

Kırmızı Toz Biberlerde Aflatoksin

Canan DOKUZLU*

Geliş Tarihi: 21.04.2000

Özet: Bu çalışmada 30 adet kırmızı toz biberde aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ analizleri yapıldı. İnce tabaka kromatografi ve yarınicel hesaplama yöntemi ile analiz edilen numunelerin %46.66'sında değişik konsantrasyonlarda aflatoksin saptandı.

30 adet kırmızı toz biber örneğinin 13 tanesinde B₁, 1 tanesinde B₁+ G₁ tespit edilmiştir. Örneklerde aflatoksin B₁ miktarı 5-25 ppb, G₁ miktarı 15 ppb bulunmuştur. Aflatoksin B₂ ve G₂'ye rastlanmamıştır.

Sonuç olarak kırmızı toz biberlerin büyük bir bölümünde aflatoksinlerle bir kirlenmenin söz konusu olduğu ve bunun insan sağlığı açısından potansiyel risk olacağı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Mikotoksin, aflatoksin, kırmızı toz biber.

Aflatoxin in Red Pepper

Summary: In this study, aflatoxin, B₁, B₂, G₁ and G₂ were analyzed in 30 red pepper. 46.66% of samples, different concentration aflatoxins were determined using thin layer chromatographic and semi-quantitative procedure.

13 red pepper samples B₁ and 1 red pepper sample B₁+ G₁ to be aflatoxin in 30 red pepper samples. Levels of aflatoxin 5-25 ppb B₁ and 15 ppb G₁ were found in samples. Aflatoxin B₂ and G₂ were not found.

As a result, the aflatoxin in red pepper are present and they may have some potential risks for human.

Key Words: Mycotoxin, aflatoxin, red pepper.

Giriş

Gıda maddeleri, gerek doğal florasında bulunan, gerekse sonradan yetersiz hijyenik şartlar nedeniyle bulaşabilen mikroorganizmalar tarafından, koşullar uygun olduğu takdirde bazı değişikliklere uğrar. Bu değişikliklerin büyük bir kısmını da küfler oluşturur. Küflü besinlerin tüketilmesi de halk sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir^{6,10}.

Bu küfler insanlar ve hayvanlar üzerinde kanserojenik, mutajenik, teratojenik ve zehirli etkilere sahip kimyasal maddeler üretme

yeteneğindedirler. Bu maddeler mikotoksinlerdir. Mikotoksinler, kimyasal isimleri ile adlandırılabilen gibi (deoksinivalenol), ismi onu üreten küften de türetilir (Aflatoksin)²⁴.

Ülkemizde baharat olarak severek tüketilen kırmızı pul ve toz biberlerin üretiminde kullanılan biberler, koyu kırmızı renkli, tadı, acı, az acı veya tatlı, şekli, konik veya uzun ve kuru maddesi yüksektir⁵.

Kırmızı biber üretimi oldukça ilkel şartlarda yapılmaktadır. Tarladan toplanan kırmızı biberler küçük parçalara ayrıldıktan sonra toprak üzerinde kurutulur ve daha sonra

* Dr. Öğr. Gör.; U.Ü. Karacabey M.Y.O., Bursa.

değirmenlerde toz haline getirilir. Naylon ve bez çuvallarda toptancılara satılır. Bu nedenle de, kırmızı biberlere toprak kökenli toksikojenik küf kontami-nasyonuna ve toksin oluşumuna çok sık rastlanır²⁵.

Yapılan çalışmalar Capsicum cinsinde yer alan kırmızı biber türlerinin kanserojen ve teratojen etkileri olan aflatoksin ve okratoksin gibi küf metabolitleri oluşumu yönünden riskli ürünler arasında bulunduğunu göstermektedir. Kırmızı biberde küf kontaminasyonu bitki üzerinde iken başlamakta ve hasada kadar geçen süre içerisinde ve daha sonra kurutma sırasında küf gelişimi ve toksin oluşumu devam etmektedir. Aflatoksin oluşumunun henüz biber dalında iken başladığı saptanmıştır²³.

Tarım ürünlerindeki aflatoksinler en zehirli mikotoksinlerdir ve son yılların en önemli mikrobiyolojik sorunlarından⁸.

1994 yılında, Almanya ve İsviçre'ye ihraç edilen k. biberlerde aflatoksin bulunmuştur. Bu konuyla ilgili 16.01.1995 tarihinde ilgili kuruluşların katılımıyla, Tarım ve Köyişleri Bakanlığında bir toplantı yapılmıştır. İhraç edilen k. biberlerde zorunlu olarak aflatoksin kontrolünün yapılmasına karar verilmiştir⁶.

Aflatoksinler, Aspergillus flavus grubu olarak bilinen Aspergillus flavus ve Aspergillus parasiticus türlerinin metabolitleridir. Aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂'nin deney hayvanları üzerinde akut toksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak aflatoksinlerin akut toksik etkiden çok kanserojenik özellikleri vardır. Hayvan denemelerinde özellikle aflatoksin B₁'in karaciğer kanserine yol açtığı saptanmıştır. Düzenli olarak aflatoksin içeren gıdaları tüketen insanların karaciğerlerinde sıklıkla tümörlere rastlandığı ve deney hayvanları üzerinde yapılan denemelerde aflatoksinlerin mutajenik ve teratojenik etkiye sahip olduklarının saptandığı bildirilmektedir^{20,7}.

ABD'de yaşayan karaciğer ve rektum karsinomalı bir yetişkin erkeğin karaciğer biyopsisinde 520 ppb aflatoksin B₁ belirlenmiştir¹⁸.

İnsan lökositleri aflatoksinler ile inkübe edildiklerinde aflatoksinlerin lökositlerin parçalanmalarına neden olmuşlardır¹¹.

Aflatoksinlerin insanlar üzerinde toksiteye neden olacak dozu henüz bilinmemektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Besin ve Tarım Örgütü (FAO) besin maddelerinde bulunabilecek

en yüksek aflatoksin miktarlarını 30 ppb olarak belirlemişlerdir¹².

Ülkemizde de baharatlarda en yüksek kabul edilebilir değer, aflatoksin B₁ için 5 ppb, toplam aflatoksin miktarı ise 10 ppb olarak belirlenmiştir².

Materyal Metod

Çalışmada Bursa İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğüne kontrol ve özel istek üzerine gelen 30 adet kırmızı toz biber örneği kullanılmıştır.

Örneklerde aflatoksin analizi AOAC'ın CB yöntemi ile yapılmıştır³.

Metoda göre örnekler kloroform ile ekstrakte edildikten sonra, kolon kromatografisine uygulanmıştır. Bu şekilde temizlenen ekstrat kuruyana kadar döner buharlaştırıcıda uçurulmuş ve ekstrat 2-3 ml kadar kloroformla yıkanarak vialde alınmıştır. Vialdeki kloroform azot gazı akımı altında su banyosunda uçurularak, ağzı sıkıca kapatıldıktan sonra ince tabaka kromatografisi işlemine kadar derin dondurucuda bekletilmiştir.

İşleme başlanacağı zaman vial bir süre oda sıcaklığında bırakılmıştır. 200 µl benzen-asetonitril (98+2) karışımıyla sulandırılarak, ince tabaka plakalarına uygulandıktan sonra, developman tankında developpe edilmiştir. Uzun dalga U.V. lambasında %25'lik H₂SO₄ ile doğrulama testine tabi tutulan numunelerdeki aflatoksin miktarları, çalışma standart çözeltileri ile karşılaştırmak suretiyle yarı-nicel olarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\mu \text{ g/kg (ppb)} = \frac{S \cdot Y \cdot V}{E \cdot M} \quad (1)$$

S= Bilinmeyene eşdeğer olan aflatoksin B₁ standardı (µl)

Y= Aflatoksin B₁ standardının konsantrasyonu (ppb/µl)

V= Örnek ekstraktının son seyreltildiği hacim (µl)

E= S'ye (B₁ standardına) eşdeğer miktarda flouresans yoğunluk gösteren örnek beneği için tatbik edilen örnek ekstratı (µl)

M= Vialdeki ekstrakta eşdeğer olan örnek (g)

Bulgular

Analize alınan numunelerde Tablo I de görüldüğü gibi 14 adet kırmızı toz biberde 5-25 ppb oranlarında aflatoksin B₁ bulunmuştur. Bunlardan sadece birinde aflatoksin B₁ ile birlikte aflatoksin G₁'de tespit edilmiştir.

Tablo I. Aflatoksin saptanan kırmızı toz biberlerdeki aflatoksin çeşitleri ve düzeyleri

Numuneler	Aflatoksin B ₁ ppb	Aflatoksin B ₂ ppb	Aflatoksin G ₁ ppb	Aflatoksin G ₂ ppb
1	5	-	15	-
2	10	-	-	-
3	25	-	-	-
4	10	-	-	-
5	20	-	-	-
6	10	-	-	-
7	20	-	-	-
8	10	-	-	-
9	20	-	-	-
10	20	-	-	-
11	5	-	-	-
12	10	-	-	-
13	20	-	-	-
14	5	-	-	-

Tartışma ve Sonuç

Kırmızı biberler aflatoksin oluşumuna en elverişli biberlerdir^{9,17}.

Bu biberlerin kurutma işlemi ilkel şartlarda ve özellikle toprak üzerinde yapılmakta, kuruyan biberler ise yerden süpürülerek toplanmaktadır. Bu işlem, biberlerin toprak kökenli toksikojenik küflerle bulaşma ihtimalini arttırmaktadır. Özellikle A. flavus tropikal ve subtropikal iklim bölgelerinde yetişen tarım ürünlerinde problem yaratmaktadır.

Araştırmacılar küflerin toksin oluşturduktan sonra, ortam şartları uygun olmadığı hallerde varlıklarını sürdürmeyeceğini, ancak toksinlerin üründe kalabileceğini belirtmişlerdir²².

Ülkemizde yapılan bir çalışmada, 33 adet taze, 33 adet kuru, 31 adet toz, ve 30 adet pul kırmızı biber olmak üzere toplam 127 kırmızı biber örneği incelenmiştir. 127 adet kırmızı biber örneğinin 83 tanesinde aflatoksin B₁, 2 tanesinde hem aflatoksin B₁ hem de aflatoksin B₂ oluşumu belirmiştir. 31 adet kırmızı toz biber örneğinin 28 tanesinde aflatoksin B₁ bulunmuş, 3 tanesinde ise aflatoksine rastlanmamıştır. Örneklerdeki aflatok-

sin B₁ miktarı 0 - 28.5 ppb arasında değişmektedir. Aflatoksin bulunma oranı ise %90.30 olarak bulunmuştur²¹.

Bursa ve Sakarya yöresinde parçalanarak kurutulan kırmızı toz biberlerde yapılan bir çalışmada ise 34 adet kırmızı toz biber örneğinden, 8 tanesinde aflatoksin B₁ bulunmuştur. Aflatoksin bulunma oranı %23.5'tir. Örneklerde aflatoksin B₁ miktarı ise 0 - 15 ppb arasında değişmektedir²⁵.

Etiyopya'da yapılan çalışmada, depolardan, perakende satış yerlerinden, marketlerden alınan 60 kırmızı biber örneğinin 13 tanesinde aflatoksine rastlanmıştır¹⁴.

İngiltere'de yapılan çalışmada aralarında kırmızı toz biberinde bulunduğu 157 baharat örneğinin %95'inde 10 ppb düzeyinde 9 tanesinde yüksek miktarda toplam aflatoksin tespit edilmiştir¹⁶.

2 kırmızı biber çeşidi üzerinde yapılan bir başka çalışmada doğal şartlarda kurutulan Capsicum annum ve capsicum frutescens'in kimyasal kompozisyonları, aflatoksin düzeyleri ve küf miktarları karşılaştırılmıştır. Bunlardan C. annum'da aflatoksine rastlanmamıştır. Her iki biber çeşidinde de Rhizopus oryzae, Aspergillus niger, A. flavus, Geotrichum candidum ve Saccharomyces spp. dominant flora olarak tespit edilmiştir¹.

Capsicum annum ve Capsicum frutescens türü kuru biber örnekleri üzerinde yapılan bir başka çalışmada, biber örneklerinin yüzeyinde zedelenme ve küf gelişmesi gözlenmezken, iç kısımlarda A. flavus bulaşmasının fazla olduğu, bunun gözle görülmediği ancak mikrobiyolojik analizlerle belirlendiği bildirilmiştir^{19,15}.

Bu çalışmada da 30 adet kırmızı toz biber örneğinin 13 tanesinde aflatoksin B₁, bir tanesinde de hem aflatoksin B₁ hem de aflatoksin G₁ tespit edilmiştir.

Tropikal iklim bölgelerinde baharatlara çevre şartlarına bağlı olarak küfler bulaşabilmektedir. Doğal kurutma şartları ise bu bulaşma ve toksin oluşumunun derecesini belirleyebilir. Bu verilere dayanarak biber örneklerinin ilkel şartlarda toprakta doğal kurutmaya bırakılması sonucu küflerle büyük oranda bulaştığı görülmüştür¹⁷.

Kırmızı biberlerin çiçek döneminde küf sporları çiçek tozlarına bulaşmaktadır. Ayrıca böcek zararları sonucunda küf sporlarının

biberlerin iç kısmına kadar yayılarak uygun ortamlarda burada gelişerek toksin oluşturabilmektedir^{22,13}.

Ürün elde edilirken modern kurutma sistemlerinin kullanılması toksin oluşumunu büyük ölçüde engellemektedir²⁵.

Yukarıdaki çalışmalarda görülen aflatoksin bulunma oranları arasındaki farklar biber cinslerinden ve kurutma şekillerinden kaynaklanmaktadır.

İnsan sağlığı üzerindeki zararlı etkileri göz önünde bulundurularak çeşitli ülkelerde gıdalarda bulunabilecek aflatoksin için tolerans limitleri konulmuştur.

Avrupa Topluluğu, insan gıdalarında bulunabilecek aflatoksin B₁ için limit değerin 2 - 4 ppb olarak kabul edilmiştir⁴.

Ülkemizde de baharatlarda en yüksek kabul edilebilir değer aflatoksin B₁ için 5 ppb, toplam aflatoksin miktarı için ise 10 ppb olarak belirlenmiştir².

Çalışma sonuçlarına göre 11 örnekte tespit edilen aflatoksin B₁ miktarı, tebliğde belirtilen 5 ppb sınırının üzerinde bulunmuştur.

Sonuç olarak özellikle yemeklere tat vermesi açısından kullanılan kırmızı toz biberlerin aflatoksin açısından risk oluşturduğu görülmüştür. Bu durumun düzelebilmesi için kırmızı toz biber üretiminin ıskallıktan kurtarılmalı, özellikle kurutma işlemi modern tekniklerle yapılmalıdır. Bu gerek halk sağlığı gerekse ihracatımız açısından son derece önemlidir.

Kaynaklar

1. ADEGOKE, G.O., ALLUMU, A.E., AKINGBALA, J.O., AKANNI, A.O.: Influence of sundrying on the chemical composition, aflatoxin content and fungal counts of two pepper varieties, *Capsicum annum* and *Capsicum frutescens*, *Plants foods for human nutrition*, 49, 113-117, (1996).
2. ANON.: Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, T.C. Resmi gazete, Sayı: 23172, (1997).
3. AOAC.: Natural poisons, Chapter 26, In., Official methods of analysis, Association of Official Analytical Chemists, Williams, S., (ed), fourteenth edition, Virginia, (1984).
4. AŞKIN, O., TAYDAŞ, E.E.: Besinlerde mikotoksinler, Sürekli tıp eğitimi dergisi, 5, 2, 44-46, (1996).
5. ATEŞ, N., İLHAN, S., TÜMER, N., ÇINAR, R., ÇAKIROĞLU, M.: Takviyeli güneş kollektörü ile pilot bazda bazı meyve ve sebzelerin kurutulması, kırmızı toz ve biberlerin üretim şekli, kanuni mevzuatı ve üretim şeklinin ıslahı (Araştırma projesi) 1-29, (1992).
6. BAYSAL, A.: Beslenme, Hacettepe Üniv. Yayınları A-13, Ankara, (1984).
7. BETINA, W.: Aflatoxins, sterigmatocystins and versicolorins, mycotoxins, Elsevier, 114-139, (1989).
8. BULLERMAN, L.B.: Mycotoxins and food safety. *Food Technology*, 40 (5), 59-66, (1986).
9. BULLERMAN, L.B.: Significance of mycotoxins to food safety and human health, *Journal of food protection*, 42, 1, 65-86, (1979).
10. ÇOKSÖYLER, N.: Süt ve Mamullerinde Aflatoksin Oluşumu Üzerinde Araştırmalar, Ankara Üniv. Ziraat Fak. İhtisas Tezi, (1977).
11. DOLIMPO, D., JACOBSON, C., LEGATOR, M.: Effect of Aflatoxin on human Leukocytes, *Proc. Sos. Expt. Biol. Med.*, 127, 559-562, (1968).
12. ERDEM, Ş.: Ekmeklik un ve bu undan yapılmış ekmeklerde aflatoksin durumunun araştırılması, Hacettepe Üniv. Sağlık Bilimleri Fak., Beslenme ve Diyetetik Programı Bilim Uzmanlığı Tezi, Ankara, (1980).
13. FAO: Food and nutrition paper, 1-89, (1990).
14. FUFA, H., URGA, K.: Screening of aflatoxins in shiro and ground red pepper in Addis Ababa, *Ethiopian medical journal*, 34, 243-249, (1996).
15. HELRICH, K.: Official methods of analysis of the association of official analytical chemists, 1184-1205, fifteenth edition, (1990).
16. MACDONALD, S., CASTLE, L.: A UK retail survey of aflatoxins in herbs and spices and their fate during cooking, *Food additives and contaminants*, 13, 121-128, (1996).
17. MADHYASTHA, M.S., BHAT, R.U.: Evaluation of substrate potentiality and inhibitory effects to identify high risk spices for aflatoxin contamination, *Journal of food science*, 50, 376-378, (1984).
18. PHILLIPS, D., YOURTEE, D.M.: Presence of Aflatoxin B₁ in Human Liver in the United States, *Toxicol, Appl. Pharmacol*, 36, 403-406, (1976).
19. SCHINDLER, A.F., EISENBERG, W.V.: Growth and protection of aflatoxins by *Aspergillus flavus* on red pepper (*Capsicum frutescens* L), *J. of the AOAC.*, 51, 4, 911-912, (1968).
20. SHANK, R.C.: Aflatoxins, Mycotoxins and N-Nitroso Compounds Environmental Risks, Volume 11, CRC Press, Inc., USA, 3-27, (1981).

21. TAYDAŞ, E.E., AŞKIN, O.: Kırmızı biberlerde aflatoksin oluşumu, Gıda, 20 (1), 3-8, (1995).
22. TAYDAŞ, E.E.: Kırmızı biberlerde aflatoksin ve okratoksin oluşumu üzerinde araştırmalar, Yüksek mühendislik tezi, Hacettepe Üniv. Müh. Fak. Gıda Müh., Ankara, (1993).
23. ÜNLÜTÜRK, A., TURANTAŞ, F.: Gıda Mikrobiyolojisi, Kurutulmuş Meyve ve Sebzeler, Mengi Tan Basımevi, 337-340, (1998).
24. VILADIMIR, B.: Mycotoxins, Chemical, Biological and Environmental Aspects, Elsevier, Newyork, 115-125, (1989).
25. YILDIRIM, T.: Bursa ve Sakarya yöreleri kırmızı biberlerinde aflatoksin çalışması, Gebze yüksek Teknoloji Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, (1996).