

Erzurum'da Satışa Sunulan Köme (Cevizli Pestil Sucuğu) ve Kuru İncirlerin Aflatoksin İçeriklerinin Saptanması

Ahmet ERDOĞAN

Atatürk Üniversitesi Hıms Meslek Yüksek Okulu, Erzurum

Mustafa GÜRSES

Selahattin SERT

Atatürk Üniversitesi, Ziraat fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum

Geliş Tarihi : 24.07.2002

ÖZET: Bu çalışmada, bazı market ve kuruyemişçilerden temin edilen 18 köme (cevizli pestil sucuğu) ve 17 kuru incir örneği toplam aflatoksin ($B_1+B_2+G_1+G_2$) kontaminasyonu bakımından İnce tabaka kromatografi (İTK) yöntemi analiz edilmiştir. Analiz edilen 18 köme örneğinin 8'inde aflatoksin belirlenmiş ve miktarları 1,8-13,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ arasında değişmiştir. 17 incir örneğinin ise 5'inde 4,1-33,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ arasında değişen miktarlarda aflatoksine rastlanmıştır. İncelenen toplam 35 örneğin 12'sinde (%34,3) aflatoksine rastlanmış ve miktarları 1,8-33,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ arasında bulunmuştur. En yüksek aflatoksine (33,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$) bir kuru incir örneğinde rastlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Köme (cevizli pestil sucuğu), kuru incir, aflatoksin

The Study for Aflatoxin Contamination of Köme (Dried Fruit Pulp Sausage with Walnut) and Dry Fig Samples Sold in Erzurum, Turkey

ABSTRACT: In this research, 18 köme (dried fruit pulp sausage with walnut) samples and 17 dry fig samples sold in some retail markets were analyzed for the total aflatoxin ($B_1 + B_2 + G_1 + G_2$) using Thin layer chromatography (TLC) method. It was determined that 8 of köme samples, and 5 of dry fig samples contained aflatoxins. The presence of total aflatoxin was detected in concentrations ranging between 3.5 and 33.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of dry fruits. The very high level of the total aflatoxin (33.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$) was determined in a sample of dry figs.

Key words: Köme (dried fruit pulp sausage with walnut), dry fig, aflatoxin

GİRİŞ

Gıdaların çeşitli küflerle bulaşması ürünün fiziksel ve kimyasal özellikleri yanında görünüşünü de değiştirebilmekte ve toksin oluşturucu küflerin üremesi sonucu mikotoksin adı verilen çeşitli metabolitler oluşabilmektedir. Bu durum, ekonomik kayıplara neden olduğu gibi, insan sağlığı açısından da potansiyel bir tehlike oluşturmaktadır.

Mikotoksinlerin en etkili grubunu aflatoksinler oluşturmaktadır (Kim ve Lee, 1996; Gürses et al., 2001). Gerçekte çok sayıda araştırmacı, aflatoksinlerin yüksek düzeyde toksik olduğunu bildirmektedir (Whyllie ve Morehouse, 1977; Topal, 1986; El-Cazzar ve Marth, 1988; Sert, 1984). Aflatoksinler, genellikle *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) ve *A. parasiticus* türü küflerin toksin oluşturma yeteneğine sahip suşları tarafından üretilmektedir (Gourama ve Bullerman, 1995; Richard ve ark., 1993; Gürses, 1997).

İnsanlar, mikotoksin üreten *Aspergillus* türleriyle bulaşan çeşitli gıdaları tüketmeleri sonucu, sağlık yönünden olumsuz yönde etkilenebilmektedirler. Gerçekten de bazı Güneydoğu Asya ve Afrika ülkesinde artan akciğer kanseri vakaları ile, aflatoksinlerle bulaşık gıdalar arasındaki pozitif korelasyon, aflatoksinlerin insan sağlığını ne derece tehdit edebileceğini açıkça göstermektedir (Samarajeewa ve ark., 1990; Celestin ve Bullerman, 1996).

Kuru incir, ülkemiz ihracatında önemli bir yere sahiptir. İthalatçı ülkelerin aflatoksinlerle ilgili sınırlamaları, zaman zaman ihraç edilen ürünlerin geri gönderilmesine neden olmakta ve bu durum ülkemiz açısından ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Örneğin, 1973 yılında Danimarka'ya ihraç edilen kuru incirlerin aflatoksinli olduğu gerekçesiyle ülkemiz ihracatçıları uyarılmış ve aynı gerekçeyle 1976'da ABD'ye ihraç edilen incirlerden 3 parti geri döndürülmüştür (Gönül ve Boyacıoğlu, 1985). Bu durum dikkate alınarak, Erzurum Yöresinde satılan kuru incirlerde de böyle bir sorvey çalışmasının yapılması durum değerlendirmesi açısından yararlı görülmüştür.

Köme, ülkemizin daha ziyade doğu bölgelerinde üretilmekte ve sevilerek tüketilmektedir. Standart bir üretim tekniğinin olmaması ve iç kısmına konulan ceviz içinin zamanla küflenmesi ya da küflü olarak işlemede kullanılmasından dolayı kömede sıklıkla küflenme görülebilmektedir. Diğer taraftan üründeki küflenmenin ceviz içi kısmında olması ve bunun da ancak kesit alındığında görülebilmesi, tüketici açısından çeşitli sakıncalar doğurmaktadır. Özellikle, sağlık riski göz önünde bulundurularak, bu ürün üzerinde aflatoksin oluşup oluşmadığı belirlenmeye çalışılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışmada, 2001 yılı içerisinde Erzurum piyasasından değişik market ve kuru yemişçilerden temin edilen 17 kuru incir ve 11 köme örneği ile 3'ü Elazığ ve 4'ü de Gümüşhane ilinden alınan 7 köme örneği materyal olarak kullanılmıştır. Araştırma iki paralelli olarak yürütülmüş ve sonuçlar iki paralelin ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

Yöntem

Kömede Aflatoksin Analizi

Aflatoksin analizinde Majerus ve Zakaria (1992) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Bu yönteme göre, köme örnekleri blenderde (Waring) 2 dak. parçalandıktan sonra, 25 g analiz örneği alınmıştır. Analiz örnekleri, 250 ml'lik erlenmayere aktarılmış ve üzerine 100 ml metanol/su (85/15) karışımı ilave edilip, ağız sıkıca kapatılarak, mekanik karıştırıcıda (Elektro-meg M 22) 30 dak. kuvvetlice çalkalanmıştır. Karışım süzgeç kâğıdından süzülerek, 100 ml'lik bir ölçü silindirene 50 ml özüt alınmış ve daha sonra 250 ml'lik bir ayırma hunisine aktarılmıştır. Üzerine 50 ml %10'luk sodyum klorür çözeltisi ve 25 ml hekzan ilave edilerek, 1 dak. süreyle çalkalanmıştır. Çalkalanma sonrası alt faz alınmış ve tekrar 250 ml'lik bir ayırma hunisine aktarılmıştır. Aflatoksinler 25 ml'lik iki kısım halinde metilen diklorür çözücüsü ile sulu fazdan özütlenerek 1 dak. çalkalanmıştır. Metilen diklorür fazı, üzerinde yaklaşık 5 g susuz sodyum sülfat bulunan bir filtre kâğıdından (Whatman No 1), 100 ml'lik bir balona süzülüş, elde edilen özüt döner buharlaştırıcıda (Heidolph-5111) kuruyuncaya kadar buharlaştırılmıştır.

Özütün saflaştırılması için, 150x10 mm boyutlarında cam kolonlar kullanılmıştır. Kolonun dip kısmına önce sıkı bir şekilde cam yünü konulmuş, üzerine sırasıyla 0,5 g susuz sodyum sülfat, 0,5 g aktifleştirilmiş silika jel 60 (Merck, No 7734) ve 0,5 g susuz sodyum sülfat doldurulmuş ve ucu körletilmiş bir cam çubukla iyice sıkıştırılmıştır. Daha sonra kuru özüt 3 ml metilen diklorür içerisinde çözüldürülerek kolona aktarılmıştır. Örnek şişesi yeniden iki kısım halinde 1'er ml metilen diklorür ile yıkanıp tekrar kolana ilave edilmiştir. Kolon 3 ml hekzan, 3 ml susuz dietileter ve 3 ml metilen diklorür ile yıkanmıştır. Kolonun altına 10 ml'lik erlenmayerler yerleştirilmiş ve aflatoksinler iki kısım halinde 3 ml kloroform/aseton (90/10) karışımı ile elüe edilmiştir. Elde edilen özüt döner buharlaştırıcıda kuruyuncaya kadar buharlaştırılmış ve ince tabaka kromatografi için 1 ml metilen diklorür içerisinde çözüldürülmüştür. İnce tabaka kromatografide hazır plakalar (Aldrich, Cat No. Z 12, 277-7, genel amaçlı, polyeater üzerine silica gel kaplı, 20x20 cm) kullanılmıştır.

İnce tabaka kromatografi için kullanılan aflatoksin standartları Anon. (1975)'a göre spektrofotometre (Shimadzu UV-160) kullanılarak hazırlanmıştır. Küçük şişelerde 2 ml olarak hazırlanan standartlar, alüminyum folyoya sarılarak buzlukta muhafaza edilmiştir.

Standart ve özütleri içeren küçük şişeler, buzdolabından çıkarılıp oda sıcaklığına gelinceye kadar beklenmiştir. Daha sonra homojen hale gelinceye kadar 1-2 dak çalkalandıktan sonra, mikroşırınga (Hamilton) ile İTK plakasına tatbik edilmiştir. 40 µl örnek özütü, 10, 20 ve 40 µl aflatoksin standardı ile yanyana olacak şekilde, plakanın alt ucundan 130 mm mesafede, 1,5 cm aralıkla enjekte edilmiştir. Hazırlanan plakalar ilk olarak, içerisinde dietileter bulunan bir geliştirme tankına alınıp birinci yönde geliştirilmiş ve tanktan çıkarılıp karanlık bir odada dietileter uçurularak uzun dalga UV ışınları (365 nm) (Camag 29200) altında incelenmiştir. Daha sonra plaka 180 derece döndürülerek, kloroform/aseton (90/10) karışımı içerisinde ikinci yönde bir geliştirme işlemine bırakılmıştır. Yaklaşık olarak 1 saatlik bir geliştirme işleminden sonra, çıkarılıp karanlıkta kurutularak UV ışıkta floresans durumu tekrar incelenmiştir. Standart ile aynı R_f değerinde mavi-yeşil lekelerin varlığı aranarak, bu lekelerin aflatoksin olup olmadığını anlamak için üzerlerine %25'lik sülfürik asit püskürtülmüştür. Püskürtme ile rengin sarıya dönüp dönmediği kontrol edilmiştir. Rengin sarıya dönme durumu aflatoksin pozitif, dönüşüm yoksa da aflatoksin negatif olarak kabul edilmiştir (Sert, 1984). Aflatoksin B_1 , B_2 , G_1 ve G_2 miktarları Anon. (1975)'da belirtildiği gibi (Aflatoksin konsantrasyonu ($\mu\text{g}/\text{kg}$)= $SxYxV / WxZ$ (S: Bilinmeyene eşdeğer aflatoksin standardı (μl), Y: Aflatoksin standardının konsantrasyonu ($\mu\text{g}/\text{ml}$), V: Örnek özütünün son seyreltilmiş hacim (μl), W: Son özüte eşdeğer örnek miktarı (g), Z: Plakada aflatoksin miktarına eşit floresans veren örnek miktarı (μl)) formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

Kuru İncirde Aflatoksin Analizi

Kuru incirlerde aflatoksinlerin özütlenmesi ve saflaştırılmasında Anon (1996)'da belirtilen yöntem esas alınmıştır. Bu amaçla, 80 g örnek blendere alınmış ve üzerine 200 ml metanol ve 20 ml su ilave edilerek 3 dak. karıştırılmıştır. Karışıma 60 ml su ilave edilerek 3 dak. daha bir karıştırma yapılmıştır. Karışımın 70 ml'si adi süzgeç kâğıdından 250 ml'lik ayırma hunisine aktarılmış ve 90 ml metilen diklorür ve 20 ml su katılarak 2 dak. şiddetlice çalkalanarak fazların ayrılması için beklenmiştir. Metilen diklorür fazı (alt faz), üzerinde bir miktar susuz sodyum sülfat bulunan Whatman No 1 kâğıdından bir balona süzdürülmüş ve 40°C'de kuruluğa yakın buharlaştırılmıştır. Balon içeriği, 3-5 ml metilen

diklorür ile birkaç defa yıkanıp, küçük bir şişeye (5 ml'lik koyu renkli) aktarılarak azot gazı altında kurutulmuş ve ince tabaka kromatografi işlemine kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.

İnce tabaka kromatografi, Majerus ve Zakaria (1992)'nın belirttiği şekilde hazır plakalar kullanılarak uygulanmıştır. Aflatoksin miktarları ise Anon. (1975)'de belirtildiği gibi hesaplanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışma süresince 11'i Erzurum 4'ü Gümüşhane ve 3'ü de Elazığ ilinden olmak üzere toplam 18 adet köme ve 17 adet kuru incir örneğinde aflatoksin analizi yapılmış ve örneklerde belirlenen toplam aflatoksin miktarları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1'den de görüleceği gibi 18 köme örneğinin 8'inde aflatoksin rastlanmıştır. Erzurum'dan alınan 11 örneğin 4'ünde (%36,4), Elazığ'dan temin edilen 3 örneğin 2'sinde (% 66,7) ve Gümüşhane'den temin edilen 4 örneğin de 2'sinde (%50) aflatoksin tespit edilmiştir. Erzurum'dan alınan köme örneklerinde belirlenen toplam aflatoksin miktarları 3,5-12,5 µg/kg (µg/kg), Elazığ'dan alınanlarda 7,6-13,2 ve Gümüşhane'den alınan 2 köme örneğinde ise 1,8-10,1 µg/kg arasında bulunmuştur. Analize tabi tutulan köme örneklerinin sağlık açısından çokta fazla bir risk oluşturabilecek seviyede aflatoksin içermediği görülmüştür. Ancak, bu durum iç piyasada satılan kömelerin tüketiminin sağlık riski oluşturmayacağı anlamına gelmez. Nitekim, aflatoksinler vücutta özellikle karaciğerde birikmekte ve bu kümülatif birikim neticesinde zamanla çeşitli sağlık problemleri ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle, özellikle üretim aşamasında, taze ve küfsüz ceviziçi kullanılarak kömede aflatoksin oluşumu önemli ölçüde engellenebilir. Yine üretilen kömelerin vakum ambalajlı olarak piyasaya sunulması küf gelişmesini azaltacağından aflatoksin oluşumunu da kontrol altına alabilir.

Yine Tablo 1'den de görüldüğü gibi, 17 incir örneğinin ise 5'inde (%29,4) aflatoksin rastlanmış ve toplam aflatoksin miktarları 4,1-33,9 µg/kg arasında değişmiştir. Kuru incirlerde aflatoksin oluşumu ile ilgili olarak yapılan bir çok sörveyde de incirde aflatoksijenik küf gelişimi ve aflatoksin oluşumuna sıkça rastlanılmaktadır. Aşkın (1976) yaptığı çalışmada incir örneklerinden 138 küf izole etmiş ve izolatların büyük bir kısmını *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsi küflerin oluşturduğunu ve *Aspergillus* izolatlarından 12'sinin aflatoksin oluşturduğunu ifade etmiştir. İsviçre'de yapılan bir çalışmada ise Türkiye'den ithal edilen kuru incirlerde %28 oranında ve 0,1-0,3 µg/kg arasında değişen miktarlarda aflatoksin B₁ bulunmuştur. Almanya'da yapılan başka bir çalışmada kuru incirlerde %10 oranında ve ortalama 13,4 µg/kg düzeyinde aflatoksin rastlanmıştır. Yine Türkiye'de 1990-1994 yılları arasında yapılan bir sörveyde analiz edilen kuru incirlerin %17,4'ünün aflatoksinlerle bulaşık olduğu olduğu belirlenmiştir (Tunail 2000).

Bizim çalışmamızda bir kuru incir örneğinde belirlediğimiz 33,9 µg/kg'lık değer Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen 10 ppb'lik (10 µg/kg) sınır değerinden oldukça üzerinde olduğu görülmektedir (Anon., 2001). Bu da kuru incirlerin gerekli önlemler alınmadığı takdirde toksik küflerle bulaşabileceğini ve kuvvetli kanserojen bir madde olan aflatoksinlerin üründe yüksek seviyelere çıkabileceğini göstermektedir. Bu nedenle ihracatımızda önemli bir yere sahip olan kuru incirin üretimi aşamasında, özellikle kurutulması sırasında küf bulaşması ve gelişmesinin önlenmesi ve piyasaya sunulmadan önce antifungal maddelerle muamele edilerek ambalajlanması, aflatoksin riskini azaltacağı gibi meydana gelebilecek ekonomik kayıpları da ortadan kaldırmış olacaktır. Ayrıca, piyasada satılan kuru incirlerin küflü ve rengi bozuk olanlarının tüketiciler tarafından alınmaması, varsa böyle ürünlerin satıştan alıkonulması tüketici sağlığının korunması açısından vurgulanması gerekli görülmüştür.

Tablo 1. Köme ve Kuru İncir Örneklerinde Belirlenen Toplam Aflatoksin (B₁+B₂+G₁+G₂) Miktarları

Kuru Meyve Tipi	Numune Sayısı			Kontaminasyon (µg/kg)	
	Test Edilen	Negatif	Pozitif	Miktar ^b	Seviye
Köme (Erzurum)	11	7	4 (%36,4) ^a	8,8	3,5-12,5
Köme (Gümüşhane)	2	2	2 (%50)	5,9	1,8-10,1
Köme (Elazığ)	3	1	2 (%66,7)	10,4	7,6-13,2
Kuru İncir	17	12	5 (%29,4)	13,9	4,1-33,9
Toplam	35	34	12 (%34,3)		3,5-33,9

^a: Pozitif numunelerin yüzdesi, ^b:Pozitif numunelerin ortalama aflatoksin değerleri

KAYNAKLAR

- Anonim, 1996. Gıdalarda mikotoksin tayini (I. Mütalaa, 11962016, ICS 67.220.20). Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Cad. No: 112, Bakanlıklar, Ankara.
- Anonim, 2001. Mikrobiyal Toksinler (Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (Ek-14)). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Anonymous, 1975. Natural Poisons. Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemists, pp.462-482, Washington, DC.
- Aşkın O., 1976. İncirlerde aflatoksin teşekkülü üzerinde araştırmalar (İhtisas tezi). Ankara Üniv. Ziraat Fak., Ankara (yayınlanmamış).
- Celestin, M., Bullerman, L. B., 1996. Molds and mycotoxin in foods from Burundi. J. Food Prot., 59 (8): 869-875.
- El-Cazzar, F. E., Marth, E. H., 1988. Role of hydrogen peroxide in the prevention of growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. J. Food Prot., 51 (4): 263-268.
- Gourama, H., Bullerman, L. B., 1995. *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*: aflatoxigenic fungi of concern in foods and seeds. J. Food Prot., 58 (12), 1395-1404.
- Gönül, M., Boyacıoğlu, D., 1985. Türkiye'de aflatoksin çalışmaları. Ege Üniv. Müh. Fak. Der., 3 (1): 127-135.
- Gürses, M., 1997. Farklı depolama şartlarının fındıkta aflatoksin oluşumuna etkileri (Yüksek lisans tezi). Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Gürses, M., Erdoğan, A., Türkoğlu, H., Sert, S., 2001. The effects of storage period and relative humidity on Tombul type hazelnut produced in Turkey. P. J. Biological Sci. 4, 858-860.
- Kim, J. G., Lee, Y., 1996. Grain development and AFB₁ accumulation in preharvest rice inoculated with *Aspergillus parasiticus*. J. Food Prot., 59 (2): 1318-1321.
- Majerus, P., Zakaria, Z., 1992. A rapid, sensitive and economic method for the detection, quantification and confirmation of aflatoxins. Z. Lebensm. Unters-forsch., 195: 316-319.
- Richard, J. L., Bennet, G. A., Ross, P. F., Nelson, P. E., 1993. Analysis of naturally occurring mycotoxins in feedstuffs and food. J. Anim. Sci., 71: 2563-2574.
- Samarajeewa, U., Sen, A. C., Cohen, M. D., Wei, C. I., 1990. Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. J. Food Prot., 53 (6): 489-501.
- Sert, S., 1984. Bazı karma yem ve karma yem hammaddelerinin aflatoksin yönünden araştırılması. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ziraat Der., 15 (3-4): 55-63.
- Sert, S., 1985. Mikotoksin üretimine tesir eden faktörler. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ziraat Der., 16 (1-4), 147-157.
- Topal, Ş., 1986. Gıdalarda bulunan önemli toksik küfler ve sağlık açısından değerlendirilmesi. Gıda, 11 (6): 345-348.
- Tunail, N., 2000. Mikrobiyal enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyoloji Uygulamaları (Genişletilmiş 2. Baskı). Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Bölümü, 151s, Ankara.
- Whyllie, T. D., Morehouse L. G., 1977. Mycotoxic Fungi and Chemistry of Mycotoxins. Mycotoxic fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses, Marcel Dekker Inc, 1, pp. 131-135, New York and Basel.