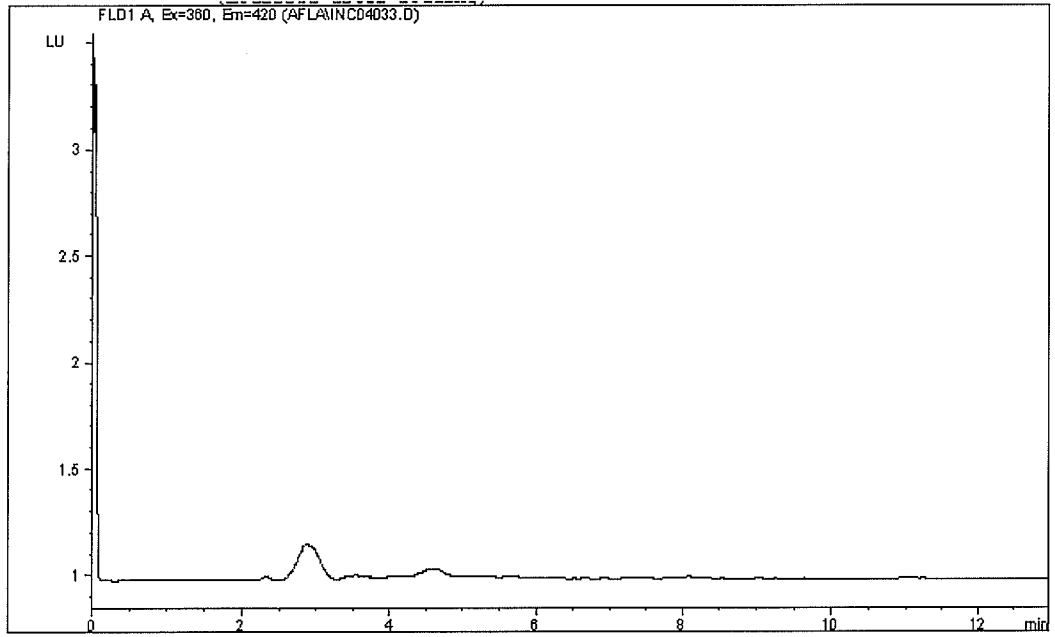
**EK A: YÜKSEK BASINÇLI SIVI KROMATOĞRAFİSİ METODU SONUÇ
KROMATOGRAMLARI**



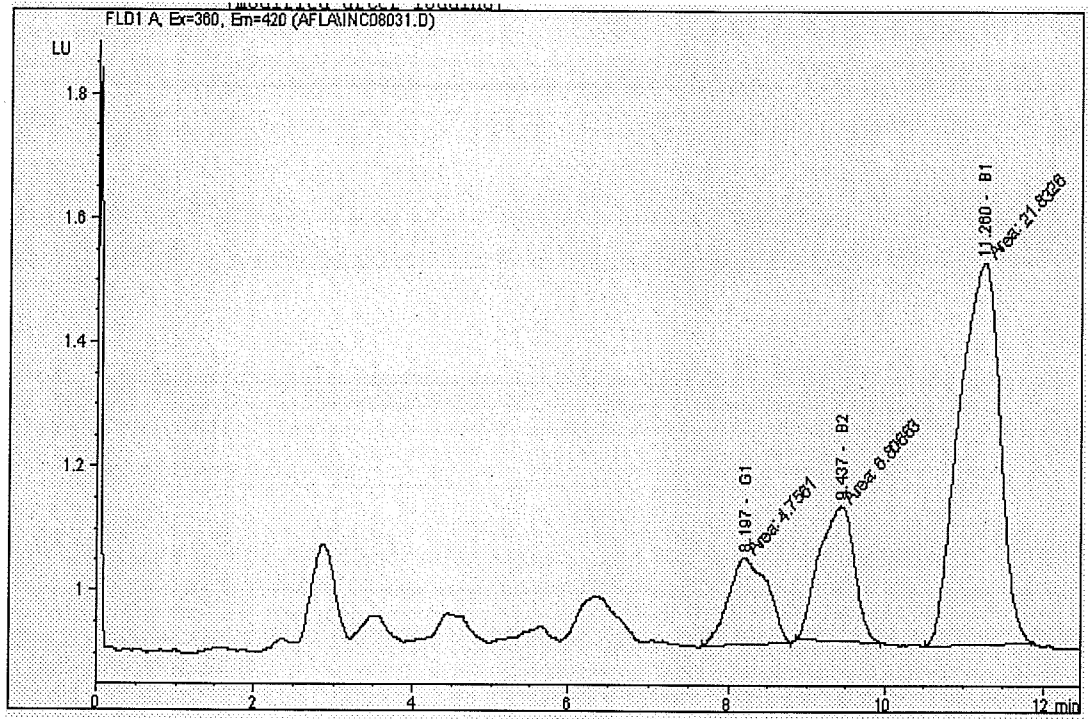
Şekil A.1: HPLC Aflatoksin Standartı Kromatogramı



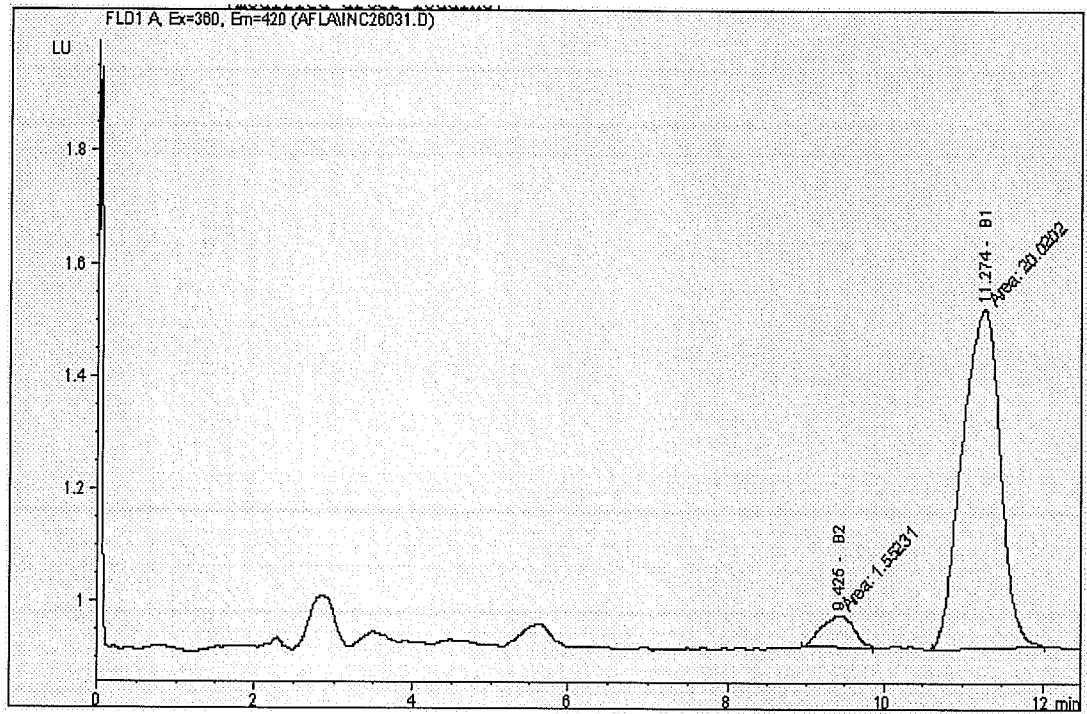
Şekil A2: 04.03 no'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



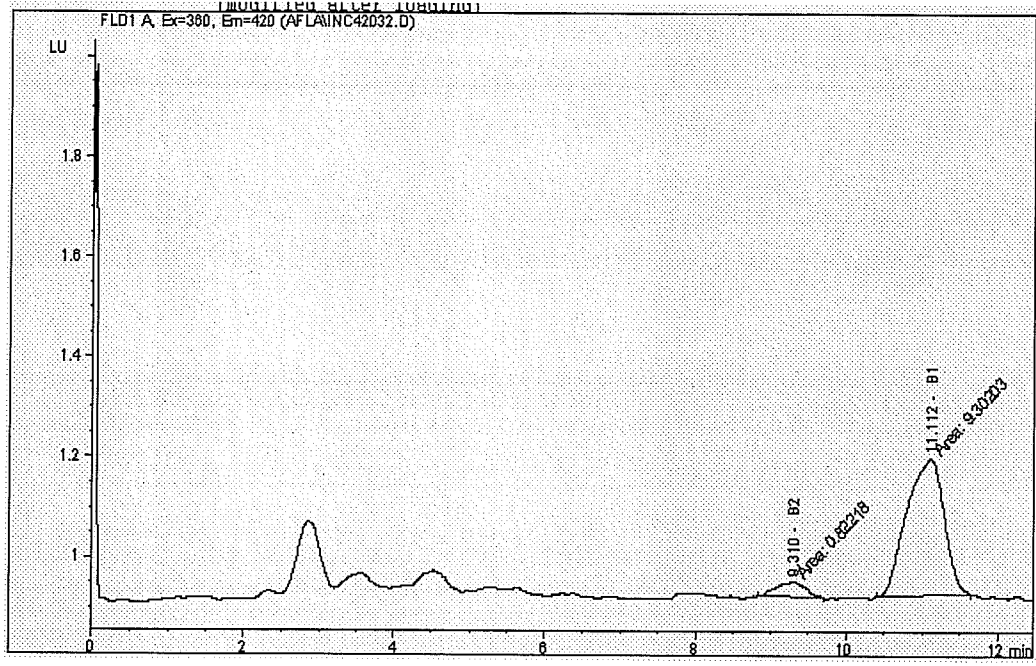
Şekil A3: 06.03 no'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



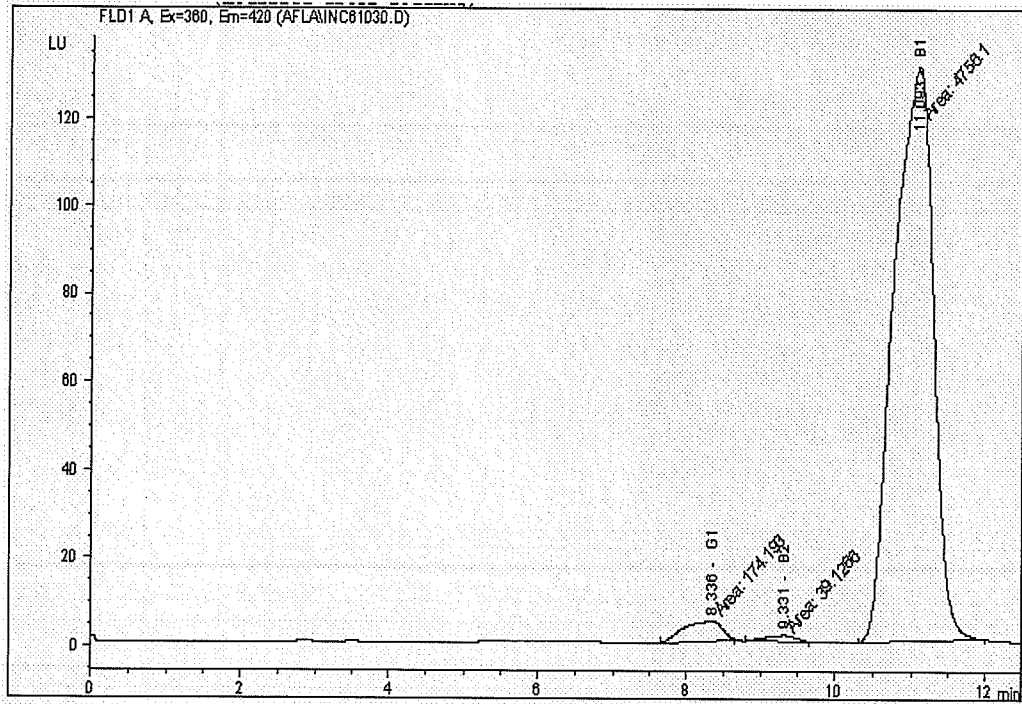
Şekil A4: 08.03 no'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



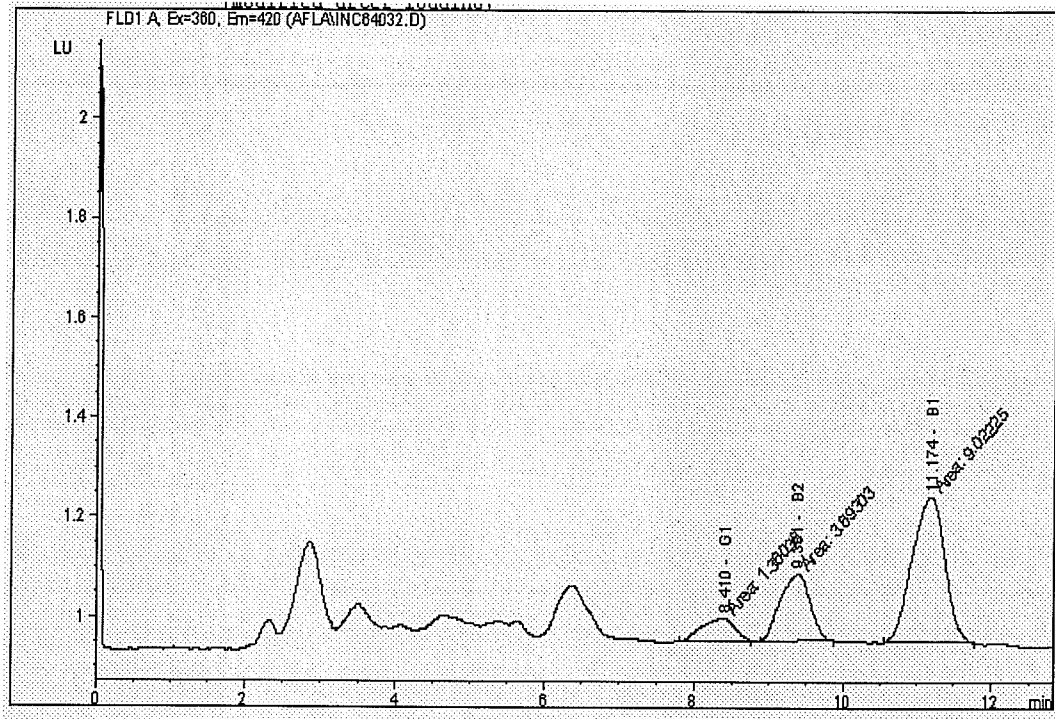
Şekil A5: 26.03 no'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



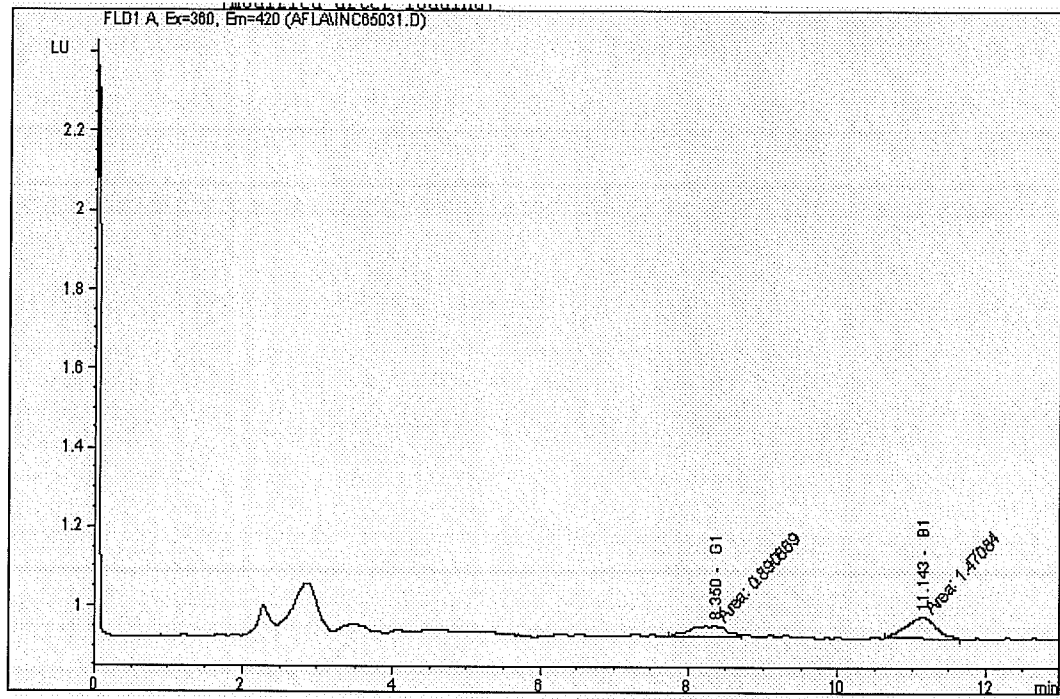
Şekil A6: 42.03 no'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



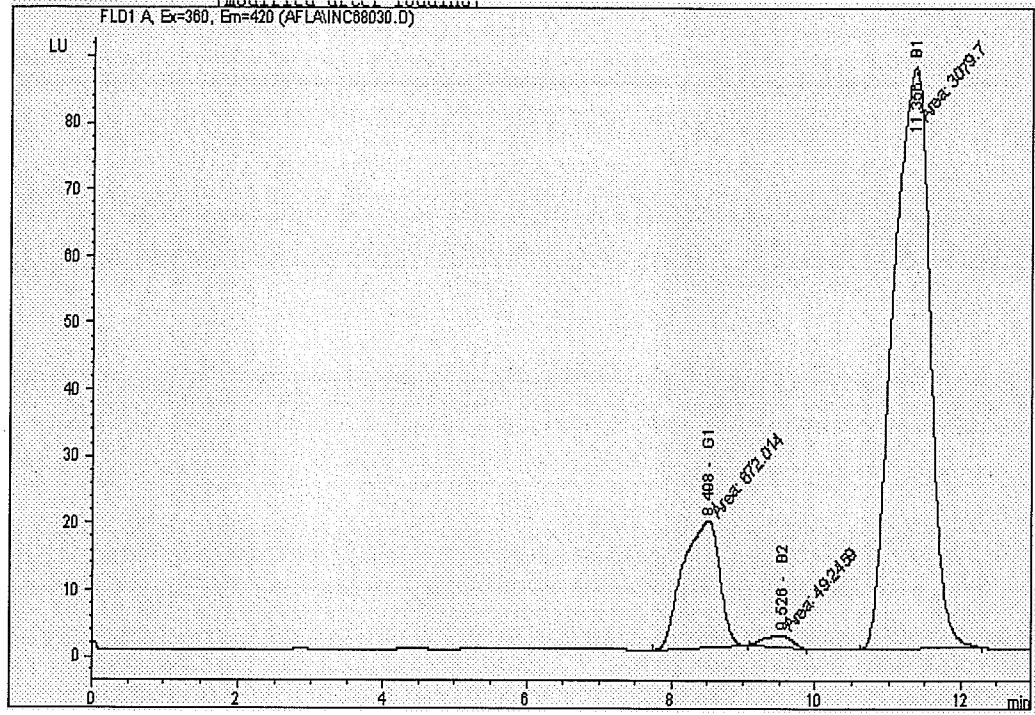
Şekil A7: 61.03 no'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



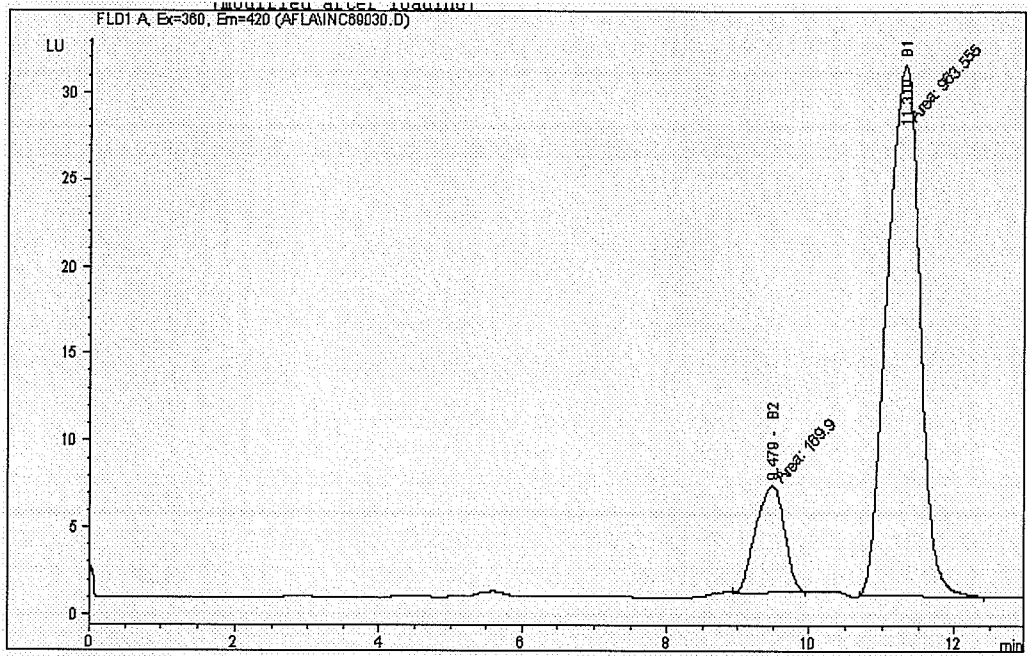
Şekil A8: 64.03 No'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



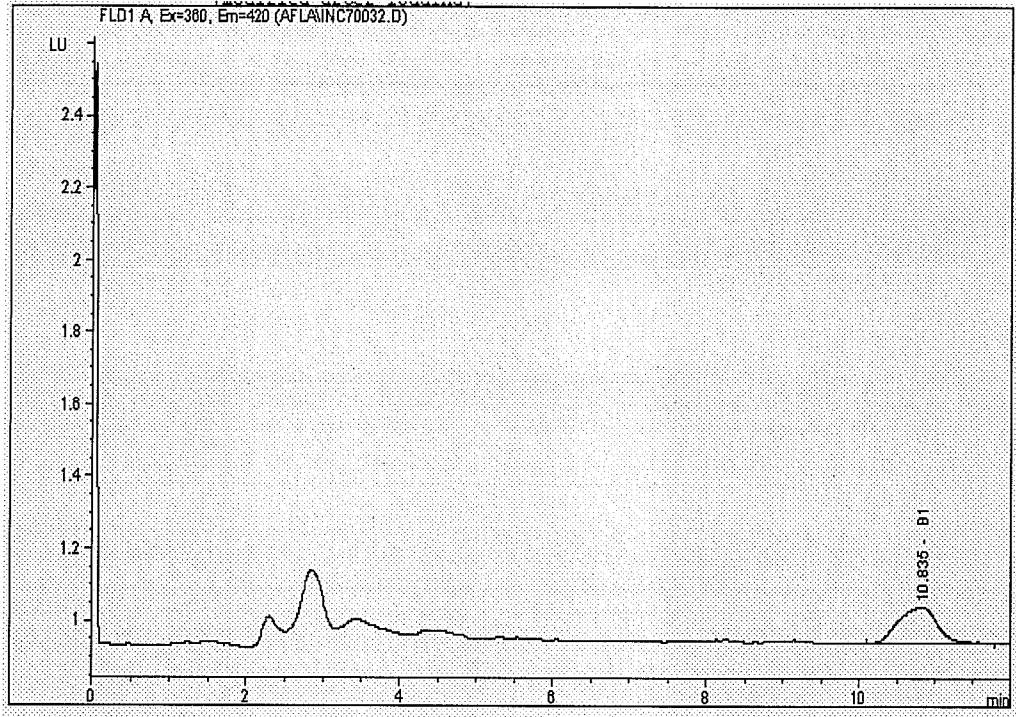
Şekil A9: 65.03 No'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



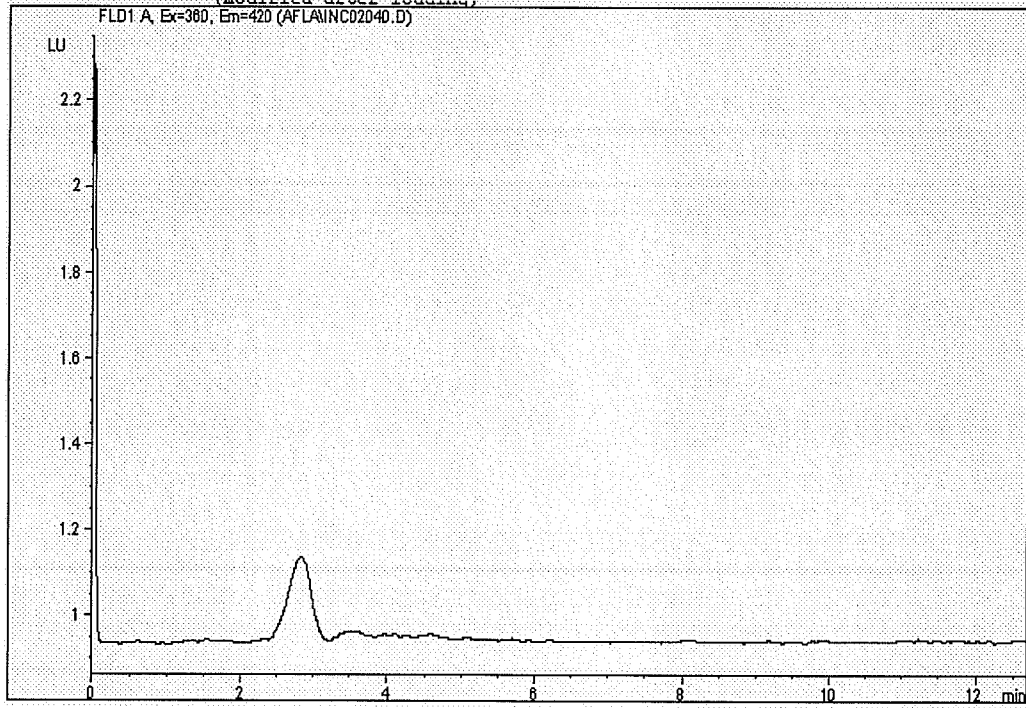
Şekil A10: 68.03 No'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



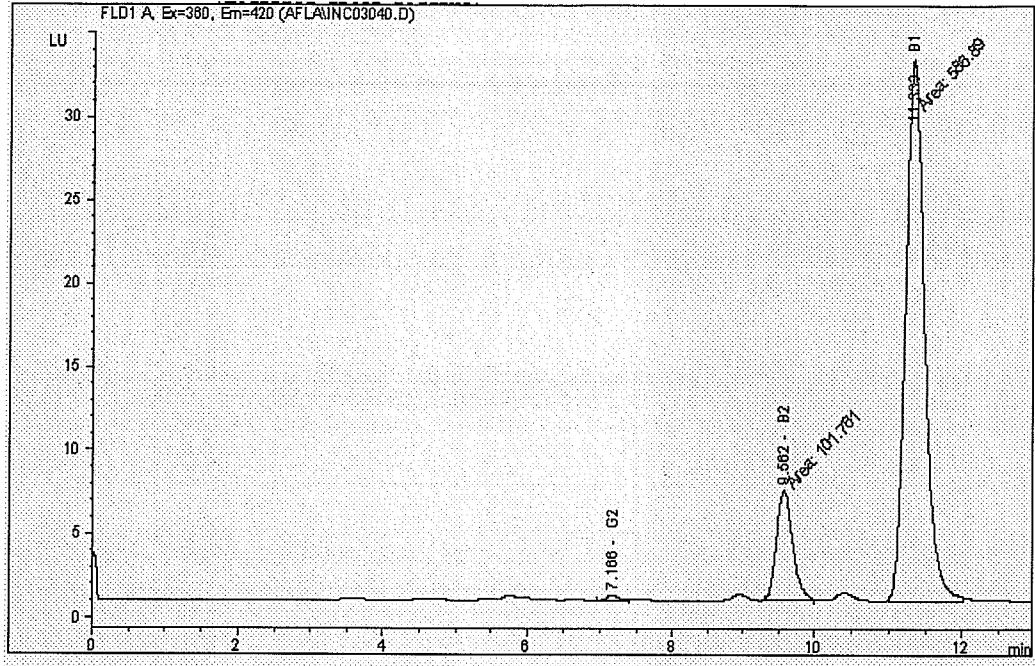
Şekil A11: 69.03 No'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



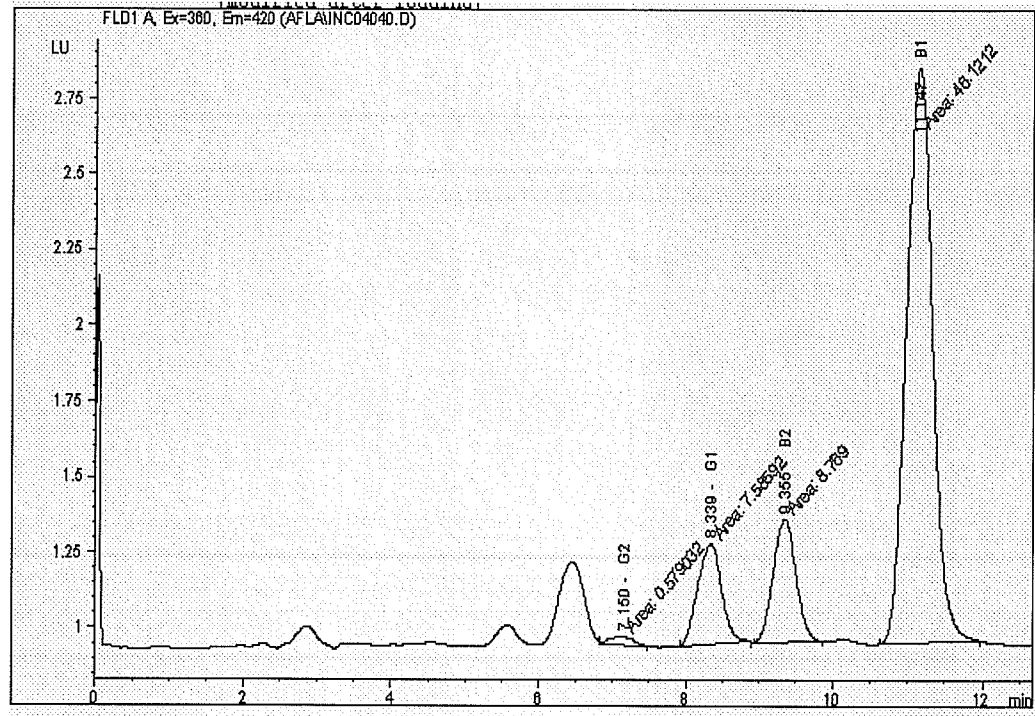
Şekil A12: 70.03 No'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



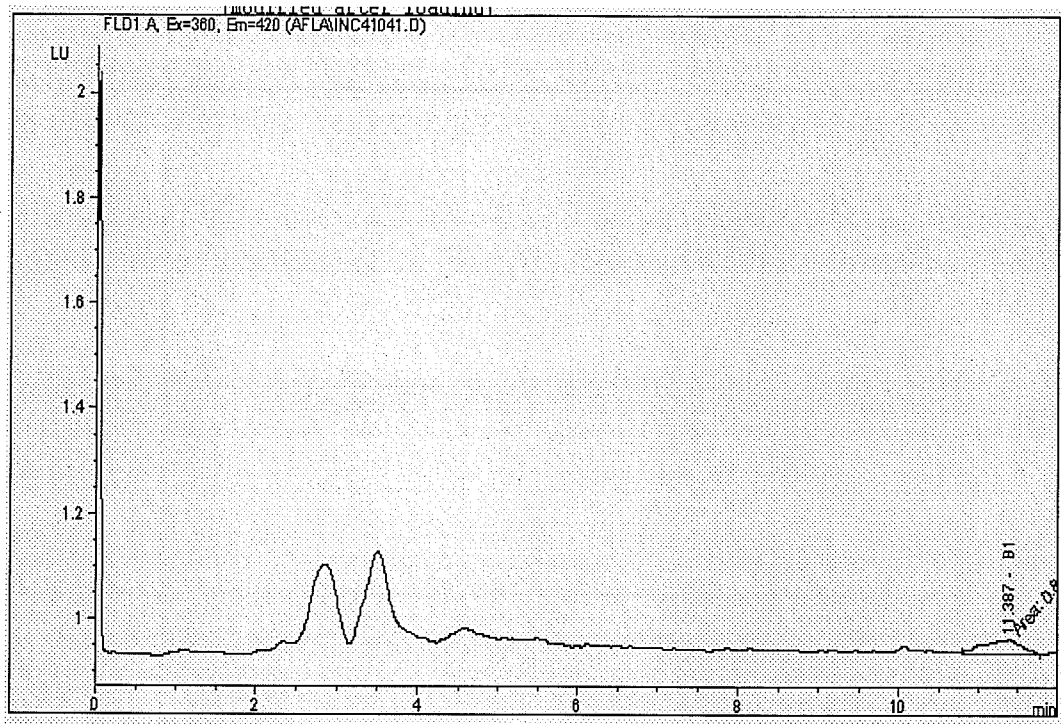
Şekil A.13: 02.04 No'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



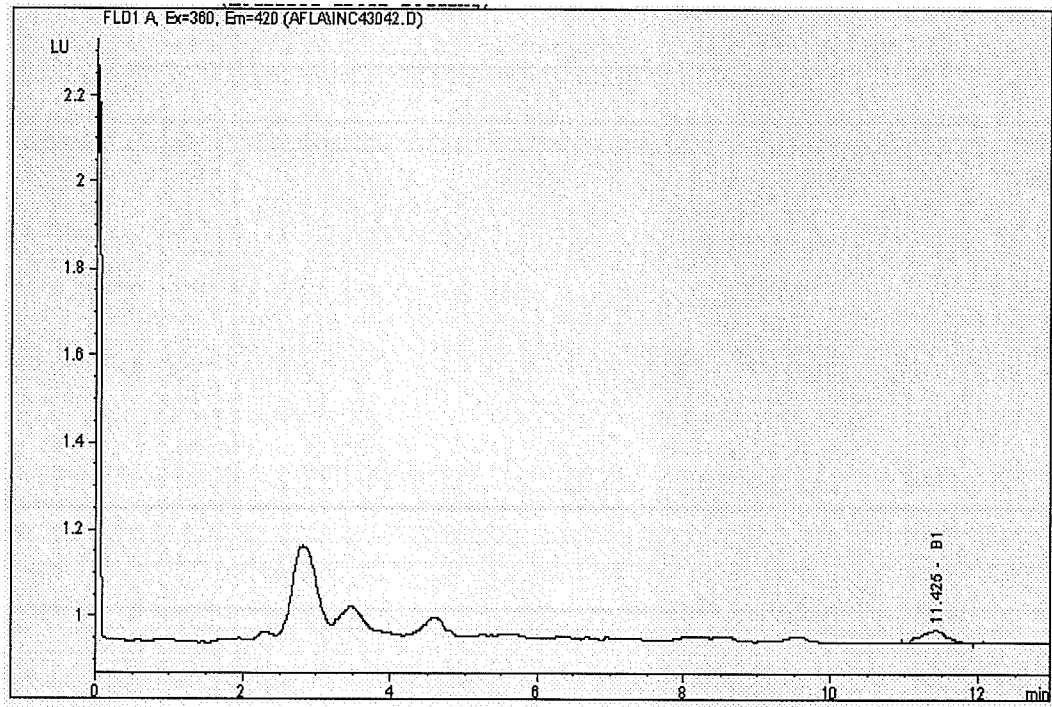
Şekil A14: 03.04 No'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



Şekil A15: 04.04 No'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı



Şekil A16: 41.04 No'lu İncir Numunesi HPLC Kromatogramı



Şekil A17: 43.04 No'lu İncir Numunesinin HPLC Kromatogramı

ÖZGEÇMİŞ

Nesrin Meçik 1975 yılında Köstence’de dünyaya geldi. Orta öğrenimini İstanbul’da 50.Yıl İnsa Lisesi’nde tamamladı. 1996’da İstanbul Üniversitesi Tıbbi Laboratuar Önlisans Programı’nı bitirdi. Anadolu Üniversitesi, Biyoloji bölümünde lisans eğitimini 2000 yılında tamamladı. 2000-2002 yılları arasında bir gıda firmasında kalite kontrol elemanı olarak çalıştı. Halen 2002 yılında girdiği İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Programında lisansüstü eğitimini sürdürmektedir. Evli ve iki çocuk annesidir.