

TÜRKİYE'DE ÜRETİLEN BAZI MEYVE SUYU VE KONSANTRESİNDE PATULİN MİKTARININ HPLC İLE BELİRLENMESİ

Mehmet AKBULUT

Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü - Konya

ÖZET

Türkiye'de üretilen 20 şeftali pulpu, 10 vişne pulpu, 22 kayısı pulpu ve 14 kayısı suyu konsantresi örneğinde HPLC ile patulin analiz edilmiştir. Vişne pulpu örneklerinin hiçbirinde patuline rastlanmamıştır. 20 adet şeftali pulpu örneklerinin sadece 8'inde patuline rastlanmıştır (3,3 µg/kg-17,5 µg/kg). 14 kayısı pulp konsantresi örneklerinin hepsinde de patuline rastlanırken (11,2 µg/kg- 17,8 µg/kg), kayısı pulpu örneklerinin sadece 7'sinde patuline rastlanmıştır (13,7 µg/kg – 23,0 µg/kg).

Anahtar Kelimeler: Patulin, Mikotoksin, Meyve Pulpu, Meyve Pulpu Konsantresi, HPLC

DETERMINATION OF PATULIN BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY IN SOME FRUIT JUICES AND CONCENTRATES PRODUCED IN TURKEY

ABSTRACT

Twenty samples of peach pulp, 10 samples of sour cherry pulp, 22 samples of apricot pulp and 14 samples of apricot juice concentrates produced in Turkey were analysed for patulin by using HPLC. Patulin was not detected in all of sour cherry samples. Only eight out of 20 of peach pulp samples were found positive (3,3 – 17,5 µg/kg). While patulin was established in all of 14 apricot pulp concentrate samples (11,2 – 17,8 µg/kg), it was detected between 13,7 and 23,0 µg/kg in only 7 out of 22 samples of apricot pulps.

Key Words: Patulin, Mycotoxin, Fruit juices, Fruit juice concentrates, HPLC

GİRİŞ

Patulin elma çürüme küfü olan *Penicillium expansum* da dahil farklı *Penicillium* ve *Aspergillus* türleri tarafından sekonder bir metabolit olarak üretilen bir mikotoksindir. Patulin bitki ve hayvan hücreleri ve dokuları için yüksek toksik etkiye sahip olduğu söylenmektedir (Stott ve Bullerman 1975, Engel ve Teuber 1984). Deri altına şırınga edilmiş patulinli deney farelerinde enjeksiyon yerlerinde tümörler üretilmiştir (Dickens ve Jones 1961). Bununla birlikte ölümcül doz altındaki dozların oral yoldan verilmiş deney farelerinde karsinojenik etkilere neden olmuştur (Oswald ve Ark. 1978). 109 hafta boyunca yaklaşık 1,5 mg/kg dozlarda farelere verilen patulin, ölüm oranını önemli ölçüde artırmıştır (Becci ve ark. 1981). Patulinin hiçbir tümörijenik etkisi gözlenmemiştir. Ama yine de birçok Avrupa ülkeleri elmalarda maksimum 50 µg/kg düzeyinde yasal bir sınır koymuşlardır (Van Egmond 1989) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) aynı sınırı tavsiye etmektedir.

Diğer yandan patulin çürümüş meyvelerle ilgili olduğu ve yalnızca kısmen işlenmeyle tahrip edilebildiği için patulin miktarı meyve suyu üretiminde hammadde olarak kullanılacak meyvelerin kaliteleri için iyi bir belirleyici olduğu düşünülmektedir.

Kontaminasyon düzeyleri genellikle düşük olmasına rağmen, farklı ülkelerde yürütülmüş çalışmalar orta-yüksek patulin varlığı ortaya çıkarmıştır (Jozefsson ve Anderson 1977, Wilson 1981, Watkins ve ark. 1990, Rovira ve ark. 1993, Prieta ve ark. 1994, Gökmen ve Acar 1996, Machinsky ve Midio 1996, Demirci ve ark. 2003). Ara sıra çok yüksek patulin konsantrasyonlarında (1000 µg/kg ya da daha fazla) bulunmuştur (Wilson ve Nuovo 1973, Lindroth ve Niskanen 1978, Wheeler ve ark. 1987, Burda 1992).

Türkiye'de kayısı ve şeftali üretimi son yıllarda önemli ölçüde artış göstermektedir. Özellikle kayısı

önemli ihraç ürünlerinden biri olmasından dolayı son derece önem kazanmaktadır. Şeftali ve kayısı taze tüketiminin yanısıra meyve suyu üretiminde de kullanılan önemli meyvelerdendir. Bu meyvelerin Türkiye'de de meyve suyuna işlenme miktarları gittikçe artmaktadır. Bu araştırma böylece meyve pulp ve konsantrelerindeki patulin varlığını araştırmak için başarılı bir şekilde yürütüldü.

MATERYAL VE METOT

Kimyasallar

Tüm kıyasallar (analitik saflıkta) Merck firmasından temin edildi. Standart patulin Sigma firmasından sağlandı.

Örnekler

Meyve pulpu ve konsantresi Türkiye'deki farklı meyve suyu fabrikalarından temin edildi. Alınan örnekler şişelenerek analiz anına kadar -30 °C'de depolandı. Meyve pulpları doğrudan, konsantreler ise analiz öncesi seyreltildi.

Kimyasal Analiz

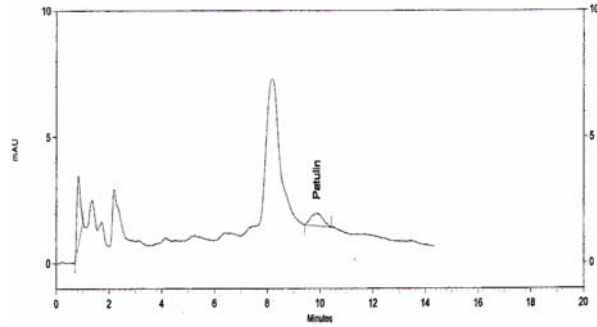
Ekstraksiyon, temizleme ve HPLC analizi MacDonald ve ark.(2000)'a göre yürütüldü. Kısaca örnekler etil asetatla ekstrakte edildi, sodyum karbonat ile saflaştırıldı ve mobil faz olarak destile su kullanıldı. Hazırlanan örnekler 272 nm UV dedektörde C18 kolonlu bir HPLC ile analiz edildi.

4'lü gradient pompa, 10 µl loplul bir rheodyne injektör, 150 x 4,6 mm Spheriosorb ODS-1 kolon (5 mm partiküllü) ve bir Shimadzu Diode Array dedektör (Model SPD-M 10 AVP) ile donatılı aynı markalı likit kromatografi kullanıldı.

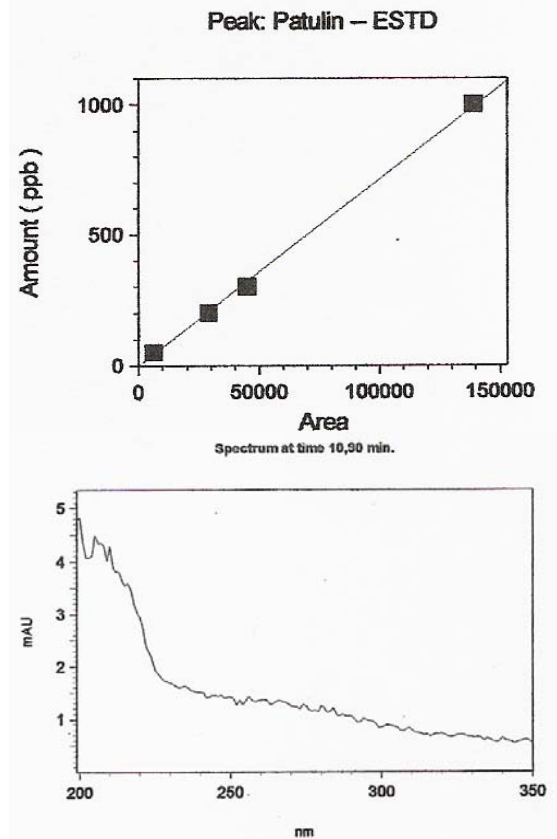
Meyve sularından alınan 10'ar ml örnek etilasetatla ekstrakte edildi ve daha sonra sodyum karbonat çözeltisi (% 1,5'lik) eşliğinde ekstraksiyonla saflaştırıldı. Ekstrakt susuz sodyum sülfat ile kurutuldu. Etilasetatın evaporasyonundan sonra patulin UV

(ultra viyole) dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile nicel olarak tesbit edildi (McDonald ve ark. 2000).

Elde edilen pik daha önce HPLC'den elde edilen standart patulin kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırılarak örnekteki patulin miktarı hesaplandı. Şekil 1'de HPLC'den alınmış bir örnek pik görülmektedir. Kalibrasyon eğrisi, 4 farklı konsantrasyonun standart çözeltilerinden 50 µl HPLC'ye injekte edilerek hazırlandı (Şekil 2.).



Şekil 1. Şeftali pulp örneğinde HPLC'den alınan patulin piki örneği



Şekil 2. Patulin standart kalibrasyon kurvesi ve 10,9 dakikada alınmış bir HPLC spektrumu

Miktar analizi pik alanlarının integrasyonuyladır. Test materyalindeki patulin miktarı kalibrasyon kurvesinden doğrudan µg/kg olarak tesbit edildi.

ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada toplam 66 örnekte (Vişne suyu 10, şeftali pulpu 20, kayısı pulpu 22 ve kayısı konsantresi 14) patulin miktarına bakılmıştır. Bu örneklerin yarısından fazlasında (39 örnek) patulin varlığı tesbit edilemedi. Patulin varlığı belirlenen 27 örnekte patulin miktarı 3,3-23,0 µg/kg arasında bulunmuştur (Çizelge 1.)

Toplam 66 meyve pulpu ve konsantresi arasında yalnızca vişne pulplarının hiçbirinde patuline rastlanmamıştır. 20 adet şeftali pulpu örneğinde sadece 8'inde rastlanan patulin seviyesi 3,3- 17,5 µg/kg arasındadır. Demirci ve ark. (2003) yaptıkları bir araştırmada 25 şeftali suyu örneğinin sadece 11'inde patulin varlığını tespit etmişlerdir ve miktar olarak 4,3-93,2 µg/kg arasında bulmuşlardır.

Bu çalışmada rastlanan en önemli olgu 22 kayısı pulpu örneğinin sadece 7 sinde patuline rastlanırken (13,7-23,0 µg/kg), 14 adet kayısı konsantresi örneğinin hepsinde de patulin varlığı tesbit edilmesidir (11,2 - 17,8 µg/kg). Demirci ve ark. (2003) yaptıkları araştırmada, 30 kayısı suyu örneğinin hiçbirinde patulin tesbit edememişlerdir. De Sylos ve Rodrigez (1999) farklı meyvelerde ve meyve sularında patulin varlığını araştırmış ve çürümüş şeftali örneklerinde 92 - 174 µg/kg arasında patulin tespit etmişlerdir.

Elde edilen sonuçlara göre patulin miktarı Türkiye'de üretilen meyve sularında bir problem oluşturmamaktadır. Meyve suyuna işlenen hammaddelerin iyi kalitede olduğu görülmektedir.

Tablo 1. Bazı meyvelerin pulp ve konsantrelerinde belirlenen patulin değerleri

| ÖRNEK | PATULIN (µg/kg) | | |
|--------------------|--------------------|------|--------------|
| | Min. | Max. | Ortalama |
| Vişne Pulpu | -* | - | - |
| Şeftali Pulpu | 3,3 | 17,5 | 3,06 ± 1,11 |
| Kayısı Pulpu | 13,7 | 22,9 | 6,10 ± 1,99 |
| Kayısı Konsantresi | 11,2 | 17,8 | 14,57 ± 0,57 |

-: Belirlenemedi

KAYNAKLAR

- Becci, P.J., Hess, F.G., Johson, W.D., Gallo, M.A., Babish, J.G., Dailey, R.E. ve Parent, R.A., 1981. Long-term carcinogenicity and toxicity studies of patulin in the rat. *J. Appl. Toxic.*, 1, 256-261.
- Burda, K., 1992. Incidence of patulin in apple, pear, and mixed fruit products marketed in new South Wales. *J. Food Protect.*, 55, 796-798.
- De Sylos, C.M. ve Rodrigez, D.B., 1999. Incidence of patulin in fruits and fruit juices marketed in Campinas, Brazil. *Food Add. Contam.*, 16(2): 71-74.
- Demirci, M., Arıcı, A. ve Gümüş, T. 2003. Presence of patulin in fruit and fruit juices produced in Turkey. *Ernährungs-Umschau*, 7: 262.
- Dickens, F. ve Jones, H.E.H., 1961. Carcinogenic activity of a series of reactive lactones and related substances. *Brt. J. Cancer*, 15, 85-92.

- Engel, G. ve Teuber, M., 1984. Patulin and other small lactones. Mycotoxins-Production, Isolation, Separation and Purification, edited by V.Betina (Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.), pp. 291-314.
- Gökmen, V. ve Acar, J., 1996. Rapid reversed-phase liquid chromatographic determination of patulin in apple juice. J. Chromatog., 730, 53-58.
- Josefsson, E. ve Anderson, A., 1977. Analysis of patulin in apple beverages sold in Sweden. Archives de L'institut Pasteur de Tunis, 54, 261-267.
- Lindroth, S.L. ve Niskanen, A., 1978. Comparison of potential patulin hazard in home-made and commercial apple products. J. Food Sci., 43, 446-448.
- Machinsky, M.J.R. ve Midio, A.F., 1996. Incidencia de patulina in jugo de manzana industrializado. Alimentaria, 33, 61-64.
- MacDonald, S., Long, M. ve Gilbert, J., 2000. Liquid chromatographic method for determination of patulin in clear and cloudy apple juices and apple puree: collaborative study. J. AOAC Int., 83(6), 1387-1394.
- Oswald, H., Frank, H.K., Komitowski, D. ve Winter, H., 1978. Long-term testing of patulin administered orally to Sprague-Dawley rats and Swiss mice. Food Cosm. Toxic., 16, 243-247.
- Prieta, J., Moreno, M.A., Diaz, S., Suarez, G. ve Dominguez, L., 1994. Survey of patulin in apple juice and children's apple food by the diphase dialysis membrane procedure. J. Agric. Food Chem., 42, 1701-1703.
- Rovira, R., Ribera, F., Sanchis, V. ve Canela, R., 1993. Improvements in the quantitation of patulin in apple juice by high-performance liquid chromatography. J. Agric. Food Chem, 41, 214-215.
- Stott, W.T. ve Bullerman, L.B., 1975. Microbiological assay of patulin, using *Bacillus megaterium*. J. Assoc. Offic. Analytic. Chem., 58, 497-499.
- Van Egmond, H. P., 1989. Current situation on regulations for mycotoxins. Overview of tolerance and status of standart methods of sampling and analysis. Food Add. Contam., 6, 139-188.
- Watkins, K.L., Fazekas, G. ve Palmer, M. V., 1990. Patulin in Australian apple juice. Food Aust., 42, 438-439.
- Wheeler, J. L., Harrison, M.A. ve Koehler, P. E., 1987. Presence and stability of patulin in pasteurized apple cider. J. Food Sci., 52, 479-480.
- Wilson, P.D. ve Nuovo, G. J., 1973. Patulin production in apples decayed by *Penicillium expansum*. Appl. Microbiol., 26, 124-125.
- Wilson, R.D., 1981. Surveying some apple juices for patulin. Food Technol. New Zealand, 16, 27-31.