



T.C.

HİTİT ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**KURU İNCİRLERDE AFLATOKSİN VE OKRATOKSİN A
VARLIĞININ BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Damla ÇELİK

Çorum - 2022

**KURU İNCİRLERDE AFLATOKSİN VE OKRATOKSİN A VARLIĞININ
BELİRLENMESİ**

Damla ÇELİK

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

Yüksek Lisans Tezi

TEZ DANIŐMANI

Prof. Dr. Bülent KABAK

Çorum 2022

Damla ÇELİK tarafından hazırlanan “Kuru İncirlerde Aflatoksin ve Okratoksin A Varlığının Belirlenmesi” adlı tez çalışması .../ .../ tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Bülent KABAK

.....

Doç. Dr. Özgür GÖLGE

.....

Dr. Öğr. Üyesi Nihal GÜZEL

.....

Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunun .../ .../ tarih ve sayılı kararı ile Damla ÇELİK'in Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.

Prof. Dr. Muhammed Asif YOLDAŞ
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını beyan ederim.

Damla ÇELİK

KURU İNCİRLERDE AFLATOKSİN VE OKTAROKSİN A VARLIĞININ BELİRLENMESİ

Damla ÇELİK

ORCID: 0000-0001-5284-3112

HİTİT ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Yüksek Lisans Tezi

Ocak 2022

ÖZET

Kuru incirlerde görülen en önemli kimyasal tehlikeler aflatoksinler (AFs) ve okratoksin A (OTA)'dır. Bu araştırmada, ülkemizde tüketime sunulan kuru incirlerde AFs ve OTA varlığı ve miktarı floresans dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-FLD) yöntemi ile belirlenmiştir. Ayrıca, yetişkin bireylerin kuru incir tüketimi yoluyla AFs ve OTA'ya maruz kalma miktarları hesaplanmış ve risk değerlendirmesi yapılmıştır. Araştırma kapsamında, Nisan-Haziran 2019 tarihleri arasında Çorum, İstanbul, Ankara ve İzmir'deki çeşitli satış noktalarından rastgele satın alınan 100 incir örneği (300'er g) analiz edilmiştir. Kullanılan analiz yöntemi valide edilmiş olup, Avrupa Birliği (AB) tarafından belirlenen metot validasyon parametrelerini karşıladığı görülmüştür. Aflatoksin B₁ (AFB₁), aflatoksin B₂ (AFB₂), aflatoksin G₁ (AFG₁), aflatoksin G₂ (AFG₂) ve OTA'nın ölçüm limitleri (LOQs) sırasıyla 0,277; 0,247; 0,307; 0,253 ve 0,437 µg kg⁻¹ olarak bulunmuştur.

Kuru incir örneklerinin 86'sında AFs tespit edilemezken, 14'ünde saptanan toplam AFs miktarı 0,258-12,6 µg kg⁻¹ arasında değişiklik göstermiştir. AFs tipleri arasında AFB₁ en sık rastlanan olup, örneklerde 0,258-11,92 µg kg⁻¹ arasında değişen miktarlarda saptanmıştır. Kuru incir örneklerinin yalnızca 2'sinde tespit edilen AFB₁ ve toplam AFs miktarları, AB ve Türk Gıda Kodeksi (TGK) Bulaşanlar Yönetmeliği'nde yer alan maksimum limit (ML) değerlerinin üzerinde bulunmuştur. Bununla birlikte, kuru incir örneklerinin 7'sinde AFB₂ (0,095-0,675 µg kg⁻¹), 2'sinde AFG₁ (0,153 ve 2,427 µg kg⁻¹) ve yalnızca 1'inde AFG₂ (0,121 µg kg⁻¹) bulunmuştur. OTA ise kuru incir örneklerinin 8'inde 0,151-1,723 µg kg⁻¹ arasında değişen konsantrasyonlarda saptanmıştır.

Ülkemizde yaşayan yetişkin bireylerin kuru incir tüketimi yoluyla AFB₁'e, toplam AFs'ye ve OTA'ya ortalama alt sınır ve üst sınır maruz kalma miktarları sırasıyla 0,0039-0,0046; 0,0044-0,0058; 0,0005-0,0017 ng kg⁻¹ v.a. gün⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Kişi başı kuru incir tüketim miktarına (0,685 g gün⁻¹) göre hesaplanan maruz kalma sınırı (MOE) değerleri AFB₁ için sağlık açısından riskli bir durum oluşturmazken, günde 1 adet kuru incir tüketim senaryosuna (20 g gün⁻¹) göre örneklerde saptanan AFB₁ miktarının sağlık endişesine yol açma potansiyeli taşıyabileceği değerlendirilmektedir. Diğer yandan, OTA için hem kişi başı hem de günde 1 adet kuru incir tüketim senaryosuna göre MOE değerleri 10.000'in oldukça üzerinde bulunmuş olup, OTA'ya maruz kalma düzeyinin yetişkinlerde ciddi sağlık endişesi oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Aflatoksin, okratoksin A, kuru incir, maruziyet, HPLC-FLD

Bilim Kodu: 90808

DETERMINATION OF AFLATOXIN AND OCHRATOXIN A IN DRIED FIGS

Damla CELIK

ORCID: 0000-0001-5284-3112

HITIT UNIVERSITY

GRADUATE EDUCATION INSTITUTE

Master of Science Thesis

January 2022

ABSTRACT

The most important chemical hazards in dried figs are aflatoxins (AFs) and ochratoxin A (OTA). In this study, the presence and amounts of AFs and OTA in dried figs consumed in Turkey were determined by fluorescence detector coupled with high-performance liquid chromatography (HPLC-FLD). In addition, the exposure of adults to AFs and OTA through the consumption of dried figs and risk assessment were determined. Between April-June 2019, a total of 100 dried fig samples (300 g) collected randomly from different retail stores in Corum, Istanbul, Ankara and Izmir were analysed. The validated method fulfilled the requirements of validation parameters of the European Union (EU). The limit of quantifications (LOQs) of aflatoxin B₁ (AFB₁), aflatoxin B₂ (AFB₂), aflatoxin G₁ (AFG₁), aflatoxin G₂ (AFG₂) and OTA were 0.277, 0.247, 0.307, 0.253 and 0.437 µg kg⁻¹, respectively.

While AFs were not detected in 86 out of 100 dried fig samples, AFs were positive in 14 samples at levels ranging from 0.258 to 12.6 µg kg⁻¹. Among the AFs, AFB₁ was the most frequently occurring toxin, with levels ranging from 0.258 to 11.92 µg kg⁻¹. Only two dried fig samples exceeded the both EU and Turkish Food Codex (TGK) maximum limits (MLs) for AFB₁ and total AFs. Moreover, AFB₂, AFG₁ and AFG₂ were detected in seven (0.095-0.675 µg kg⁻¹), two (0.153 and 2.427 µg kg⁻¹) and only one dried fig sample (0.121 µg kg⁻¹), respectively. OTA was recorded in eight out of 100 dried fig samples at concentrations varying from 0.151 to 1.723 µg kg⁻¹.

In the Turkish adults, the mean exposure to AFB₁, total AFs and OTA ranged from 0.0039 to 0.0046, 0.0044 to 0.0058 and from 0.0005 to 0.0017 ng kg⁻¹ b.w. day⁻¹ at lower bound and upper bound, respectively. While the margin of exposure (MOE) value for AFB₁ was not a health

concern according to per capita consumption, the AFB₁ levels recorded in dried fig samples raised a potential health concern in the consumption scenario one dried fig per day (20 g day⁻¹) for Turkish adults. However, the MOE values for OTA were considerably higher than 10 000 in both scenarios. Thus, the exposure to OTA from the consumption of dried figs does not a health concern for adults.

Keywords: Aflatoxin, ochratoxin A, dried fig, exposure, HPLC-FLD

Science Code: 90808



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin boyunca bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren, destek ve katkılarını esirgemeyen değerli bilim insanı danışman hocam Prof. Dr. Bülent KABAK'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Hayatımın her alanında olduğu gibi tez çalışmam süresince de yanımda olan aileme özellikle de bizzat katkı sağlayan ve en büyük destekçim olan anneme, bu süreçte beni yalnız bırakmayan kardeşim Gonca ÇELİK'e, değerli arkadaşlarım Tuba ÖKSÜZ ile Uğur KARATAŐ'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.



Bu tez çalışmasına, FBE19004.20.008 numaralı proje kapsamında vermiş oldukları destekten dolayı, Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	x
TABLolar DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
RESİMLER DİZİNİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
GİRİŞ.....	1

1. BÖLÜM

LİTERATÜR ÖZETİ

1.1. İncir	3
1.2. Kuru İncir.....	5
1.3. Küfler Hakkında Genel Bilgi.....	10
1.4. Mikotoksinler	11
1.5. AFs.....	15
1.5.1. AFs'nin kimyasal yapıları ve özellikleri.....	16
1.5.2. AFs'nin sağlık üzerine etkileri.....	17
1.5.3. AFs yasal limitleri.....	18
1.6. OTA.....	19
1.6.1. OTA'nın kimyasal yapısı ve özellikleri.....	19
1.6.2. OTA'nın sağlık üzerine etkileri.....	20
1.6.3. OTA yasal limitleri.....	21

1.7. Kuru İncirlerde AFs ve OTA Kontaminasyonu Konusunda Yapılan Çalışmalar.....	22
--	----

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal	25
2.1.1. Kuru incir	25
2.1.2. Kimyasal maddeler	26
2.1.3. PBS.....	26
2.1.4. AFs standardı.....	26
2.1.5. OTA standardı.....	26
2.1.6. Immunoaffinite kolon (IAC).....	27
2.2. Yöntem.....	27
2.2.1. Ekstraksiyon.....	27
2.2.2. HPLC-FLD analizi.....	27
2.2.3. Metot validasyonu.....	29
2.2.4. Maruz kalma düzeyi hesaplaması.....	30

3. BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

3.1. Metot Validasyon Parametrelerinin Değerlendirilmesi.....	32
3.2. Kuru İncirlerde Aflatoksin Varlığı/Miktarı.....	36
3.3. Kuru İncirlerde OTA Varlığı/Miktarı.....	37
3.4. AFs ve OTA'ya Maruz Kalma Değerlendirmesi	39
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKÇA.....	43

TABLolar DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1.1. Türkiye'nin illere göre incir üretim miktarı.....	5
Tablo 1.2. AFs'nin kimyasal ve fiziksel özellikleri.....	17
Tablo 1.3. OTA'nın kimyasal ve fiziksel özellikleri.....	20
Tablo 2.1. AFs analizinde kullanılan cihaz ve kromatografik koşullar.....	28
Tablo 2.2. OTA analizinde kullanılan cihaz ve kromatografik koşullar.....	29
Tablo 3.1. AFs ve OTA için lineerite verileri.....	34
Tablo 3.2. AFs ve OTA'nın LOD, LOQ, geri kazanım ve tekrarlanabilirlik değerleri.....	34
Tablo 3.3. Kuru incirlerde AFs varlığı ve miktarı.....	36
Tablo 3.4. Kuru incirlerde OTA varlığı ve miktarı.....	37
Tablo 3.5. Yetişkinlerin kuru incir tüketimi yoluyla AFB ₁ , toplam AFs ve OTA'ya maruz kalma miktarları.....	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. 2014-2019 yılları arasında gerçekleşen dünya incir üretim miktarlarının ülkeler bazında yüzdelerle dağılımı	4
Şekil 1.2. 2019/2020 yılında gerçekleşen dünya kuru incir üretim miktarlarının ülkeler bazında yüzdelerle dağılımı.....	8
Şekil 1.3. Türkiye kuru incir üretim miktarının yıllara göre dağılımı.....	9
Şekil 1.4. 2002-2020 yılları arasında çeşitli ülkelere AB'ye ihraç edilen ürünlerde tehlike sınıfına göre RASFF bildirim oranları.....	13
Şekil 1.5. 2002-2020 yılları arasında Türkiye orijinli gıda ürünlerinde en çok bildirim alınan tehlike sınıfları.....	14
Şekil 1.6. 2002-2020 yılları arasında Türkiye orijinli kuru incirlerde en fazla bildirim alan tehlike sınıfları.....	15
Şekil 1.7. AFs'nin moleküler yapıları	17
Şekil 3.1. HPLC-FLD kromatogramı (AFB ₁ ve AFG ₁ : 1 µg l ⁻¹ , AFB ₂ ve AFG ₂ : 0,3 µg l ⁻¹).....	32
Şekil 3.2. HPLC-FLD kromatogramı (OTA: 1 µg l ⁻¹).....	32
Şekil 3.3. AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂ ve OTA için kalibrasyon eğrileri.....	34

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 1.1. Yaş incir meyvesinin görüntüsü.....	3
Resim 1.2. Kuru incirin görüntüsü.....	6
Resim 1.3. İncirin kerevetlerde kurutulması.....	7
Resim 2.1. Partikül boyutu küçültülmüş kuru incir örnekleri.....	25
Resim 2.2. AFs ve OTA analizinde kullanılan HPLC cihazı.....	28



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μg	Mikrogram
μm	Mikrometre
a_w	Su aktivitesi
CO_2	Karbondioksit
dk	Dakika
Eş.	Eşitlik
g	Gram
HNO_3	Nitrik asit
KBr	Potasyum bromit
KCl	Potasyum klorür
kg	Kilogram
KH_2PO_4	Potasyum dihidrojen fosfat
mg	Miligram
ml	Mililitre
NaCl	Sodyum klorür
NaHCO_3	Sodyum bikarbonat
Na_2HPO_4	Disodyum hidrojen fosfat
O_2	Oksijen
R^2	Korelasyon katsayısı
R_f	Yürüme hızı
v.a.	Vücut ağırlığı

Kısaltmalar

AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AFB ₁	Aflatoksin B ₁
AFB ₂	Aflatoksin B ₂
AFG ₁	Aflatoksin G ₁
AFG ₂	Aflatoksin G ₂
AFM ₁	Aflatoksin M ₁
AFM ₂	Aflatoksin M ₂
AFs	Aflatoksinler
AME	Alternariol monometil eter
AOH	Alternariol
ATA	Alimentary Toxic Aleukia
BEN	Balkan Endemik Nefropatisi
BMDL ₁₀	Benchmark dose alt güvenlik sınırı
CAC	Kodeks Alimentarius Komisyonu
CAS	Chemical Abstracts Service
DON	Deoksinivalenol
EC	Avrupa Komisyonu
EEA	Avrupa Ekonomik Alanı
EEC	Avrupa Ekonomik Topluluğu
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
EFSA CONTAM	Avrupa Gıda Güvenlik Otoritesi Bulaşanlar Paneli
ELISA	Enzim bağlanmış immunosorbent yöntemi
EU	European Union
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FB ₁	Fumonisin B ₁

FLD	Floresans dedektör
FUM	Fumonisinler
GAP	İyi Tarım Uygulamaları
GMO	Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar
GMP	İyi Üretim Uygulamaları
GSP	İyi Depolama Uygulamaları
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HPLC-FLD	Floresans dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IAC	Immunoaffinite kolon
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
INC	Uluslararası Sert Kabuklu ve Kuru Meyveler Konseyi
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
JECFA	Gıda Katkı Maddeleri FAO/WHO Ortak Uzman Komitesi
LOD	Tespit limiti
LOQ	Ölçüm limiti
ML	Maksimum limit
MOE	Maruz kalma sınırı
OTA	Okratoksin A
PAT	Patulin
PBS	Fosfat tamponu
PTWI	Geçici tolere edilebilir haftalık alım miktarı
RASFF	Gıda ve Yem için Hızlı Uyarı Sistemi
RSD	Bağıl standart sapma
SCF	Gıda Bilimsel Komitesi
SD	Standart sapma
TEA	Tenuazonik asit
TGK	Türk Gıda Kodeksi

TLC	Thin Layer Chromatography
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TWI	Tolere edilebilir haftalık alım miktarı
UV	Ultraviyole
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ZEA	Zearalenon



GİRİŞ

İncir (*Ficus carica L.*) karakteristik bir Akdeniz meyvesidir. *Urticales* takımının *Moraceae* (dut) familyasına ait bir bitki olan incir, adını Ege Bölgesi'nde bulunan eski bir yaşam alanı olma özelliği taşıyan Caria'dan almaktadır. Anadolu'da halk arasında "yemiş, ballıdarı ve bardacık" gibi farklı isimlerle de anılan incirin Anadolu'daki geçmişi insanlık tarihine dayanmaktadır (ESKGM, 2020). Mezopotamya kökenli olduğu bilinen incir daha sonra çeşitli ülkelere yayılmıştır.

İncir, subtropik bir bitki olarak anılsa da geniş bir ekolojik uyum yeteneğine sahiptir. Buna bağlı olarak da Türkiye'de Doğu Anadolu Bölgesi dışında neredeyse tüm bölgelerde incir yetiştiriciliği yapılabilmektedir. Büyük ve Küçük Menderes havzaları incir yetiştiriciliği için en uygun koşullara sahip alanlar olup, Aydın ili ve çevresi ülkemiz incir üretiminin yaklaşık %80'ini karşılamaktadır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından paylaşılan veriler incelendiğinde; Türkiye, dünya yaş incir üretiminde yaklaşık %25 gibi yüksek bir oranla dünyada başı çekmektedir. Üretimde Türkiye'yi takip eden ülkeler ise Mısır, Fas, Cezayir, İran, İspanya, Suriye ve Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'dir.

Ülkemiz sınırları içinde yetiştirilen incirin %30'luk kısmı taze şekilde iç pazarda tüketilirken %70 gibi büyük bir kısmı ise kuru incir şeklinde iç ve çoğunlukla da dış pazarda tüketilmektedir. Ülkemiz kuru incir ihracatında dünyada 1. sırada yer almakta olup, yıllık ihracat miktarı yaklaşık 57.000 ton civarındadır. Kuru incir ihracatımızda Fransa, Almanya ve ABD ilk üç sırada yer alan ülkelerdir. Gerek üretim gerekse ihracat konusunda ülkemiz için bu kadar önemli bir yere sahip olan kuru incirde küflenme, böcek, sülfid ve pestisit kalıntısı varlığı gibi çeşitli sorunlar yaşanmaktadır. Bu sorunların başında da çeşitli toksijenik küfler tarafından üretilen mikotoksinler gelmektedir.

Mikotoksinler, farklı tarımsal ve hayvansal ürünlerde bulunabilen kimyasal tehlikelerden biri olup, insanlara karşı toksik ve karsinojenik etki gösterebilen küf kaynaklı bileşiklerdir. Mikotoksinler hem ülkemizde hem de dünyada gıda güvenilirliğini tehdit eden tehlikelerin başında gelmektedir. *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Claviceps* cinslerine ait türler başta olmak üzere çeşitli küfler tarafından üretilen 400 kadar mikotoksin tanımlanmış olmasına karşın, aflatoksinler (AFs) ve okratoksin A (OTA) hem ekonomik hem de sağlık açısından en önemlileridir. AFs içerisinde aflatoksin B₁ (AFB₁) Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı (IARC) tarafından "insan karsinojeni (Grup 1)" olarak nitelendirilmiş tek mikotoksin olması nedeniyle ayrıca önem taşımaktadır. OTA ise "olası insan karsinojeni (Grup 2B)" olarak nitelendirilmiştir.

Kurutulmuş meyveler hem AFs hem de OTA açısından orta/yüksek risk taşıyan tarımsal ürünlerdir. Toksijenik küfler hasat öncesi aşamadan başlayarak, hasat, taşıma, kurutma ve depolama aşamalarında ürüne kontamine olabilmekte ve mikotoksin sentezi gerçekleştirebilmektedir. Kurutulmuş meyvelerden kuru incirin AFs ile kontaminasyonu uzun

yıllardır bilinmekte olup, bu konuda gerek ülkemizde gerekse dünyada çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir. Dünya kuru incir ihracatında lider olan ülkemiz, her yıl AFs kontaminasyonu nedeniyle Gıda ve Yem için Hızlı Alarm Sistemi (Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF)'nde çok sayıda bildirim almaktadır. En son üretim yılında (2021), ülkemiz kuru incirde AFs kontaminasyonu nedeniyle 49 adet RASFF bildirim almıştır. Kuru incirlerde AFs kontaminasyonunun engellenmesi ve azaltılmasına yönelik olarak Kodeks Alimentarius Komisyonu (CAC) tarafından hasat öncesi aşamada bahçe yönetiminden başlayarak hasat, kurutma, taşıma, depolama ve proses aşamalarında uygulanacak stratejilerle ilgili olarak kılavuz oluşturulmuştur.

Diğer yandan, kuru incirlerde OTA kontaminasyonu ile ilgili olarak az sayıda veri bulunmakta olup, bu durum üzerinde önemle durulması gereken bir konu haline gelmeye başlamıştır. Son yıllarda kuru incirlerde OTA kontaminasyonu ile ilgili RASFF bildirimlerinde de artış görülmektedir. Buna karşın, kuru incir ithalatında önde gelen Avrupa Birliği (AB) de dahil olmak üzere, Uluslararası kuruluşlar ve ülkelerin yetkili otoriteleri tarafından, kuru incirlerde OTA kontaminasyonu ile ilgili belirlenmiş herhangi bir spesifik maksimum limit (ML) değeri bulunmamaktadır.

Bu çalışma kapsamında, ülkemizde tüketime sunulan kuru incirlerde AFs ve OTA kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi ve yetişkin bireylerin kuru incir tüketimi yoluyla AFB₁'e, toplam AFs'ye ve OTA'ya maruz kalma miktarlarının hesaplanarak risk değerlendirilmesinin yapılması amaçlanmıştır. Bu amaçlar doğrultusunda Çorum, İstanbul, Ankara ve İzmir'deki farklı market ve kuruyemiş satış noktalarından gelişigüzel olarak satın alınan toplam 100 kuru incir örneği (300'er g) AFs ve OTA varlığı/miktarı yönünden araştırılmıştır. Kuru incirlerde AFs ve OTA analizi, immunoaffinity kolon (IAC) ile ekstrakt temizleme sonrasında HPLC-FLD sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

1. BÖLÜM

LİTERATÜR ÖZETİ

1.1. İncir

İncir (*Ficus carica L.*) Urticales takımı, *Moraceae* (dut) familyasında yer alan bir meyvedir (Solomon ve ark., 2006). İncirin Anadolu'daki geçmişinin çok eskilere dayandığı, hatta kültüre alınma ve bilinme açısından insanlık tarihi ile dahi kıyaslanabileceği bildirilmektedir. Ülkemiz incirin anavatanı olarak anılmaktadır. İncir üretimi Türkiye'den sonra Suriye, Filistin, Çin, Amerika Birleşik Devletleri (Kaliforniya, ABD) ve Hindistan gibi ülkelerde görülmüştür (ESKGM, 2020).

Kutsal bir meyve olarak kabul edilen incirin bolluk ve bereketi temsil ettiğine inanılmıştır. Gerek ağacı ve yaprağı gerekse meyvesi ve sütü ile incir; yaşamın, varlığın, gücün, bereketin, verimliliğin ve bilgeliğin sembolü olmuştur. İncir, Anadolu'da halk arasında "yemiş, ballıdaru ve bardacık" olarak da adlandırılmaktadır. Resim 1.1'de yaş incir meyvesinin görüntüsü verilmiştir.



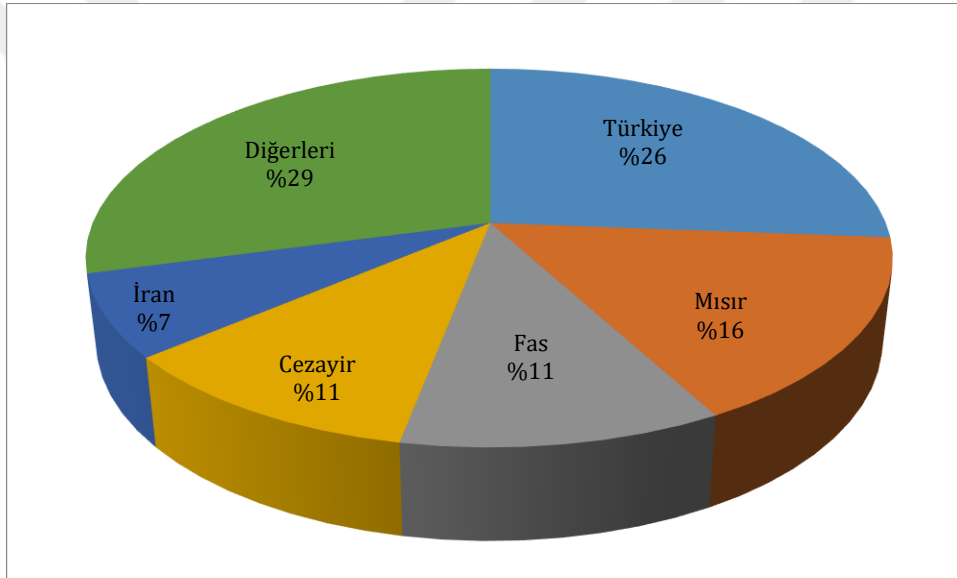
Resim 1.1. Yaş incir meyvesinin görüntüsü

İncir, besin değeri oldukça yüksek olan bir meyvedir. İncir hem karbonhidrat (özellikle glikoz, fruktoz ve nişasta) ve diyet lif gibi makro besin öğeleri hem de mineral madde (özellikle potasyum, kalsiyum, magnezyum, fosfor ve demir) ve vitamin (tiamin ve riboflavin gibi B grubu vitaminler başta olmak üzere) gibi mikro besin öğeleri açısından zengindir (Vinson, 1999).

Subtropik bir iklim bitkisi olarak sınıflandırılan incir, yıllık ortalama sıcaklık değerlerinin 16-19°C olduğu, en düşük sıcaklık değeri ortalamasının 8-9°C'nin altına inmediği ve 38-40°C'lerin çok fazla görülmediği bölgelerde yetiştirilmeye uygundur. İncir üretimi için yıllık ortalama yağış miktarının 600 mm'nin üzerinde olması gerekmektedir. Bununla birlikte, incir yetiştiriciliğinde yaz yağışlarının az ve nispi nemin %50-60 oranlarında olması istenmektedir

(Günel, 2008). Özetle kışların ılık ve yağışlı, yazların ise sıcak ve kurak geçtiği yerler incir üretimi için en elverişli bölgelerdir (Koçlu ve Çeliker, 2006). İncir yetiştiriciliği açısından derin, kum, kil ve kireç içeren ayrıca yeterli miktarda organik besine sahip topraklar en uygun toprak çeşidi olarak değerlendirilmektedir (Kırcı, 2018).

Gereksinim duyduğu iklim ve ekolojik şartlar sebebi ile incir çok fazla ülkede yetiştirilememektedir. Bu nedenle, dünyada incir üreten ülke sayısı sınırlıdır. Dünya incir üretim miktarlarında yıllık bazda küçük değişiklikler olsa da önemli bir dalgalanma izlenmemekte ve yıllık üretim değerleri birbirine yakın seyretmektedir. Dünya incir üretiminde önde gelen ülkeler Türkiye, Mısır, Fas, Cezayir ve İran'dır. Yaş incir üretiminde son altı yıllık değerlerin ortalaması alındığında Türkiye %26,2 ile dünyada ilk sırada yer alırken onu Mısır, Fas, Cezayir ve İran takip etmektedir (FAOSTAT, 2021). 2014-2019 yılları arasında yaş incir üretiminde önde gelen ülkelerin üretim yüzdeleri Şekil 1.1'de verilmiştir.



Şekil 1.1. 2014-2019 yılları arasında gerçekleşen dünya incir üretim miktarlarının ülkeler bazında yüzdelerik dağılımı

Ülkemiz incir üretimi için uygun şartlara sahiptir ve dünyada rakibi olmayan bir ülke konumundadır. Elverişli koşullar sayesinde ülkemizde Doğu Anadolu Bölgesi haricinde neredeyse tüm bölgelerde incir yetiştiği görülmektedir. Bununla birlikte, Büyük ve Küçük Menderes havzaları en uygun şartlara sahip olarak incir üretiminin ve çeşitliliğinin maksimum olduğu alanlardır. Aydın, İzmir ve Bursa incir yetiştiriciliği bakımından ülkemizin en önemli illeri olarak ön plana çıkmaktadır (TÜİK, 2019).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2019 yılı verilerine göre, Aydın ilinin incir üretiminde %61'lik pay ile ilk sırada yer aldığı, bunu %14 ile İzmir ve %9 ile Bursa'nın izlediği

görülmektedir. 2017, 2018 ve 2019 yıllarında Türkiye’de üretilen incirin iller bazında dağılımı Tablo 1.1’de verilmiştir.

Tablo 1.1. Türkiye’nin illere göre incir üretim miktarı

İl adı	2017 (ton)	2018 (ton)	2019 (ton)	2019 yılı üretim payı (%)
Aydın	185.412	186.346	190.445	61
İzmir	42.576	45.652	43.433	14
Bursa	25.456	26.385	28.450	9
Mersin	7.425	7.693	6.875	2
Hatay	6.495	3.756	3.405	1
Antalya	4.005	3.034	3.050	1
Diğer iller	34.320	33.633	34.342	11
Toplam	305.689	306.499	310.000	100

İncir hasadı ilkbahar ve yaz mevsimleri ya da yaz başı ile sonu olmak üzere yılda iki defa yapılmaktadır (Ouchemoukh ve ark., 2012; Vallejo ve ark., 2012). İncirin koyu mordan yeşile kadar farklı renklere sahip çeşitleri bulunmaktadır (Solomon ve ark., 2006). Ülkemizde *akça*, *bardakçı*, *beyaz orak*, *Bursa siyahı*, *göklop*, *kavak*, *morgüz*, *patlıcan*, *sarılop*, *sarı zeybek*, *siyah orak*, *sultan selim* ve *yeşilgüz* gibi pek çok incir çeşidi yetiştirilmektedir (Cebeci, 2008). Türkiye’de üretilen toplam incirin %90’dan fazlasını oluşturan *sarılop* çeşidi, gerek büyüklüğü, tadı ve açık renkli olması, gerekse etli kısmının fazla olması nedeniyle kurutmaya en elverişli incir olarak kabul edilmektedir (Yaşartürk, 2016).

Hem taze hem de kuru şekilde tüketilebilen incir, farklı değerlendirme şekillerine sahip ticari bir tarımsal üründür (Vinson, 1999). Birtakım işlemlerden geçirilerek lokum, reçel, dondurma, marmelat, ezme, cips ve pekmez gibi ürünlerde kullanılabilirdiği gibi, boya, kozmetik, ilaç ve ispirto sanayisinde hammadde olarak kullanılan incire ilgi giderek artmaktadır (Çalışkan, 2012).

1.2. Kuru İncir

Yaş incirin uzun ömürlü olmaması ve taşınmasının zor olması gibi nedenler incirin dünya genelinde bilinirliğini kısıtlamıştır. Bu nedenle yaş incir, üretildiği bölgeler ve bu bölgelere yakın pazarlar dışında fazla tanınmamaktadır. Yaş incirin sahip olduğu bu dezavantajları taşımayan kuru incir ise üretim alanlarının dışına çıkarak çok uzak noktalara kadar ulaşabilmiş ve incirin dünya genelinde tanınmasına önemli katkı sağlamıştır. Kuru incir, *Ficus carica domestica* L. türüne ait ağaçların olgunlaşan meyvelerinin hasat edilmesinin ardından doğal ya da yapay tekniklerle kurutulularak doğrudan veya işlenmiş şekilde tüketime sunulan incir olarak tanımlanmaktadır (TS, 2006). Kuru incire ait görüntü Resim 1.2’de verilmiştir.



Resim 1.2. Kuru incirin görüntüsü

İncirler işlenip işlenmeme durumuna göre gruplara ayrılmaktadır. Şekil verilmemiş, doğal halini koruyan incirler “işlenmemiş (naturel) kuru incir” olarak adlandırılırken; doğal haline teknolojik uygulamalarla ya da el ile farklı şekiller verilen, bazı durumlarda sap ve göz (ostiolum) bölümleri kesilen, yırtılan ya da delinen kuru incirler ise “işlenmiş kuru incir” olarak adlandırılmaktadır (TS, 2006).

İşleme şekillerine göre incirler, *bağlama*, *çukulat*, *garland*, *layer*, *lerida*, *lokum*, *makaroni*, *protoben* ve *pulled* gibi tiplere ayrılmakta ve bunların dışında kalan tipler kendi isimleri ile pazara sunulmaktadır. Kalite özelliklerine göre ekstra, sınıf 1, sınıf 2 ve endüstriyel şeklinde dört sınıfa ayrılırken, 1 kilogram (kg)'daki tane sayısına göre ise 1 ile 11 arasında boylara ayrılmaktadır. 1 kg'da en fazla 40 meyve bulunuyorsa boy numarası 1, 121 ve üzerinde meyve bulunuyorsa boy numarası 11 şeklinde gruplandırılmaktadır.

Ekstra sınıf olarak isimlendirilen kuru incirlerin kalitesinin kusursuza yakın olması, boy ve renklerinin aynı olması ve 1 kg'daki kuru incir sayısının en fazla 65 olması istenmektedir. Sınıf 1 olarak isimlendirilen kuru incirlerin iyi kalitede, şekerli doku gelişiminin iyi olması ve incir kabuklarının istenen yumuşaklıkta olması beklenmektedir. Bu sınıfa giren incirlerde 1 kg'daki kuru incir sayısının 120'den fazla olmaması gerekmektedir. Sınıf 2 kategorisine giren incirler daha üst sınıflara girebilmek için gerekli özellikleri taşımayan incirlerdir. Tüketim için sorun teşkil etmeyen kabuk kusurları bulunabilmektedir. Endüstriyel sınıfa ise diğer sınıflara giremeyecek kalitede olan özürlü incirler girmektedir. Bu sınıfa giren incirler içinde maksimum %10 kadar doğrudan tüketilebilecek incirler yer almalıdır (TS, 2006).

Sıcaklık, nem ve rüzgâr gibi üretimde etkili olan faktörler yaş incir çeşitlerine nazaran kurutmalık incir çeşitlerinde daha fazla önem arz etmektedir. Küçük Menderes ve Büyük Menderes yöreleri kurutmalık incir için gerekli iklim şartlarını sağlayan sınırlı alanların başında gelmektedir (Çobanoğlu ve ark., 2005).

Türkiye kuru incir üretiminin tamamına yakını Ege Bölgesi'nden sağlanmaktadır. Bu nedenle burada üretilen kuru incir miktarı Türkiye kuru incir üretim miktarına tekabül etmektedir.

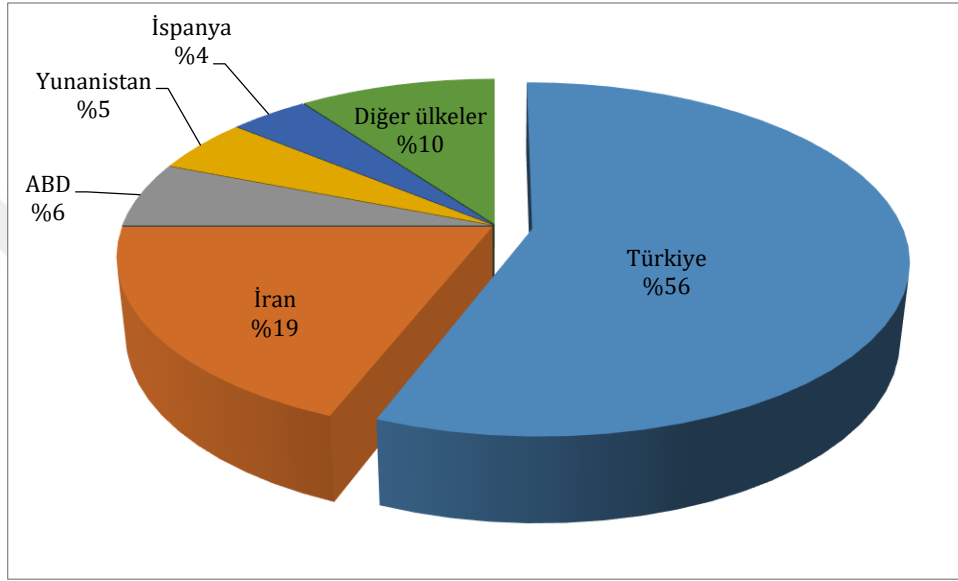
Ülkemizin toplam kuru incir üretiminin %23'ünü karşılayan Germencik (Aydın) ilçesi ilk sırada yer alırken, onu %22 ile Nazilli (Aydın), %12 ile Tire (İzmir) ve %10 ile İncirlioğa (Aydın) ilçeleri takip etmektedir. Geriye kalan %33'lük üretim ise Aydın ve İzmir'in diğeri ilçeleri tarafından sağlanmaktadır (GTBKGM, 2018).

Kurutulacak incirler ağaçta mümkün olduğu kadar bekletilmektedir. Ağaca tutunamayıp düşecek kadar olgunlaşanlar ise toplanmaktadır. Geleneksel yöntemde, aşırı olgunlaşmış incirler yabancı maddelerden arındırmak amacıyla soğuk suyla yıkandıktan sonra, %5-7 sodyum klorür (NaCl) içeren kaynamış suya birkaç defa daldırılıp çıkarılmaktadır. İncirler daha sonra, hasır veya tahta/plastik kerevetlerin üzerine alınarak güneşte veya kuru bir ortamda 8 ile 10 gün arasında %20-25 nem değerine düşene kadar kurutulmaktadır (Yağcıoğlu, 1999). Bu yöntemde ek olarak kabin tip kurutucular kullanılarak incirlerin sıcak hava akımı sayesinde çok daha kısa sürede kurutulması mümkündür (Özkan ve ark., 2000). İncirlerin kerevetlerde kurutulması Resim 1.3'te görülmektedir.



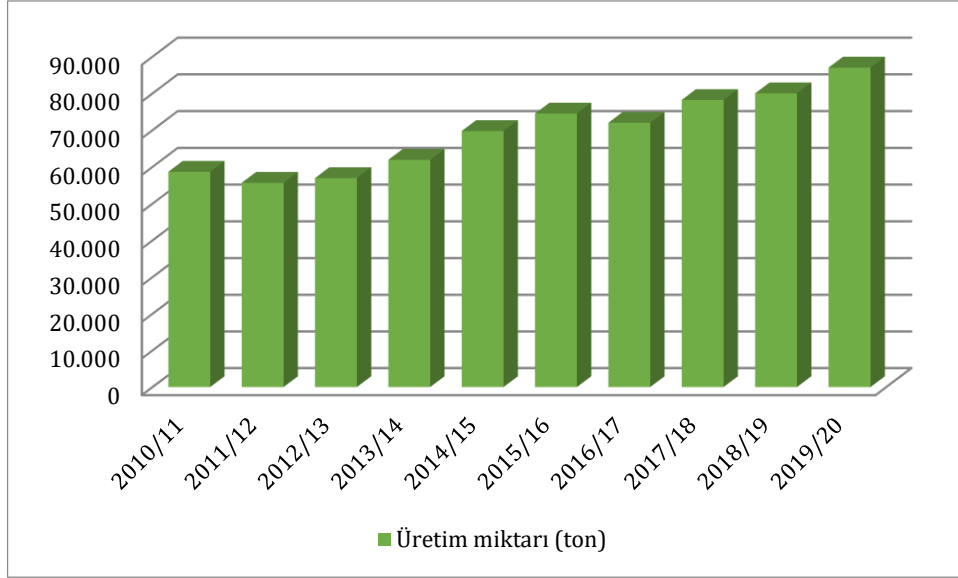
Resim 1.3. İncirin kerevetlerde kurutulması

Dünyada incir üretimi yapan ülke sayısı kısıtlı olup, bu durumla bağlantılı olarak kuru incir üreten ülke sayısı da sınırlıdır. Uluslararası Sert Kabuklu ve Kuru Meyveler Konseyi (INC) 2018/2019 değerlerine bakıldığında 135.900 ton olarak gerçekleşen dünya kuru incir üretiminin 70.000 tonluk kısmının Türkiye'ye ait olduğu görülmektedir. %52'lik bir paya sahip olan ülkemizi İran (%22), ABD (%7) ve Yunanistan (%6) takip etmiştir. 2019/2020 yılı verilerine göre ise 158.500 ton olarak gerçekleşen dünya kuru incir üretiminin 89.000 tonluk kısmı Türkiye'ye aittir. %56'lık pay ile ilk sırada yer alan Türkiye'den sonra sırasıyla yine İran (%19), ABD (%6) ve Yunanistan (%5) gelmektedir (Şekil 1.2.) (BUGEM, 2020).



Şekil 1.2. 2019/2020 yılında gerçekleşen dünya kuru incir üretim miktarlarının ülkeler bazında yüzdeleri dağılımı

Türkiye'de üretilen kuru incir miktarları yıllık bazda incelendiğinde üretim miktarlarında önemli bir değişiklik olmadığı görülse de iklim koşulları neticesinde bazı dönemlerde düşüşler yaşanmaktadır. Şekil 1.3'te son 10 yıla ait Türkiye kuru incir üretim miktarları (BUGEM, 2020) verilmiştir.



Şekil 1.3. Türkiye kuru incir üretim miktarının yıllara göre dağılımı

Dünyada üretilen kuru incirin %15-20'lik bölümünü üretici durumunda olan ülkeler tüketirken, iç tüketim fazlası kısım ise ihraç edilmektedir. Türkiye'de kuru incir tüketimi istenilen seviyede değildir. Ülkemizde yıllık kuru incir tüketim miktarı 6-8 bin ton, kişi başı yıllık tüketim ise yaklaşık 200-250 g civarındadır (ESKGM, 2020). İncir için 2019/2020 döneminde Türkiye üretiminin ülke içi talebi karşılama derecesi yani yeterlilik derecesi %618 olarak gerçekleşmiştir (TÜİK, 2020). Özetle, Türkiye için üretim miktarları tüketim miktarlarının bir hayli üzerindedir. Bu durum neticesinde ülkemiz, ürettiği incirleri daha çok kurutarak ihracat ürünü olarak değerlendirmektedir.

Ülkemiz için önemli bir yere sahip olan incirde bazı hastalıklarla karşılaşmaktadır. İncir ağacı; kök çürüklüğü, incir kanseri, *Botrytis* uzuv yanıklığı ve incir mozaik virüsü gibi çeşitli hastalıklardan etkilenmektedir. *Fusarium moniliforme* ve *Fusarium solani* gibi türlerin yol açtığı meyvenin ağız kısmında kahverengi lekeler şeklinde başlayan incir iç çürüklüğüne, çeşitli mayaların oluşturduğu ekşimeye, *Aspergillus niger*'in neden olduğu sürme hastalığına, *Alternaria* türlerinin neden olduğu *Alternaria* çürüklüğüne ve *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'un sebep olduğu *Aspergillus* çürüklüğüne incir ağaçlarında sıkça rastlanmaktadır (Michailides ve Ferguson, 2009). İncir hastalıklarından biri olan çelik marazı sürgünlerde büyümenin duraksaması ve zayıflaması olarak ortaya çıkmaktadır. İnce dallarda ve sürgünlerde zamk salgılanması, kararma ve şişlik gibi belirtilerle başlayan bu hastalık kök boğazı, gövde ve kalın dallara da yayılarak ağacın kurumasına sebep olabilmektedir. Diğer bir incir hastalığı ise kök uyuzu olarak da adlandırılan *Rosellinia* kök çürüklüğüdür. Fungus kaynaklı bu hastalığa yakalanan ağaçların yaprakları sararmakta ve sonuçta ağaç kuruyarak ölebilmektedir. İncir iç çürüklüğü (kahverengi, pembe ya da yumuşak çürüklük) ilek arısı tarafından incirlere taşınan ve meyve kalitesini olumsuz etkileyen fungus kökenli bir

hastalıktır. Meyvenin ağız kısmında kahverengi, pas rengi lekeler ile başlayan hastalık ilerledikçe meyvenin ağız kırmızımsı, mor renk almakta ve sulanmaktadır. İncirlerde rastlanan diğer önemli iki hastalık ise sürme hastalığı ve ekşimedir. Sürme ve ekşimeye sebep olan küf ve mayalar ilek arısı, ekşilik böcekleri ve sirke sinekleri vasıtasıyla dişi incir meyvesine taşınmaktadır. Sürme hastalığı meyve içinde siyah toz yığını oluşumu şeklinde görülmekte iken, ekşime meyve ağız kısmında pembe, kırmızı akıntı ve mayalanma kaynaklı ekşimsi bir kokuya neden olmaktadır (İAİM, 2017).

1.3. Küfler Hakkında Genel Bilgi

Küfler, fungus alemi içinde yer almaktadır. Glukan ve kitin içerikli hücre duvarının bulunduğu, heteretrof, ökaryotik, doğada sıkça rastlanan önemli bir mikroorganizma grubudur (Lima ve Santos, 2017). Küfler çoğunlukla aerobik organizmalardır. Bu nedenle %10'un üzerindeki karbondioksit (CO₂) konsantrasyonu küf gelişimini inhibe etmektedir (Şanlı, 2002). Küfler 0°C ile 60°C gibi geniş bir sıcaklık aralığında gelişme gösterebilirler de çoğunlukla psikrotrof veya mezofilik özelliğe sahiptirler. Gelişme gösterdikleri pH aralığı da geniş olmasına karşın (2 ile 11 arasında) nötral ya da hafif asidik koşullarda optimum seviyede gelişirler. Gıda ürünlerinde rastlanan farklı mikroorganizmalar ile kıyaslandığında, küflerin gelişebildiği minimum su aktivitesi (a_w) değeri daha düşüktür (Kabak, 2007).

Küfler için uygun yaşam alanını karbonhidrat, protein, yağ ve nem bakımından zengin olan gıdalar oluştururken, küf kontaminasyonu ve gelişimi için çevresel faktörler de bir hayli önem arz etmektedir. Küf kontaminasyonu ve gelişimini hasat öncesinde, hasat sırasında, işleme, depolama ya da nakliye sırasında görmek mümkündür. Hasattan önce tarlada bulunan *Alternaria*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Cladosporium* cinslerine ait türler tarla küfleri; hasattan sonra depolama sırasında baskın olarak bulunan *Aspergillus* ve *Penicillium* cinslerine ait türler ise depo küfleri olarak adlandırılmaktadır (Kabak ve ark., 2006). Tarla küfleri gelişimi için %70-90 nispi nem, 20-25°C sıcaklık ve a_w>0,85 değerleri gerekli olup, a_w değeri 0,99'a yaklaştığında optimum gelişim gözlenir. Depo küfleri gelişimi için ise düşük nem seviyesi ve daha yüksek sıcaklık değerlerine ihtiyaç vardır. Minimum a_w değeri 0,75 ile 0,85 aralığında değişmekle birlikte 0,93-0,98 aralığında depo küfleri gelişimi optimum seviyeye ulaşmaktadır (Rodrigues ve ark., 2012).

Küflerin metabolik aktiviteleri esnasında birincil ve ikincil metabolitler şeklinde isimlendirilen ürünler sentezlediği bilinmektedir. Organizma gelişimi için önem arz eden proteinler, steroller, yağ asitleri ve aromatik amino asitler birincil metabolitler olarak adlandırılırken, logaritmik gelişim evresinin sonlarında sentezlenen ve küflerin normal metabolik etkinlikleri bakımından önemsiz sayılabilecek ürünleri ise ikincil metabolitler olarak tanımlanmaktadır (Kabak, 2007).

1.4. Mikotoksinler

Mikotoksinler, toksijenik bazı fungus türleri tarafından sentezlenen, insan ve hayvanlar için toksik etkilere sahip ikincil metabolitlerdir. *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Claviceps* mikotoksin üreten en yaygın küf cinsleridir (Moss, 1992; Sweeney ve Dobson, 1999; Galvano ve ark., 2001). Küf gelişimi açısından biyolojik bir önemi olmayan mikotoksinler, küfün normal gelişimini tamamladıktan sonra üretilmeye başlanmaktadır (D'Mello ve Macdonald, 1997; Hussein ve Brasel, 2001).

Gıdalarda bulunabilecek kimyasal tehlikelerden biri olan mikotoksinler, doğal oluşan toksik bileşikler sınıfında yer almaktadır. Mikotoksin oluşumunu etkileyen faktörler, üç başlık altında toplanmaktadır. Bunlar fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörlerdir. Nem, sıcaklık, zaman ve mekanik hasar fiziksel faktörleri; substrat bileşimi, ürüne gübre ve tarım ilacı uygulanma durumu, CO₂ ve oksijen (O₂) miktarı kimyasal faktörleri; küf sayısı, bitki dayanıklılığı, fungus türlerindeki genetik farklılık ve mikroorganizmalar arası etkileşim ise biyolojik faktörleri oluşturmaktadır.

Doğada 100'den fazla küf türü tarafından üretilen 400 kadar ikincil metabolit tanımlandığı belirtilmektedir. Biyolojik ve ekonomik açıdan en önemli mikotoksin türleri; *Aspergillus* türlerinin sentezlediği aflatoksinler (AFs), hem *Aspergillus* hem de *Penicillium* türlerinin sentezlediği okratoksin A (OTA), *Fusarium* türlerinin sentezlediği T-2/HT-2 toksin, deoksinivalenol (DON), zearalenon (ZEA), fumonisinler (FUM) ve moniliformin, *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Byssosclama* türlerinin ürettiği patulin (PAT), *Claviceps* spp. tarafından sentezlenen ergot alkaloidleri, *Alternaria* türlerinin sentezlediği, alternariol (AOH), alternariol monometil eter (AME), tenuazonik asit (TEA) ve tentoxindir (Reddy ve ark., 2010; Sanchis ve ark., 2013).

Birçok tarım ürünüde hasat öncesi veya hasat sonrası aşamada üretilen mikotoksinler hem insan hem de hayvan sağlığını tehdit etmektedir. Mikotoksin içeren ürünlerin tüketilmesi sonucu insanlarda ve hayvanlarda toksik etkiler oluşmaktadır. Mikotoksin ile kontamine olmuş gıdaların ve yemlerin tüketilmesi sonucu oluşan hastalıklar "mikotoksikozis" olarak adlandırılmaktadır (Seo ve Yu, 2005; Sherif ve ark., 2009).

Kaydedilen ilk mikotoksikozis olayı milattan sonra 943'te Fransa'da yaşanmıştır. *Claviceps purpurea* ile enfekte olan çavdar gibi tahılların tüketilmesi ile meydana gelen deliryum, gangren, halüsinasyon ve konvülsiyon gibi belirtilere sebep olan ergot zehirlenmesi (ergotizm) hastalığı sonucu çok sayıda insan hayatını kaybetmiştir. Tespit edilen diğer bir mikotoksikozis vakası ise II. Dünya Savaşı sırasında Rusya'nın Orenburg bölgesinde görülen "Alimentary Toxic Aleukia (ATA)" dır. ATA, kanda lökosit miktarının azalmasına bağlı olarak görülen lösemi şeklinde tanımlanmaktadır. Hastalığa, savaş nedeniyle hasadı zamanında yapılamamış, *Fusarium* başta olmak üzere *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium* ve *Mucor* cinsine ait küflerin ürettiği olduğu trikotesenlerle (tip A: T-2/HT-2 toksin) kontamine olmuş küflü mısırlardan

üretilem ekmeklerin sebep olduğu bildirilmiştir. *Penicillium* cinsi küfler tarafından üretilem sitrinin ise aynı dönemde Japonya'da "sarı pirinç" hastalığına sebep olmuştur (Richard, 2007; EFSA, 2012b). Bu derece önemli sonuçlar doğuran olaylar yaşanmış olmasına rağmen mikotoksinlerin sebep olduğu hastalıklar için bilimsel çalışmalar ancak 1960'larda başlayabilmiştir (FAO, 1990).

Mikotoksinler birçok organ ve dokuya zarar vererek insanlarda ve hayvanlarda hepatotoksik (karaciğer zararlanmaları), dermatitik (deride lezyonlar), nefrotoksik (böbrek sisteminde zararlanmalar), nörotoksik (sinir sistemi zararlanmaları), immunotoksik (bağışıklık sisteminde zararlanmalar), hemoraljik (doku ve organlarda kanama sorunları), tremorgenik (titreme ve refleks kayıpları sorunları), teratojenik (embriyonal zararlanmalar) ve karsinojenik etkilere sebep olabilmektedir (FAO, 1990).

Mikotoksinlerin insan ve hayvanlar üzerindeki toksik etkileri, toksinin tipine, birden çok toksine maruz kalınmasına, doza, maruziyet süresine, cinsiyete, yaşa ve metabolizmanın durumuna bağılı olarak değişebilmektedir (Galvano ve ark., 2001). Mikotoksinler, karsinojenik potansiyelleri bakımından Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından sınıflandırılmıştır. Sonuç olarak aflatoksin B₁ (AFB₁) "*insan karsinojeni (Grup 1)*"; aflatoksin M₁ (AFM₁), OTA ve fumonisin B₁ (FB₁) "*olası insan karsinojeni (Grup 2B)*" ve DON, ZEA ve PAT ise "*insan karsinojeni olarak sınıflandırılmaz (Grup 3)*" şeklinde kategorize edilmiştir (IARC, 1993).

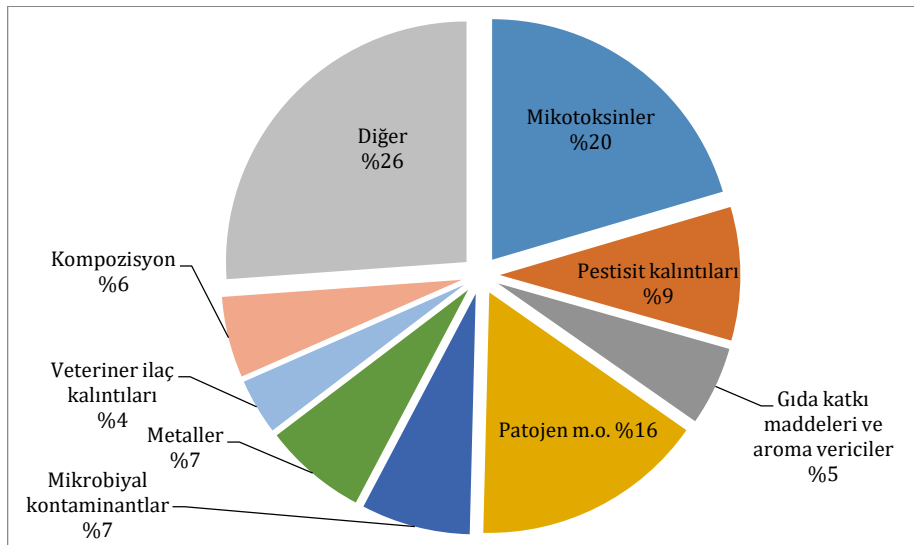
Gıdalarda en sık rastlanılan mikotoksinler AFs, OTA, PAT, FUM, ZEA ve trikotesenlerdir. Tahıl ve tahıl ürünlerinde, sert kabuklu meyvelerde, kuru meyvelerde, asma meyvesi ürünlerinde, baharat, kahve ve kakao gibi gıda ürünlerinde mikotoksin oluşumu gözlenmektedir. Buna ek olarak, kontamine olmuş yemlerin hayvanlar tarafından tüketilmesi ile birlikte et, süt ve yumurta gibi hayvansal ürünlerde de mikotoksin görülebilmektedir (Kabak, 2007).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), dünya genelinde mikotoksinlerle kontamine olan tarım ürünlerinin %25 seviyelerinde olduğunu ve bu nedenle yıllık ürün kaybının 1 milyar tona ulaştığını belirtmektedir (Marin ve ark., 2013). Gerek ekonomik gerekse sağılık bakımından bu derece öneme sahip mikotoksin kontaminasyonunun tüm aşamalarda takibinin yapılması büyük önem arz etmektedir (Rodrigues ve ark., 2012). Bu nedenle pek çok ülke ticarete yaşanan problemleri gidermek ve mikotoksin maruziyetini azaltmak için çok çeşitli gıda ürünlerinde maksimum limit (ML) değerleri oluşturmuşlardır (Marin ve ark., 2013). Ülkemizde, mikotoksinlerin gıda ürünlerinde bulunmasına izin verilen ML değerleri Türk Gıda Kodeksi (TGK) Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirlenmiştir. Ülkelerin gelişmişlik düzeyi, gıda güvenliği ve halk sağılığına verilen önem, sosyal ve politik şartlar bu limit değerler üzerinde etkili olabilmektedir. Başta Avrupa Birliği (AB) ülkeleri olmak üzere ithalatçı ülkeler, mikotoksinler için ML değerlerini oldukça düşük tutmakta ve bu durum tarımsal ürün ihracatında ülkemiz gibi önde gelen ülkeler için büyük önem arz etmektedir.

Dünyadaki en yüksek gıda güvenliği standartlarından birine gıdanın tüketiciler için güvenli olmasını büyük ölçüde sağlayan AB ülkeleri sahiptir. Gıda ve yem zincirinde sağlığa yönelik herhangi bir risk söz konusu olduğunda ilgili ürünün alıkonması, geri toplatılması, el konması ya da reddedilmesi gibi aksiyonlar alınması ve bilgi akışının sağlanması amacıyla Gıda ve Yem için Hızlı Alarm Sistemi (Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF) oluşturulmuştur. Temelleri 1979 yılına dayanan bu sistem 2002 yılı Komisyon Yönetmeliği ile yasal zemine oturtulmuştur. RASFF bildirim kriterleri 178/2002 numaralı AB Yönetmeliğinin 50. maddesinde yer almaktadır. 2002 yılında bu sistemin üyeleri arasında 18 ülke yer alırken günümüzde AB üyesi 28 ülke, Avrupa Ekonomik Bölge Ülkeleri (EEA) olan İzlanda, Lihtenştayn ve Norveç ile İsviçre'nin de aralarında bulunduğu 32 ülke ile birlikte AB Komisyonu ve Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu (EFSA) yer almaktadır (RASFF, 2021).

RASFF, bilgilerin üyeler arasında etkin paylaşımına imkân sağlar. Bu sistem sayesinde bildirimlerin gönderilmesi, alınması ve yanıtlanması verimli şekilde yürütülmektedir. Yıllar içerisinde olgunlaşıp güçlü bir sistem haline gelen RASFF sayesinde Avrupa'da yaşayan insanların gıda güvenliği riskine maruz kalmalarının önüne büyük oranda geçilmiştir. İnsan ve hayvan sağlığını olumsuz etkileyecek herhangi bir riskin bulunması halinde "alarm", "bilgi", "haber" ve "sınırdan ret" şeklinde sınıflandırılmış bildirimler gönderilmektedir. Hızlı alarm sisteminde bulunan tehlikeler; mikotoksinler, genetiği değiştirilmiş organizmalar (GMO), kimyasal kontaminasyon, hile/tağşiş, patojen mikroorganizmalar, gıda katkı ve aroma vericileri, pestisit kalıntıları, veteriner ilaç kalıntıları, ağır metaller ve kusurlu paketleme gibi toplam 26 başlık altında toplanmıştır (RASFF, 2021).

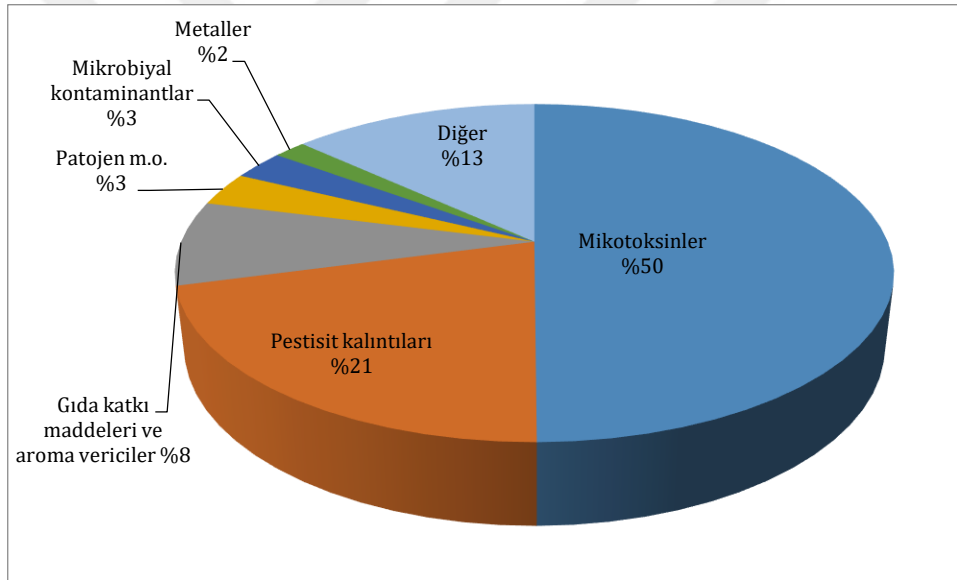
RASFF sisteminin temelini oluşturulduğu 2002 yılından 2020 yılının sonuna kadar geçen süre içerisinde bazı ülkelerden Avrupa'ya ihraç edilen ürünlerde karşılaşılan tehlikelere dair RASFF bildirim (RASFF, 2021) oranları Şekil 1.4'te verilmiştir.



Şekil 1.4. 2002-2020 yılları arasında çeşitli ülkelerden AB'ye ihraç edilen ürünlerde tehlike sınıfına göre RASFF bildirim oranları

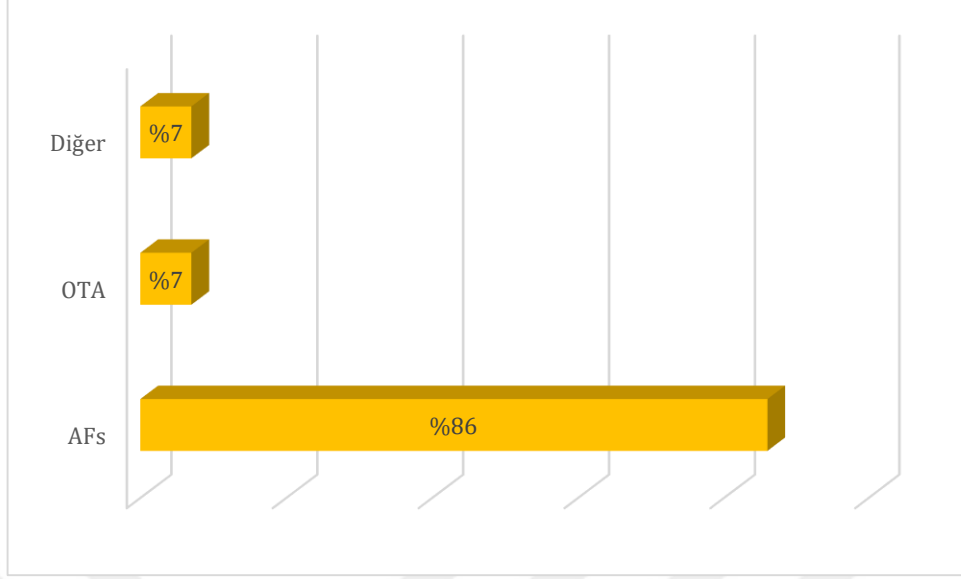
2002-2020 yılları arasında RASFF sisteminde gıda ve yem kaynaklı toplam 59.199 bildirim bulunmaktadır. Şekil 1.4'ten de görülebileceği gibi 2002-2020 yılları arasında farklı ülkelerden AB'ye ihraç edilen ürünlerde en çok bildirim alan tehlike grubunu mikotoksinler (12.096 adet, oransal olarak %20) oluşturmaktadır. Mikotoksinleri takip eden diğer tehlike grupları ise 9.288 adet (oransal olarak %16) ile patojen mikroorganizmalar ve 5.303 adet (oransal olarak %9) ile pestisit kalıntılarıdır.

RASFF sisteminde 2002-2020 yılları arasında Türkiye orijinli gıda ürünleri ile ilgili toplam 5.308 bildirim bulunmaktadır. Dünya genelinde olduğu gibi ülkemiz için de asıl tehlikeyi 2.649 (oransal olarak %50) bildirim ile mikotoksinler oluşturmaktadır. Mikotoksinleri takip eden diğer tehlike grupları ise 1.112 (oransal olarak %21) bildirim ile pestisit kalıntıları, 430 (oransal olarak %8) bildirim ile gıda katkı maddeleri ve aroma vericiler, 172 (oransal olarak %3) bildirim ile patojen mikroorganizmalar, 149 (oransal olarak %3) bildirim ile mikrobiyal kontaminantlar ve 93 (oransal olarak %2) bildirim ile ağır metallerdir (RASFF, 2021). Şekil 1.5'te Türkiye orijinli gıda ürünlerinde en çok bildirim alınan tehlike sınıfları gösterilmiştir.



Şekil 1.5. 2002-2020 yılları arasında Türkiye orijinli gıda ürünlerinde en çok bildirim alınan tehlike sınıfları

2002-2020 yılları RASFF sistemi verilerine bakıldığında Türkiye'den ihraç edilen kuru incirler için toplamda 1.064 bildirim bulunmaktadır. Bunlardan 918'ini (%86) AFs oluşturarak ilk sırada yer alırken, 72 bildirim (%7) ile OTA ikinci sırada bulunmaktadır. Kalan 74 (%7) bildirimini ise diğer tehlike sınıfları oluşturmaktadır. Bu veriler de hem gıda güvenliği hem de ekonomik açıdan en önemli mikotoksin tipinin AFs ve OTA olduğunu göstermektedir. Şekil 1.6'da 2002-2020 yılları arasında Türkiye orijinli kuru incirlerde en fazla bildirim alan tehlike sınıfı yüzdeleri verilmiştir.



Şekil 1.6. 2002-2020 yılları arasında Türkiye orijinli kuru incirlerde en fazla bildirim alan tehlike sınıfları

1.5. AFs

AFs, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* türü küflerin toksijenik suşları tarafından üretilmektedir. Doğada *A. flavus* ve *A. parasiticus*'a sıklıkla rastlanırken, *A. nomius* nadiren bulunmaktadır. AFs'nin *A. flavus* ve *A. parasiticus* tarafından üretilen AFB₁, aflatoksin B₂ (AFB₂), aflatoksin G₁ (AFG₁) ve aflatoksin G₂ (AFG₂) olmak üzere dört temel tipi bulunmaktadır. *A. flavus* yalnızca B grubu, *A. parasiticus* ise hem B hem de G grubu AFs sentezleyebilmektedir. Bu dört temel fraksiyonun yanında AFM₁ ve aflatoksin M₂ (AFM₂) şeklinde adlandırılan önemli iki AFs tipi daha vardır. Bunlar AFs içeren yemle beslenmiş laktasyon döneminde bulunan memelilerin süt ve idrarından izole edilmiştir (EFSA, 2004).

İnsan sağlığı bakımından bilinen en tehlikeli mikotoksin genetik karsinojen olan AFs'dir. Dolayısıyla son derece önem arz eden bu toksinler, 1960'lı yıllarda İngiltere'de çok sayıda kanatlı hayvanın ölümü ile sonuçlanan "Turkey X" hastalığı neticesinde keşfedilmiştir. Yüz binden fazla hindinin ve çok sayıda çiftlik hayvanının ölümü ile sonuçlanan salgınlar sonrasında analizler yapılmış ve etmenin *A. flavus* ile kontamine olmuş Brezilya'dan ithal edilen yer fıstığı küspesinin olduğu tespit edilmiştir. Bu sebeple, keşfedilen metabolit "A-flavus-toxin" in kısaltılması ile elde edilen "aflatoksin" olarak isimlendirilmiştir (Hendrickse, 1997; Steyn ve Stander, 1999).

AFs'nin 1960'larda keşfinden sonra Türkiye'de AFs kaynaklı sorunlar yaşanmaya başlamıştır. Bunlardan ilki 1967 yılında Kanada'ya ihraç edilen fındıkların AFs içeriğinin fazla bulunması sebebiyle sınırda reddedilmesidir. 1971'de ABD'ye ihraç edilen Antep fıstıkları ve 1972 yılında Danimarka'ya gönderilen kuru incirler de AFs içerdikleri gerekçesi ile geri gönderilmiştir.

İhracatta yaşanan bu sorunlar ülkemizde mikotoksinlerle ilgili çalışmaların başlamasına vesile olmuştur (Heperkan, 2003).

AFs'nin oluşumunda ürün nemi, ortamın nispi nemi, sıcaklık, kurutma hızı, ortamda var olan fungus ve spor yoğunluğu gibi çok sayıda parametre söz konusudur. Bunlar arasında nem ve sıcaklık en önemlileri olarak kabul edilmektedir. AFs'nin sentezi için optimum sıcaklık değerinin 25-30°C nispi nemin de %70'in üstünde olması gerektiği belirtilmektedir. Küf gelişimi ve toksin oluşumu için gerekli olan sıcaklık ve a_w değerleri farklı olmakta ve türe göre değişiklik göstermektedir. *A. parasiticus* gelişimi için minimum sıcaklık aralığı 6-8°C iken, 25-35°C'de optimum gelişme göstermektedir. *A. flavus* için optimum gelişme aralığı ise 19-35°C olup, 12-42°C arasında toksin üretebilmektedir. 0,98-0,99 a_w değeri AFs gelişimi için optimum olarak kabul edilmekte ve a_w değerinin 0,85 seviyelerine düştüğünde toksin üretiminin durduğu belirtilmektedir (Doyle ve ark., 1997).

AFs oluşumu, küfün ürüne tarlada bulaşması ve kolonizasyonu ile başlayıp hasat, kurutma, depolama ve işleme aşamalarında devam etmektedir (Bedard ve Massey, 2006). AFs oluşumunda etkili olan küflerin ürettiği tüm gıda ürünlerinde AFs bulunma riski vardır. AFs'nin en çok rastlandığı ve riskli olarak değerlendirilebilecek gıda maddeleri; mısır ve mısır ürünleri başta olmak üzere çeşitli tahıl ve tahıl bazlı ürünler, baharat, yer fıstığı, sert kabuklu meyveler (Antep fıstığı, fındık, ceviz, badem gibi), kurutulmuş meyveler (kuru incir, kayısı, üzüm vb.), ayçiçeği, hindistan cevizi, kakao, süt ve süt ürünleridir (Hepsag ve ark., 2014).

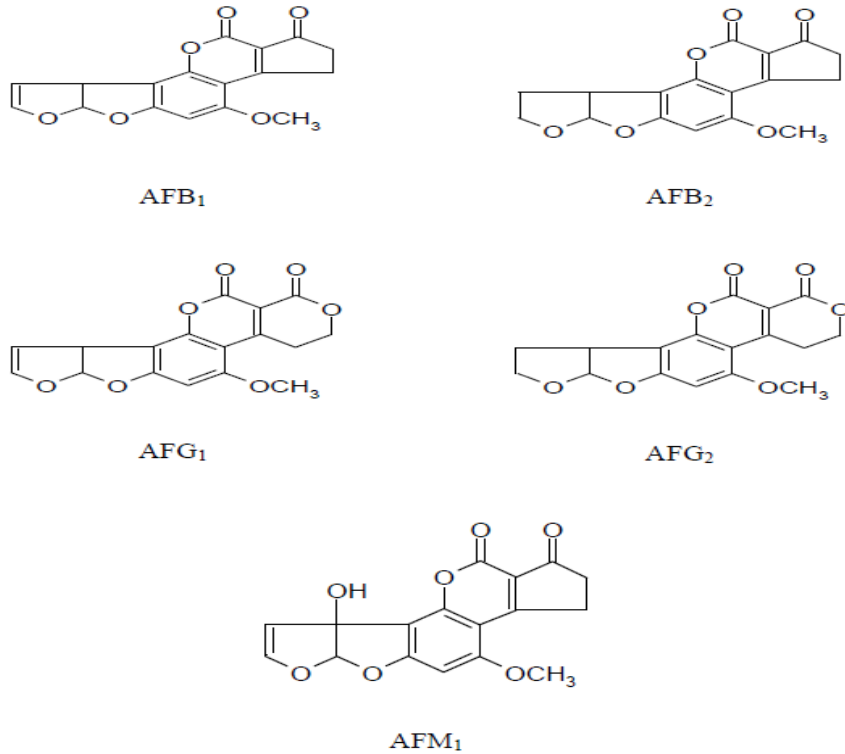
1.5.1. AFs'nin kimyasal yapıları ve özellikleri

Difuranokumarin yapısında olan AFs'nin yirmi türü tanımlanmasına rağmen AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂ doğada en sık rastlanan tipleridir. Bu isimlerle anılmalarında kromatogramdaki hareketleri ve floresans özellikleri etkili olmuştur. Ultraviyole (UV) ışığı altında "mavi (blue)" renk verenler "B", "yeşil (green)" renk verenler "G" harfleri ile simgelenmektedir. Alt indis şeklinde kullanılan "1" ve "2" rakamları da majör ve minör metabolitleri ifade etmektedir (Pitt, 2000a; Zheng, 2005). Kloroform-metanol hareketli fazında geliştirilen ince tabaka kromatografisi (Thin Layer Chromatography, TLC)'nde UV ışığı altında AFB₁ ve AFB₂ sırasıyla 0,40 ve 0,36 yürüme hızı (R_f) verirken, AFG₁ ve AFG₂ ise 0,34 ve 0,31 R_f değerlerinde turkuaz yeşili floresans vermektedir (Desphande, 1994). AFB₁ ile kontamine olan yemlerin memeli hayvanlar tarafından tüketilmesiyle AFB₁'in süt ve süt ürünlerindeki türevi olan AFM₁ oluşmaktadır (EFSA, 2004). En sık rastlanan AFs'nin molekül formülü, molekül ağırlığı ve erime noktası gibi kimyasal ve fiziksel özellikleri Tablo 1.2'de özetlenmiştir.

Tablo 1.2. AFs'nin kimyasal ve fiziksel özellikleri (Cole ve ark., 2003)

Aflatoksin	PubChem CID	Molekül formülü	Molekül ağırlığı (g mol ⁻¹)	Erime noktası (°C)
AFB ₁	186907	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312,27	268
AFB ₂	2724360	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314,29	287,5
AFG ₁	14421	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328,27	257-259
AFG ₂	2724362	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330,29	238,5
AFM ₁	15558498	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328,27	299

AFs'nin moleküler yapıları ise Şekil 1.7'de gösterilmiştir.



Şekil 1.7. AFs'nin moleküler yapıları (Lerda, 2011)

1.5.2. AFs'nin sağlık üzerine etkileri

AFs'nin insanlarda ve hayvanlarda neden olduğu akut ve kronik mikotoksikoz "aflatoksikoz" olarak adlandırılmaktadır. Akut yani yüksek dozda toksinin bir seferde alımı sonucu gelişen ani zehirlenme vakalarına çok fazla rastlanmamaktadır (Taydaş, 1993). Akut insan zehirlenmesinde kusma, karın ağrısı, ishal, depresyon, anoreksiya, sarılık ve ışığa duyarlılık gibi belirtiler görülmektedir. Yemlerde yüksek miktarda AFs'nin bulunması nedeniyle akut aflatoksikozis vakalarına insanlara kıyasla hayvanlarda daha sık rastlanmaktadır (Marin ve ark., 2013).

Toksin ile kontamine olmuş gıdaların vücuda alınması ve toksinin zamanla vücutta birikmesi sonucu uzun bir dönemde gerçekleşen kronik toksisite, aflatoksikozisin en fazla rastlanan biçimidir. AFs'ye maruz kalma miktarları az dahi olsa uzun vadede kronik etkilere neden olabilmektedir. Cinsiyet, yaş, maruz kalma süresi ve doz gibi faktörler toksik etki açısından önem arz etmektedir. Karaciğer kanseri ilk sırada yer almakla birlikte hepatit ve akciğer kanseri kronik AFs hastalıkları olarak değerlendirilmektedir (EFSA, 2020a).

Kronik toksisite sonucu hayvanlarda sıklıkla rastlanan semptomlar kilo kaybı, daha az yem dönüşümü, yumurta ve süt üretiminde azalma ile bulaşıcı hastalıklara duyarlılığın artmasıdır (Marin ve ark., 2013).

Genotoksik karsinojen olarak bilinen AFs insanlarda ve hayvanlarda karsinojenik, mutajenik ve teratojenik etki göstermektedir. Organizmanın temel fonksiyonlarını etkilemekte ve gelişmeyi durdurmaktadır. AFs malign tip (kötü huylu) tümör hücrelerinin oluşumunu tetiklemekte, bağışıklık sistemini baskılamakta, enfeksiyon direncini düşürmekte ve hepatit B hastalarında karaciğer kanserine yakalanma riskini artırmaktadır (Guyonnet ve ark., 2002).

AFB₁, AFs içinde en yüksek toksik etki gösteren moleküldür. AFB₁'in hidrosillenmiş türevlerinden biri olan AFM₁'in karsinojenik etkisi AFB₁'den yaklaşık 10 kat daha düşüktür (Ueno, 1985; Groopman ve Kensler, 1988). AFs tiplerinin canlılarda neden olduğu toksik etki derecesi AFB₁>AFM₁>AFG₁>AFB₂>AFM₂>AFG₂ şeklinde sıralanmaktadır (Farkhondeh, 2014).

1.5.3. AFs yasal limitleri

AFs'nin 1960'lı yıllarda keşfedilmesinden sonra mikotoksin içeren gıdaların sağlık ve ticaret açısından oluşturduğu tehlikeleri önlemek amacıyla pek çok ülke gıdalarda bulunmasına izin verilen ML değerleri belirlemiştir. Mikotoksin toksisitesi, mikotoksinin gıdada bulunma miktarı, gıdanın tüketim miktarı, analitik metot ve ekonomik koşullar gibi etkenler ML değerinin belirlenmesinde önemli olmaktadır.

2006'da "Commission Regulation 1881/2006" ile AB'de belirli bulaşanlar için gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen ML değerleri belirlenmiştir (European Commission (EC), 2006b). İlerleyen dönemlerde, gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen ML değerlerinin bazılarında güncellemeler/eklemeler yapılmıştır. AB'ye katılım müzakereleri süreci devam eden Türkiye de ML değerlerini "Fasıl 12- Gıda Güvenliği, Veterinerlik ve Bitki Sağlığı" kapsamında AB ile uyumlu hale getirerek yapılan düzenlemeleri 2011 yılı TKG Bulaşanlar Yönetmeliği'nde yayımlamıştır (TKG, 2011). Bu yönetmelik kapsamında doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan kurutulmuş meyvelerde AFB₁ ve toplam AFs (AFB₁+AFB₂+AFG₁+AFG₂) için limit değerler sırasıyla 8 ve 10 µg kg⁻¹ olarak belirlenmiştir. Diğer yandan, 2012 yılında yayımlanan AB "Commission Regulation (EU) No

1058/2012" sayılı tüzüğünde kuru incirler için AFB₁ ve toplam AFs limitleri ise sırasıyla 6 ve 10 µg kg⁻¹ olarak oluşturulmuştur (EC, 2012).

1.6. OTA

Okratoksinin A, B ve C şeklinde üç türevi bulunmakla birlikte en yaygın formu OTA'dır. OTA, ilk olarak Güney Afrika bölgesinde 1965 yılında *Aspergillus ochraceus* küfünden izole edilmiştir. OTA, *Aspergillus* ve *Penicillium* grubuna ait küflerin farklı tür ve suşları tarafından üretilmektedir (Khoury ve Atoui, 2010). *Aspergillus* cinsi küfler daha çok tropikal ve yarı tropikal bölgelerde; *Penicillium* cinsi küfler ise ılıman ve soğuk bölgelerde etkili olmaktadır. OTA üretimi açısından bunlar arasında en önemlileri; *Penicillium verrucosum*, *A. ochraceus* ve *Aspergillus carbonarius*'dur (EFSA, 2006). Bu küf türleri etkilediği ürünler, ekolojileri ve çeşitli coğrafi bölgelerde rastlanma sıklığı bakımından farklıdır. *A. carbonarius*, siyah sporlara sahiptir. Bu nedenle, güneş ışığına ve kurutma işlemine dayanıklı olup, üzüm suyu ve şarap gibi asma meyvesi ürünlerinde tespit edilen OTA'nın kaynağı olarak gösterilmektedir. Tahıl, kakao, kahve ve sert kabuklu meyveler *A. ochraceus* ile kontamine olurken; arpa, buğday, pirinç, yulaf gibi tahıl ve tahıl ürünleri daha çok *P. verrucosum*'dan etkilenmektedir (JECFA, 2001; EFSA, 2006).

Gıda ve yemlerde görülen okratoksijenik küf ve OTA oluşumu diğer mikotoksijenik küflere benzer şekilde ürün gelişimi, hasat işlemi, kurutma ve depolama süreçlerindeki sıcaklık ve nem değerlerine göre gerçekleşmektedir (Soufleros ve ark., 2003). *A. carbonarius* minimum 10°C, maksimum 40°C'de gelişim göstermektedir. Optimum gelişme gösterdiği sıcaklık aralığı ise 30-35°C'dir (Pitt, 2000b). *A. ochraceus* 8 ile 37°C arasında gelişebilirken 25-30°C arasında optimum gelişme göstermekte ve minimum 0,83 a_w değerinde toksin üretmektedir (Wang ve ark., 2016). 0 ile 31°C arasında gelişme gösteren *P. verrucosum*'un optimum gelişme sıcaklığının 20°C olduğu, minimum a_w değerinin ise 0,80 olarak tespit edildiği bildirilmiştir (CAC, 2002).

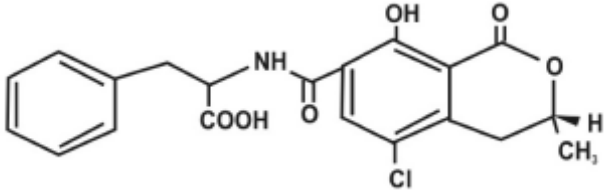
1.6.1. OTA'nın kimyasal yapısı ve özellikleri

OTA, beyaz ya da renksiz kristal yapıya sahip, suda çözünürlüğü az olan fakat alkol, keton, kloroform gibi polar organik çözücüler ile seyreltilmiş sulu sodyum bikarbonat çözeltisinde çözünebilir zayıf asidik özelliğe sahip bir bileşiktir. UV ışığı altında asidik ortamda yeşil, alkali ortamda ise mavi floresans vermektedir (Khoury ve Atoui, 2010).

OTA, dihidro-metil-izokumarin halka sisteminde beşinci karbondan okratoksin B'de bulunmayan klor atomuna sahiptir. Bu klor atomuna fenolik OH eklenmesi ile toksisite artmaktadır (Petzinger ve Ziegler, 2000).

OTA'nın bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri Tablo 1.3'te belirtilmiştir.

Tablo 1.3. OTA'nın kimyasal ve fiziksel özellikleri (IARC,1993; Khoury ve Atoui, 2010)

Parametre	OTA
Adı	L-fenilalanin, N-((5-kloro-3,4-dihidro-8-hidroksi-3-metil-1-okso-1H-2-benzopiren-7-il)-karbonil)-, (R)-
IUPAC sistematik adı	L-fenilalanin-N-[(5-kloro-3,4-dihidro-8 hidroksi-3-metil-1-okso-1H-2-benzopiren-7-yl) karbonil]- (R)-izokumarin
CAS numarası	303-47-9
Moleküler formülü	C ₂₀ H ₁₈ O ₆ NCl
Molekül ağırlığı (g mol ⁻¹)	403,82
Yoğunluk (g ml ⁻¹)	1,2459
Erime noktası (°C)	169
Çözünürlük	Polar organik çözücülerde ve sulu sodyum bikarbonatta (NaHCO ₃) yüksek oranda çözünür, suda az çözünür
Renk	Renksiz, beyaz
Kimyasal yapı	

OTA biyosentezinin gerçekleşme şekli tam anlamıyla açıklanamasa da OTA'nın moleküler yapısı incelendiğinde biyosentezin gerçekleşebilmesi için çok sayıda enzimatik reaksiyona ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir (Gallo ve ark., 2009).

Diğer mikotoksin tipleri gibi kavurma, fırınlama, kızartma vb. geleneksel gıda proseslerine karşı oldukça stabil bir yapı gösteren OTA'nın, 180°C üzerindeki sıcaklıklarda %90'a yaklaşan oranlarda kayba uğradığı bildirilmektedir (EFSA, 2006; EFSA, 2020b).

1.6.2. OTA'nın sağlık üzerine etkileri

Yapılan çalışmalar OTA'nın bazı hayvanlar üzerinde nefrotoksik, immunotoksik, teratojenik, hepatotoksik ve karsinojenik etkilere sahip olduğunu göstermektedir (Raiola ve ark., 2012). OTA'nın temel toksik etki mekanizmasının ATP azalması ile mitokondriyel solunumun inhibe edilmesi, protein sentezinin azalmasına eşlik eden tRNA sentezinin inhibisyonu ve lipid peroksidasyonunun artması olduğu bildirilmektedir (SCF, 1998).

OTA, insanlarda ve hayvanlarda böbrek sorunları ile üst üriner sistem tümörlerine sebep olan güçlü bir nefrotoksijenik ajan olarak değerlendirilmektedir (Bakker ve Pieters, 2002; Clark ve Snedeker, 2006, EFSA, 2006). Bulgaristan, Romanya ve eski Yugoslavya gibi Balkan ülkelerinde yaşayan insanlarda görülen "Balkan Endemik Nefropatisi (BEN)" ve üriner bölge tümörlerinin sebebinin OTA olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte, BEN'e 35-55 yaş aralığındaki kadınlarda daha fazla rastlandığı; iştahsızlık, zayıflık, belde kronik ağrı, böbrek fonksiyon bozukluğu ve böbreklerden protein sızması sonucu idrarda protein seviyesinin artması

(proteinuria) gibi semptomlar görüldüğü bildirilmektedir (Pfohl-Leszkowicz ve Manderville, 2007).

OTA'nın akut ve kronik etkileri söz konusudur. OTA'nın kronik nefropatilerdeki rolü çok sayıda memelide detaylıca araştırılmış ve sıçan, fare gibi deney hayvanlarına nazaran domuzların hassasiyetinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalar köpek ve domuzların akut toksisite bakımından OTA'ya karşı en duyarlı, sıçan ve farelerin ise en az duyarlı hayvanlar olduğunu göstermektedir. Ancak OTA'nın insanlara karşı akut toksisitesi ile ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır (JECFA, 2001).

IARC, OTA'yı "*olası insan karsinojeni (Grup 2B)*" olarak sınıflandırmıştır (IARC, 1993). Gıda Katkı Maddeleri FAO/Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Ortak Uzman Komitesi (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA) 2001 yılında *Geçici Tolere Edilebilir Haftalık Alım Miktarını* (Provisional Tolerable Weekly Intake, PTWI) 100 ng kg⁻¹ vücut ağırlığı (v.a.) olarak açıklamıştır (JECFA, 2001). EFSA ise OTA için *Tolere Edilebilir Haftalık Alım Miktarını* (Tolerable Weekly Intake, TWI) 120 ng kg⁻¹ v.a. olarak belirlemiştir (JECFA, 2001; EFSA, 2006; EFSA, 2010). Diğer yandan, Bulaşanlar Panelinin 2020 yılında OTA üzerine yayımladığı son bilimsel görüşte ise, 2006 yılında Panel tarafından belirlenmiş olan 120 ng kg⁻¹ v.a. TWI'nin artık geçerli olmadığı bildirilmiştir (EFSA, 2020b).

1.6.3. OTA yasal limitleri

Tüketicileri OTA ve diğer mikotoksinlerin zararlarından korunmak amacıyla birçok gelişmiş ve gelişmekte olan ülkede yasal limitler belirlenmiştir. AB'de halk sağlığını korumak amacıyla spesifik kontaminantlar için maksimum tolerans limitlerinin oluşturulması gerektiği kararı ilk olarak 1993'te AB "Council Regulation (EEC) No 315/93" sayılı tüzüğünde verilmiştir (EC, 1993). Bu tüzükte OTA ile ilgili ML değeri bulunmazken, 2002 yılında yayımlanan AB "Commission Regulation (EC) No 472/2002" tüzüğünde OTA için ilk kez bazı gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen ML değerleri belirlenmiştir. Başlangıçta OTA ML değerleri sadece tahıl, işlem görmüş tahıl bazlı gıdalar ve kurutulmuş asma meyveleri için oluşturulmuştur. Bebek mamaları, bebekler ve çocuklar için işlenmiş tahıl bazlı gıdalar ile bebeklere özel tıbbi amaçlı diyet ek gıdaları ise 2004 yılında yayımlanan tüzüğe (Commission Regulation EC 683/2004) dahil edilmiştir (EC, 2004). 2006 yılında ise üzüm nektarı ve üzüm suyu, kahve ekstraktı, kavrulmuş kahve çekirdeği, çözünebilir kahve ve öğütülmüş kahve ile şarap ve meyve şarapları için ML değerleri açıklanmıştır (EC, 2006b). Son olarak baharata ait ML değerleri 2015'te AB "Commission Regulation (EU) 2015/1137" sayılı ek tüzüğünde belirtilmiştir (EC, 2015). Diğer yandan, AB'de kuru incirde OTA ile ilgili herhangi bir limit bulunmamakla birlikte, kuru incir ve sert kabuklu meyvelerde (findık, Antep fıstığı gibi) OTA limiti üzerinde çalışmalar yapılmakta olup, önümüzdeki birkaç yıl içerisinde yayımlanması beklenmektedir.

Ülkemizde OTA yasal limitleri ilk kez, 2002 yılında yayımlanan “TGK Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ” (Tebliğ No: 2002/63)’de yer almıştır. OTA ve diğer mikotoksinler için ML değerleri AB’ye katılım müzakereleri süreci dolayısıyla AB “Commission Regulation (EC) No 1881/2006” sayılı tüzüğü ile uyumlu hale getirilmiş ve 2008/26 numaralı tebliğ ile Resmî Gazete’de yayımlanarak 2008’de yürürlüğe girmiştir (Resmî Gazete, 2008). Sonrasında bu tebliğ yürürlükten kaldırılmış ve 29 Aralık 2011 tarihli ve 28157 sayılı Resmî Gazete’de yayımlanan “TGK Bulaşanlar Yönetmeliği” uygulanmaya başlanmıştır (TGK, 2011). TGK Bulaşanlar Yönetmeliği’nde kuru incirlerde OTA için ML değeri bulunmamaktadır. Benzer şekilde, bilindiği kadarıyla halihazırda dünyada hiçbir ülkede kuru incirde OTA için spesifik ML değeri oluşturulmamıştır.

1.7. Kuru İncirlerde AFs ve OTA Kontaminasyonu Konusunda Yapılan Çalışmalar

Kuru incirlerde hem sağlık hem de ticaret bakımından sorun teşkil eden AFs ve OTA ile ilgili çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Heshmati ve ark. (2017), İran’da 22 kuru incir örneği kullanarak yaptıkları çalışmada örneklerin 13’ünde (oransal olarak %59,1) 0,3-7,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında değişen miktarlarda AFs’ye rastlandığını rapor etmişlerdir.

Benzer şekilde, kuru incirlerde AFs doğal oluşumu ile ilgili Cezayir’de gerçekleştirilen bir çalışmada, 33 örnek toplanmış ve bu örneklerin 26’sında (oransal olarak %78,8) konsantrasyon aralığı 0,22-83,4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olan AFB₁ ve AFB₂ tespit edildiği belirtilmiştir (Mimoune ve ark., 2018).

Çin’de farklı satış noktalarından alınan 20 kuru incir numunesi ile yapılan mikotoksin maruziyeti ve risk değerlendirmesi çalışmasında ise toplam 10 örnekte (oransal olarak %50) 0,4-384,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ değer aralığında AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂’ye rastlanmıştır (Wang ve ark., 2018).

Ülkemizde gerçekleştirilen çalışmalara bakılacak olursa, Bircan ve ark. (2008) Türkiye’den ihraç edilecek 2643 adet kuru incir örneğini AB Komisyonları Direktifi’ne göre toplamıştır. Toplanan örnekler yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) tekniği ile analiz edilmiş ve örneklerin 313’ünde (oransal olarak %11,8) 0,2-162,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında AFs saptanmıştır.

Bu konuda yapılan diğer bir çalışmada, Türkiye’de çeşitli ihracatçı firmalardan (2.461 numune) ve yerel mağazalardan (219 numune) toplanan kuru incirler, AFs’nin insidansını belirlemek ve karşılaştırmak için HPLC yöntemi ile analiz edilmiştir. İhraç edilecek 2.461 kuru incir örneğinin 580’inde (oransal olarak %23,6), yurt içinde satışı sunulan 219 örneğin ise 104’ünde (oransal olarak %47,5) AFs tespit edilmiştir. İhraç edilecek incir numunelerinin 369’unda 2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ’den az, 88’inde 2-4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında, 68’inde 4-10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında, 46’sında 10-50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında, 4’ünde 50-100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında ve 5’inde de 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ miktarının üzerinde AFs bulunduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, yurt içi pazarına sunulacak

örneklerden 44'ünün 2 µg kg⁻¹'dan az, 11'inin 2-4 µg kg⁻¹ aralığında, 12'sinin 4-10 µg kg⁻¹ aralığında, 15'inin 10-50 µg kg⁻¹ aralığında, 10'unun 50-100 µg kg⁻¹ aralığında ve 11'inin de 100 µg kg⁻¹'in üzerinde AFs ile kontamine olduğu rapor edilmiştir (Bircan ve Koç, 2012).

Kabak (2016), Türkiye'nin çeşitli illerindeki farklı satış noktalarından Kasım 2013-Mayıs 2015 dönemlerinde toplanan 130 kuru incir örneği ile yaptığı çalışma sonucunda, 16 örnekte (oransal olarak %12,3) 28,2 µg kg⁻¹'a varan miktarlarda AFs bulunduğunu ve dört tip aflatoksinin tamamına farklı miktarlarda rastlandığını bildirmiştir.

Ülkemizde gerçekleştirilen diğer bir çalışmada ise, Sakarya'daki perakende satış noktaları, yerel mağazalar, marketler ve pazarlardan rastgele satın alınan 45 kuru incir numunesindeki AFs kontaminasyonu HPLC yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Toplam 23 örnekte (oransal olarak %51) AFs'ye rastlanmış ve bunların 22'sinde 0,16-5,20 µg kg⁻¹ aralığında, 1 örnekte ise bu değerlerin üstünde AFs tespit edilmiştir (Yılmaz, 2017).

Başegmez (2019), ülkemizde AFs ile kontamine olan kuru incir tüketiminin yetişkin Türk popülasyonuna karşı sağlık riskini değerlendirebilmek adına hasat yılları 2011-2012 olan 4.116, 2012-2013 olan 4.644, 2013-2014 olan 5.041, 2014-2015 olan 4.677 ve 2015-2016 olan 5.069 kuru incir örneğinin analiz sonuçlarını bildirmiştir. Araştırmacı, AFs ile kontamine olan örnek sayılarının hasat yıllarına göre sırasıyla 403 (oransal olarak %9,79), 627 (oransal olarak %13,50), 550 (oransal olarak %10,91), 426 (oransal olarak %9,11) ve 504 (oransal olarak %9,94) olduğunu vurgulamıştır. Belirlenen toplam AFs miktarlarının ise yine sırasıyla 0,51-374,1 µg kg⁻¹, 0,51-415,2 µg kg⁻¹, 0,50-477,9 µg kg⁻¹, 0,51-264 µg kg⁻¹ ve 0,51-403,9 µg kg⁻¹ aralığında olduğunu rapor etmiştir.

Kuru incirlerde mikotoksin ile ilgili yapılan çalışmalar gerek yurtdışında gerekse ülkemizde daha çok AFs üzerine yoğunlaşırken, OTA ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Son yıllarda çeşitli ülkelerde ve Türkiye'de gerçekleştirilen araştırmalardan bazıları şu şekildedir:

Fas'ın başkenti Rabat'taki perakende satış mağazalarından ve Fas'taki diğer farklı satış noktalarından temin edilen 20 kuru incir örneği OTA kontaminasyonu bakımından analiz edilmiş ve 13 örnekte (oransal olarak %65) 0,03-1,42 µg kg⁻¹ aralığında OTA tespit edilmiştir (Zinedine ve ark., 2006).

Pavón ve ark. (2012) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise, İspanya'da bulunan yerel satış noktalarından her biri yaklaşık 500 g ağırlığında 35 kuru incir örneği temin edilerek enzyme linked immuno sorbent assay (ELISA) yöntemi ile OTA kontaminasyonu tespit edilmiş ve örneklerin 19'unda (oransal olarak %54,3) 3,15 ile 245,3 µg kg⁻¹ arasında değişen konsantrasyonlarda OTA bulunduğu bildirilmiştir.

Benzer şekilde Rahimi ve Shakerian (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, Şubat-Temmuz 2011 tarihleri arasında İran'ın İsfahan kentindeki süpermarketlerden toplanan 48 adet kuru incir örneğinde OTA kontaminasyonu ELISA tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Araştırmacılar,

48 örneğin 5'inde (oransal olarak %10,4) 2,3-14,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ arasında değişen miktarlarda OTA (ortalama 7,9 $\mu\text{g kg}^{-1}$) bulunduğunu rapor etmişlerdir.

ABD'de HPLC yöntemiyle 88 kuru incir örneği üzerinde çalışılmış ve bu örneklerin 4'ünün (oransal olarak %5) 0,50-3,30 $\mu\text{g kg}^{-1}$ miktarlarında OTA ile kontamine olduğu saptanmıştır (Palumba ve ark., 2015).

İran pazarından toplanan 22 kuru incir örneğinin OTA kontaminasyon düzeyini belirlemek için yapılan bir araştırmada da 10 örneğin OTA ile kontamine olduğu (oransal olarak %45,5) saptanmıştır. Kontamine olduğu tespit edilen incir örneklerinin 8'inde kontaminasyon seviyesinin 0,26-5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında, 1'inde 5-10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında ve 1'inde de 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ değerinin üstünde olduğu rapor edilmiştir (Heshmati ve ark., 2017).

Kuru incirlerde OTA kontaminasyonu konusunda ülkemizde gerçekleştirilen çalışmalar incelenecek olursa; 2003-2004 yıllarında Ege Bölgesi'ndeki 7 ilçeden alınan 115 numunenin 55'inin (oransal olarak %47,8) 0,12-15,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ arasında değişen miktarlarda OTA içerdiği kaydedilmiştir (Güler ve Heperkan, 2008).

Bu konuda ülkemizde gerçekleştirilen diğer bir çalışmada ise, AB'ye ihraç edilecek her biri 10 kg ağırlığında 98 kuru incir farklı ihracatçı firmalardan toplanarak HPLC tekniği yardımıyla OTA kontaminasyonu bakımından test edilmiş ve 18 örneğin (oransal olarak %18) 0,87-24,4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında OTA içerdiği sonucuna varılmıştır (Bircan, 2009).

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kuru incir

Araştırma kapsamında toplam 100 kuru incir örneği AFs ve OTA varlığı/miktarı yönünden incelenmiştir. Kuru incir örnekleri 2019 yılı Nisan, Mayıs ve Haziran aylarında Çorum, Ankara, İstanbul ve İzmir illerinde faaliyet gösteren market, kuruyemiş dükkânları ve semt pazarları gibi farklı satış noktalarından en az 300 g olarak rastgele satın alınmıştır. Kuru incir örnekleri analize alınmaya kadar Hitit Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Laboratuvarında $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

AFs ve OTA'nın kuru incirde heterojen dağılım göstermesi sebebiyle, homojen dağılımı sağlayabilmek ve analiz kaynaklı hataları minimuma indirmek amacıyla analize alınacak kuru incir örneklerinin partikül boyutları küçültülmüştür (Resim 2.1).



Resim 2.1. Partikül boyutu küçültülmüş kuru incir örnekleri

2.1.2. Kimyasal maddeler

Araştırmada HPLC saflığında, Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) marka metanol ve asetonitril çözeltileri kullanılmıştır. Analitik saflıkta potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) ve susuz disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) kimyasalları da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) marka olup, piyasadaki çeşitli firmalardan temin edilmiştir. Nitrik asit (HNO_3), NaCl ve potasyum bromit (KBr) Merck (Darmstadt, Almanya) marka kullanılırken; fosfat tamponu (PBS) hazırlığında kullanılan potasyum klorür (KCl) (Leuven, Belçika) VWR firmasından temin edilmiştir. Araştırmanın tüm aşamalarında Millipore Direct-Q3 (Millipore, Molsheim France) tarafından üretilen ultra saf su kullanılmıştır. Ekstraktları süzmek için ilk aşamada Whatman filtre kâğıdı, ikinci aşamada ise cam mikrofiber filtre kâğıdı (120 mm, VWR, Leuven, Fransa) kullanılmıştır.

2.1.3. PBS

Kuru incir ekstraktlarının temizlenmesi aşamasında 1 litre saf su için 0,2 g KCl, 0,2 g KH_2PO_4 , 1,16 g Na_2HPO_4 ve 8 g NaCl ile hazırlanan PBS (pH 7,4) kullanılmıştır.

2.1.4. AFs standardı

Aflatoksin miks standardı (46304-U, Bellefonte, PA, USA) 1 ml metanol içinde çözüdüürülmüş olarak Supelco® firmasından temin edilmiştir. Metanolde çözüdüürülmüş miks standardında AFB_1 ve AFG_1 1 $\mu\text{g ml}^{-1}$, AFB_2 ve AFG_2 ise 0,3 $\mu\text{g ml}^{-1}$ konsantrasyonlarında bulunmaktadır. Aflatoksin miks standart çözeltisi ($\text{AFB}_1+\text{AFB}_2+\text{AFG}_1+\text{AFG}_2$) metanol kullanılarak seyreltilmiş ve ikinci düzey stok standart çözeltisi (0,1 $\mu\text{g ml}^{-1}$ AFB_1 , 0,03 $\mu\text{g ml}^{-1}$ AFB_2 , 0,1 $\mu\text{g ml}^{-1}$ AFG_1 ve 0,03 $\mu\text{g ml}^{-1}$ AFG_2) hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisinin oluşturulmasında ve metot validasyon parametrelerinin belirlenmesinde bu ikinci düzey stok standart çözeltisi kullanılmıştır.

2.1.5. OTA standardı

Katı formdaki OTA standardı 1 miligram (mg) olarak Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. OTA standardı 2 ml asetonitril kullanılarak çözüdüürülmüş (500 $\mu\text{g ml}^{-1}$) ve bu şekilde 1. düzey stok standardı hazırlanmıştır. Sonraki aşamada, 2. düzey stok standardı hazırlanarak kalibrasyon eğrisi ve metot performansının belirlenmesinde kullanılmıştır.

2.1.6. Immunoaffinite kolon (IAC)

Kuru incir örneklerine ait ekstraktları temizlemek amacıyla AFs'ye karşı spesifik antikorlar içeren VICAM marka AflaTest® IAC (ürün kodu:12022, Watertown, MA, USA) ile OTA'ya karşı spesifik antikorlar içeren OchraTest™ IAC (ürün kodu: 13012, Watertown, MA, USA) kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Ekstraksiyon

Partikül boyutu küçültülmüş kuru incir örneklerinde AFs ve OTA ekstraksiyonu VICAM rehberinde belirtilen işlem aşamalarında (VICAM, 2008) bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyonda uygulanan işlem aşamaları şu şekildedir:

- 50 g kuru incir örneği, 200 ml metanol-su (80:20, v/v) ekstraksiyon çözeltisi ve 5 g NaCl ile Waring Blender'da yüksek hızda 3 dk süreyle homojenize edilmiştir.
- Elde edilen ekstrakt Whatman kaba filtre kâğıdı kullanarak süzülmüştür.
- Elde edilen filtrattan 10 ml alınarak 40 ml PBS ile seyreltilmiş ve 1,6 µm gözenek çapına sahip cam microfiber filtreden geçirilmiştir.
- AFs ve OTA'ya karşı spesifik antikorlar içeren IAC'ler vakum manifold düzeneğine (Agilent, USA) yerleştirilmiş ve 50 ml süzüntü IAC'den geçirilmiştir (2-3 ml/dak)
- IAC'ler, 2 defa 10 ml ultra saf su ile yıkanmış ve vakum uygulanarak kurutulmuştur.
- Kolondan 1000 µl metanol (2x500 µl) geçirilerek antikorlara bağlı halde bulunan olası AFs/OTA HPLC viallerine (Supelco, Bellefonte, PA, USA) alınmış ve üzerine 1 ml ultra saf su ilave edilmiştir.
- Son olarak 100'er µl örnek floresans detektörlü HPLC (HPLC-FLD) cihazına enjekte edilerek AFs ve OTA varlığı/miktarı ayrı ayrı tespit edilmiştir.

2.2.2. HPLC-FLD analizi

Kuru incir örneklerinde kalitatif/kantitatif AFs ve OTA tespitinde Shimadzu marka (RF-20AXL model) HPLC sistemi kullanılmıştır (Resim 2.2). Bu sistemde; LC20AD izokratik pompa ünitesi, online vakum degaser (DGU-20A3), FLD (RF-20AXL), otomatik enjeksiyon ünitesi (SIL-20AHT), kolon fırını (CTO-20A) ve sistem kontrol ünitesi (CBM-20 Alite) yer almaktadır.



Resim 2.2. AFs ve OTA analizinde kullanılan HPLC cihazı

2.2.2.1. AFs Analizi

AFs'nin kalitatif ve kantitatif tespitinde uygulanacak AFs analiz metodu, AOAC 999.07 Resmi yönteminden yararlanılarak ön denemeler sonucunda Tablo 2.1'de belirtilen şekilde oluşturulmuştur.

Tablo 2.1. AFs analizinde kullanılan cihaz ve kromatografik koşullar

Parametre	Kromatografik koşullar
Cihaz	Shimadzu LC-20 Series (Tokyo, Japan)
Kolon	ODS-3 (250x4,6 mm, 5 µm, inertsil®, GL Sciences Inc., Tokyo, Japonya)
Hareketli faz	İzokratik, HNO ₃ (350 µl l ⁻¹) ve KBr (120 mg l ⁻¹) içeren su-asetonitril-metanol (6:2:3, v/v/v)
Hareketli faz akışı	1 ml dk ⁻¹
Türevlendirme	Kobra® Cell (Coring Diagnostics GmbH, Gernsheim, Germany) ile kolon sonrası türevlendirme (reaksiyon çemberi, 340x0,5 mm PTFE)
Kolon sıcaklığı	35°C
Enjeksiyon miktarı	100 µl
Analiz süresi	20 dk
Dedektör	SPD-M20A FLD ^a , <i>excitation (tahrik dalga boyu): 360 nm; emission (yayım dalga boyu): 440 nm</i>

^aFLD: Floresans detektör

AFs analizi için HPLC sisteminde kolon çıkışı-FLD girişi arasına, kolon sonrası türevlendirme ünitesi (Kobra® cell) dahil edilmiştir. Türevlendirmede, iyonlaşmayı sağlamak amacıyla HPLC hareketli faz (1.000 ml) içine 350 µl HNO₃ (4 M) ve 120 mg KBr ilave edilmiştir.

2.2.2.2. OTA Analizi

OTA'nın kalitatif ve kantitatif tespitinde uygulanacak kromatografik koşullar, AOAC 2000.03 Resmi yönteminden (Entwisle ve ark., 2000) yararlanılarak Tablo 2.2'de belirtilen şekilde oluşturulmuştur.

Tablo 2.2. OTA analizinde kullanılan cihaz ve kromatografik koşullar

Parametre	Kromatografik koşullar
Cihaz	Shimadzu LC-20 Series (Tokyo, Japan)
Kolon	ODS-3 (150x4,6 mm, 5 µm, inertsil®, GL Sciences Inc., Tokyo, Japonya)
Hareketli faz	İzokratik, su-asetonitril-asetik asit (51:47:2, v/v/v)
Hareketli faz akışı	1 ml dk ⁻¹
Türevlendirme	-
Kolon sıcaklığı	45°C
Enjeksiyon miktarı	100 µl
Analiz süresi	15 dk
Dedektör	SPD-M20A FLD ^a , excitation (tahrik dalga boyu): 333 nm; emission (yayım dalga boyu): 460 nm

^aFLD: Floresans detektör

2.2.3. Metot validasyonu

AFs ve OTA analizinde metot validasyonu amacıyla lineer ölçüm aralığı (doğrusallık/çalışma aralığı), tespit limiti (LOD), ölçüm limiti (LOQ), geri kazanım ve tekrarlanabilirlik çalışmaları yürütülmüştür.

Kalibrasyon eğrilerinin oluşturulması için 6 farklı konsantrasyonda AFs standart çözeltileri (AFB₁ ve AFG₁ için 0,5-25 µg l⁻¹, AFB₂ ve AFG₂ için 0,15-7,5 µg l⁻¹) ve OTA standart çözeltileri (0,5, 1, 2, 5, 10 ve 20 µg l⁻¹) ile HPLC cihazına 3'er enjeksiyon gerçekleştirilmiş ve elde edilen pik alanlarına göre AFs ve OTA için 6 farklı noktadan oluşan kalibrasyon (doğrusallık) eğrisi ve lineer eşitlik oluşturulmuştur.

Kuru incir matrikslerinde AFs ve OTA için LOD ve LOQ değerleri geri kazanım çalışmalarıyla belirlenmiştir. Bu amaçla; AFs ve OTA içermediği önceden tespit edilen kuru incir örneklerine düşük konsantrasyonda AFs (AFB₁ ve AFG₁ için 1 µg kg⁻¹, AFB₂ ve AFG₂ için 0,3 µg kg⁻¹) ve OTA standart çözeltisi (1 µg kg⁻¹) eklenerek 8 adet geri kazanım çalışması gerçekleştirilmiştir. Metodun uygulanmasıyla elde edilen sonuçların standart sapmasının (SD) 3 katı alınarak LOD değeri, 10 katı alınarak da LOQ değeri bulunmuştur.

Geri kazanım çalışması için, AFs ve OTA içermediği tespit edilen kuru incir örneklerine 2 farklı konsantrasyonda AFs standart çözeltileri (AFB₁ ve AFG₁ için 6 ve 8 µg kg⁻¹, AFB₂ ve AFG₂ için 1,8 ve 2,4 µg kg⁻¹) ve OTA standart çözeltileri (5 ve 10 µg kg⁻¹) ilave edilmiş ve toksinlerin gıda matriksine adsorbe olması için bir gece beklenmiştir (n=5). Sonrasında, laboratuvarında kontamine edilmiş örnekler 2.2.1 ve 2.2.2'de belirtildiği şekilde AFs ve OTA analizine tabi tutulmuştur. AFs ve OTA geri kazanım değerleri eşitlik (Eş.) 2.1 kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Geri kazanım} = \frac{\text{Standart eklenmiş örnek analiz sonucu } (\mu\text{g/kg})}{\text{Eklenen standart miktarı } (\mu\text{g/kg})} \times 100 \quad (\text{Eş. 2.1})$$

Tekrarlanabilirlik değeri ise kuru incir matrislerinden AFs ve OTA geri kazanım çalışmalarının yüzde bağıl standart sapması (%RSD) olarak hesaplanmıştır.

2.2.4. Maruz kalma düzeyi hesaplaması

Kuru incir tüketimi nedeniyle ülkemizde yaşayan yetişkin bireylerin (18-65 yaş) AFB₁, toplam AFs ve OTA'ya maruz kalma değeri Eş. 2.2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Maruz kalınan miktar} = \frac{\text{Toksin miktarı } (\mu\text{g/kg}) \times \text{Tüketim miktarı } (\mu\text{g/kg})}{\text{Vücut ağırlığı } (kg)} \quad (\text{Eş. 2.2})$$

Ülkemizde yaşayan yetişkin bireylerin AFs ve OTA'ya maruz kalma miktarlarının hesaplamasında, EFSA tarafından da önerilen 70 kg v.a. uygulanmıştır (EFSA, 2012a). Kuru incir ile ilgili tüketim verisi T.C. Ticaret Bakanlığı Esnaf, Sanatkârlar ve Koooperatifçilik Genel Müdürlüğü tarafından hazırlanan "2019 yılı Kuru İncir Raporu"ndan temin edilmiş olup, yıllık kişi başı kuru incir tüketiminin 200-250 g civarında olduğu rapor edilmiştir (ESKGM, 2020). Bu kapsamda, maruz kalma miktarı hesaplamalarında kişi başı ortalama tüketim miktarı yılda 0,25 kg olarak alınmıştır. Bununla birlikte, bölgesel tüketim alışkanlıklarına da bağlı olarak yüksek miktarda kuru incir tüketen yetişkinlerin AFs ve OTA'ya maruziyetlerinin belirlenmesi için farklı tüketim senaryosu da (günde 1 adet (\cong 20 g) kuru incir tüketimi) de gözönüne alınmıştır.

İncir örneklerinde OTA ve aflatoksin tiplerinin bireysel olarak miktarının belirlenmesinde EFSA Bilimsel Raporu'nda (EFSA, 2010) ayrıntılı olarak belirtilen "substitution" yöntemi kullanılmıştır. Bu yaklaşıma göre, bireysel olarak aflatoksin tiplerine ve OTA'ya maruz kalma miktarlarının hesaplanmasında tespit edilemeyen numuneler için alt sınır "0", üst sınır değeri ise "LOD" olarak alınmıştır.

İncir örneklerinde toplam AFs miktarı, bireysel olarak aflatoksin tiplerine ait analitik sonuçların toplamı (AFB₁+AFB₂+AFG₁+AFG₂) ile hesaplanmaktadır. AFB₁'in aflatoksinler içerisinde ana bileşik olduğu, nispeten yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ve aflatoksin üreticisi bütün küflerin 4 aflatoksin tipininin tamamını sentezleyemediği gözönüne alındığında, aflatoksinlerin hiçbirinin tespit edilemediği numunelerde, her bir aflatoksin tipinin LOD değerlerinin toplanmasıyla toplam AFs için "üst sınır" değerinin hesaplanması "değerin olağandan yüksek olması (overestimate)"na neden olmaktadır. Bu nedenle, hiçbir

aflatoksin tipinin tespit edilemediği numunelerde toplam AFs için “üst sınır” değeri AFB₁ için belirlenmiş olan LOD değerinin iki katı olarak belirlenmiştir (EFSA, 2020a).



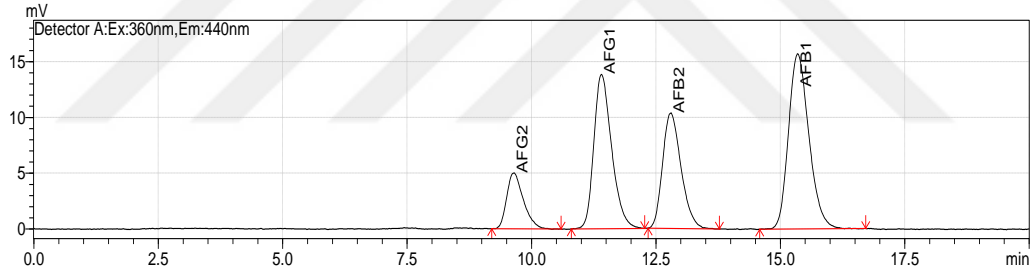
3. BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

3.1. Metot Validasyon Parametrelerinin Değerlendirilmesi

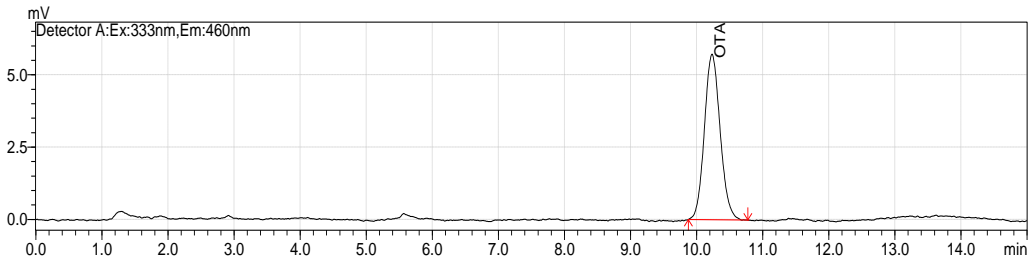
Kuru incirlerde AFs ve OTA varlığı/miktarının belirlenmesi, ülkemizde yaşayan yetişkin bireylerin kuru incir tüketimi yoluyla AFs ve OTA'ya maruz kalma miktarlarının hesaplanması ve risk değerlendirmesi amacıyla gerçekleştirilen bu araştırmada öncelikle kullanılan analitik yöntemin validasyon parametreleri değerlendirilmiştir. Metot performansının belirlenmesinde lineer ölçüm aralığı, LOD ve LOQ değerleri, geri kazanım ve tekrarlanabilirlik parametreleri kullanılmıştır.

Kalibrasyon eğrisi oluşturmak amacıyla HPLC cihazına enjekte edilen AFB₁ (1 µg l⁻¹), AFB₂ (0,3 µg l⁻¹), AFG₁ (1 µg l⁻¹) ve AFG₂ (0,3 µg l⁻¹) standartlarına ait HPLC-FLD kromatogramı Şekil 3.1'de verilmiştir. AFs'nin alıkonma zamanlarında sıcaklığa bağlı olarak minör düzeyde kaymalar yaşanmakla birlikte, AFG₂, AFG₁, AFB₂ ve AFB₁'in alıkonma zamanları sırasıyla, 9,6 dk, 11,5 dk, 12,8 dk ve 15,4 dk olarak belirlenmiştir.



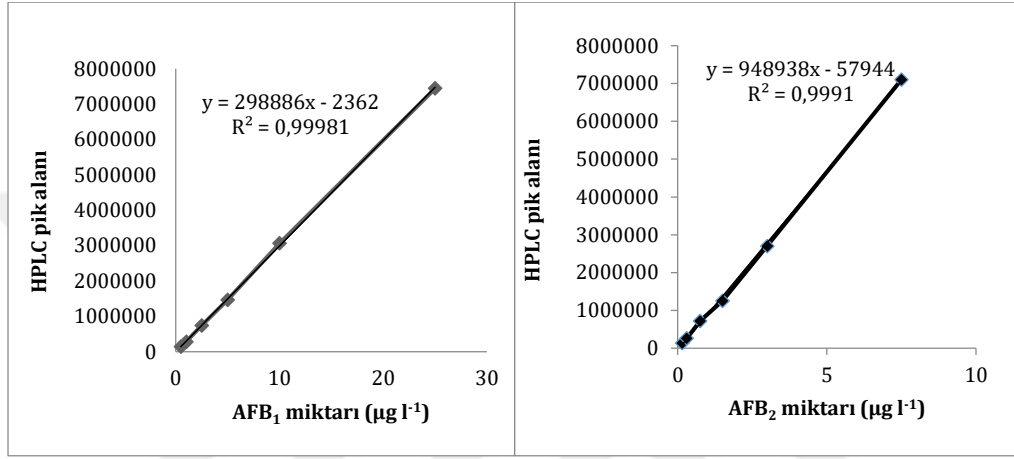
Şekil 3.1. HPLC-FLD kromatogramı (AFB₁ ve AFG₁: 1 µg l⁻¹, AFB₂ ve AFG₂: 0,3 µg l⁻¹).

Şekil 3.2'de ise kalibrasyon eğrisinin oluşturulmasında kullanılan 1 µg l⁻¹ konsantrasyonunda OTA standart çözeltisine ait HPLC-FLD kromatogramı yer almaktadır. OTA'nın alıkonma zamanı yaklaşık 10,3 dk olarak belirlenmiştir. Şekil 3.1 ve 3.2'nin incelenmesiyle de görülebileceği gibi AFs ve OTA'nın alıkonma zamanlarda girişim yapan herhangi bir yabancı pik oluşumu gözlenmemiştir.



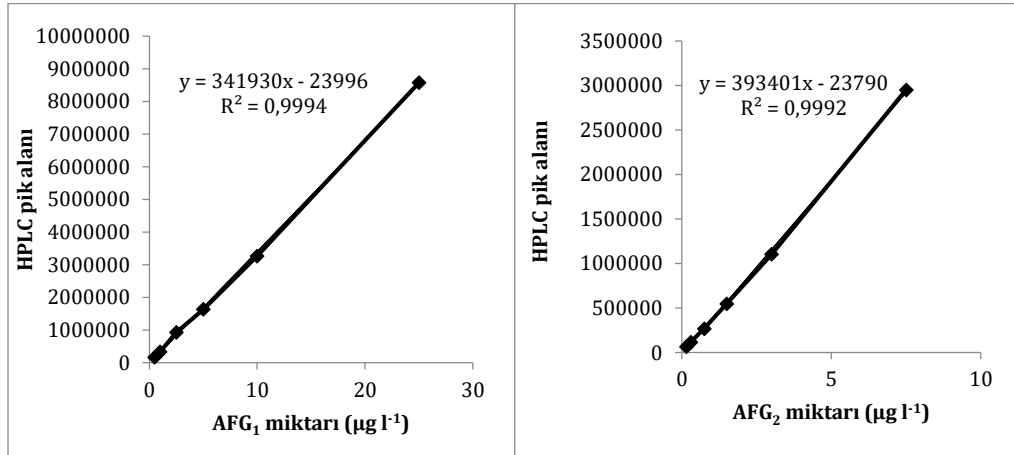
Şekil 3.2. HPLC-FLD kromatogramı (OTA: 1 µg l⁻¹)

HPLC cihazına enjekte edilen farklı konsantrasyonlarda AFB₁ (0,5-25 µg l⁻¹), AFB₂ (0,15-7,5 µg l⁻¹), AFG₁ (0,5-25 µg l⁻¹), AFG₂ (0,15-7,5 µg l⁻¹) ve OTA (0,5-20 µg l⁻¹) standartlarına karşılık gelen pik alanlarına göre 6 farklı noktadan oluşan kalibrasyon eğrileri her bir toksin için ayrı ayrı oluşturulmuştur (Şekil 3.3). Kalibrasyon eğrilerinin R^2 (verilen veri noktaları boyunca Pearson çarpım moment korelasyon katsayısının karesi) değerleri >0,99 bulunmuş olup, R^2 verileri metot validasyonu çalışmaları için kabul edilebilirdir. Metot performansı parametrelerinin belirlenmesinde ve kuru incir örneklerinde AFs ve OTA'nın kantitatif tayininde kullanılan lineerite denklemleri Tablo 3.1'de özetlenmiştir.



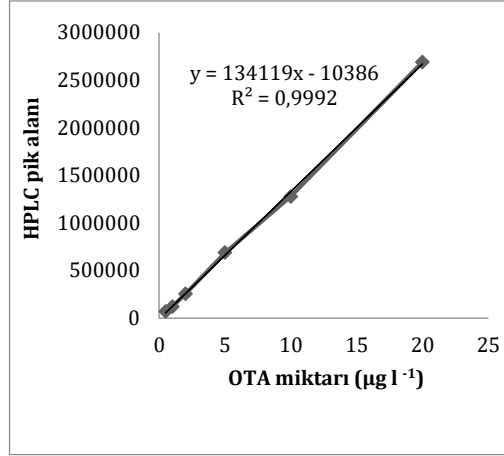
AFB₁ kalibrasyon eğrisi

AFB₂ kalibrasyon eğrisi



AFG₁ kalibrasyon eğrisi

AFG₂ kalibrasyon eğrisi



OTA kalibrasyon eğrisi

Şekil 3.3. AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve OTA için kalibrasyon eğrileri

Tablo 3.1. AFs ve OTA için lineerite verileri

Toksin	Lineerite aralığı (µg l ⁻¹)	Lineerite eşitlik	R ²
AFB ₁	0,5-25	$y = 298886x - 2362$	0,99981
AFB ₂	0,15-7,5	$y = 948938x - 57944$	0,99915
AFG ₁	0,5-25	$y = 341930x - 23996$	0,99936
AFG ₂	0,15-7,5	$y = 393401x - 23790$	0,99915
OTA	0,5-20	$y = 134119x - 10386$	0,99918

Metot validasyonu çalışmaları sonucunda kuru incir matriksinde AFs ve OTA için elde edilen LOD, LOQ, geri kazanım ve tekrarlanabilirlik değerleri Tablo 3.2'de özetlenmiştir.

Tablo 3.2. AFs ve OTA'nın LOD, LOQ, geri kazanım ve tekrarlanabilirlik değerleri

Toksin	LOD (µg kg ⁻¹)	LOQ (µg kg ⁻¹)	Kontaminasyon miktarı (µg kg ⁻¹)	Geri kazanım (%)	Tekrarlanabilirlik (%RSD)
AFB ₁	0,083	0,277	6	93,3	3,89
			8	95,7	5,12
AFB ₂	0,074	0,247	1,8	98,8	4,94
			2,4	97,4	2,51
AFG ₁	0,092	0,307	6	91,5	4,38
			8	91,7	7,47
AFG ₂	0,076	0,253	1,8	96,1	5,85
			2,4	98,6	3,70
OTA	0,131	0,437	6	97,3	2,65
			8	94,9	5,56

LOD değeri, bir analitik ölçüm yöntemi kullanılarak algılanabilmesine karşın miktarının tespit edilemediği analit derişimidir. LOQ değeri ise kullanılan ölçüm metodu ile kabul edilebilir kesinlikte ve doğrulukta ölçülebilen en düşük analit miktarı olarak nitelendirilmektedir. Tablo

3.2'den de görülebileceği gibi kuru incir matriksinde AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve OTA için elde edilen LOD değerleri sırasıyla 0,083 µg kg⁻¹, 0,074 µg kg⁻¹, 0,092 µg kg⁻¹, 0,076 µg kg⁻¹ ve 0,131 µg kg⁻¹ olarak bulunmuştur. AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve OTA için elde edilen LOQ değerleri ise sırasıyla 0,277 µg kg⁻¹, 0,247 µg kg⁻¹, 0,307 µg kg⁻¹, 0,253 µg kg⁻¹ ve 0,437 µg kg⁻¹ olarak hesaplanmıştır. AFB₁ için elde edilen LOQ değerleri TKG'nin doğrudan tüketime sunulmuş kurutulmuş gıdalar için belirlemiş olduğu 8 µg kg⁻¹ (TKG, 2011) ve AB'nin kuru incirler için belirlediği 6 µg kg⁻¹ ML değerlerinden (EC, 2012) oldukça düşük bulunmuştur. OTA için kuru incirde belirlenmiş ML değeri bulunmaması nedeniyle OTA'nın LOQ değeri açısından bir karşılaştırma yapılamamakla birlikte, hesaplanan bu LOQ değeri kurutulmuş asma meyvelerinde bulunmasına izin verilen 10 µg kg⁻¹ ML değerinden yaklaşık 23 kat daha düşüktür.

2 farklı konsantrasyonda laboratuvar koşullarında kontamine edilen kuru incir matriksinden AFs'yi geri kazanım değerleri; AFB₁ için %93,3-95,7; AFB₂ için %97,4-98,8; AFG₁ için %91,5-91,7 ve AFG₂ için %96,1-98,6 arasında bulunmuştur. Geri kazanım değerleri, AB Komisyonu ilgili raporunda (EC, 2006a) analiz yöntemi performans kriterlerine (1-10 µg kg⁻¹ konsantrasyon aralığı için tavsiye edilen geri kazanım değerleri %70-110 arasında) uygun bulunmuştur. Tekrarlanabilirlik RSD değerleri ise, AFB₁ için %3,89-5,12; AFB₂ için %2,51-4,94; AFG₁ için %4,38-7,47 ve AFG₂ için %3,70-5,85 arasında bulunmuştur. AB Komisyon raporuna göre (EC, 2006a) AFs için tavsiye edilen tekrarlanabilirlik RSD değerlerinin Horwitz eşitliği (Eş. 3.1) kullanılarak elde edilen tekrar üretilebilirlik RSD değerlerinin 0,66 katı olarak hesaplanabileceği, izin verilen en fazla tekrarlanabilirlik RSD değerinin ise bunun 2 katı olabileceği vurgulanmaktadır. Örneğin 6 µg kg⁻¹ AFB₁ konsantrasyonu için, tavsiye edilen ve izin verilen en fazla RSD değeri sırasıyla %22,79 ve %45,59 olarak hesaplanmaktadır. Bu durumda tüm AFs tipleri için elde edilen RSD değerlerinin tekrarlanabilirlik kriterini karşıladığı görülmüştür.

$$RSD = 2^{(1 - 0,5 \log C)} \quad (\text{Eş. 3.1})$$

Eşitlikte, RSD relatif standart sapma değerini, C ise konsantrasyonu ifade etmektedir.

Laboratuvar koşullarında 5 ve 10 µg kg⁻¹ konsantrasyonlarında kontamine edilmiş kuru incir matrikslerinden OTA'yı geri kazanım oranları ise sırasıyla %97,3 ve %94,9 olarak saptanmıştır. Tekrarlanabilirlik RSD değerleri ise sırasıyla %2,65 ve %5,56 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler AB Komisyonunca OTA analizinde metot performansı için önerilen %70-110 geri kazanım ve ≤%20 tekrarlanabilirlik RSD kriterlerini (1-10 µg kg⁻¹) karşıladığı görülmektedir.

3.2. Kuru İncirlerde Aflatoksin Varlığı/Miktarı

Araştırma kapsamında 100 adet kuru incir örneğinde AFs'nin bulunma sıklığı ve miktarı HPLC-FLD sistemiyle belirlenmiştir. Analiz edilen kuru incir örneklerinde saptanan AFs'nin varlığı ve miktarı Tablo 3.3'te özetlenmiştir.

Tablo 3.3. Kuru incirlerde AFs varlığı ve miktarı

Parametre	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	Toplam AFs
Pozitif örnek sayısı (%) ^a	14 (14)	7 (7)	2 (2)	1 (1)	14 (14)
>ML ^b örnek sayısı (%)	2 (2)	-	-	-	2 (2)
Miktar aralığı (min-maks., µg kg ⁻¹)	0,258 ^c -11,92	0,095 ^c -0,675	0,153 ^c -2,427	0,121 ^c	0,258-12,6
Ortalama toksin miktarı ^d (µg kg ⁻¹)	2,843	0,302	1,290	0,121	3,187

^aPozitif örnek sayısı (%): >LOD tespit edilen örnek sayısı (%)

^bML: Maksimum limit (AFB₁:6 µg kg⁻¹, toplam AFs: 10 µg kg⁻¹ (EC, 2012); AFB₁:8 µg kg⁻¹, toplam AFs: 10 µg kg⁻¹ (TGK, 2011))

^c<LOQ

^dOrtalama toksin miktarı: Pozitif örneklerin ortalaması (µg kg⁻¹)

Analiz edilen 100 adet kuru incir örneğinin 14'ünde (orsal olarak %14) tespit limitlerinin üzerinde AFs'ye rastlanırken, 86 adet örnekte AFs saptanamamıştır. Kuru incirlerde bulunan toplam AFs miktarı 0,258 µg kg⁻¹ ile 12,60 µg kg⁻¹ arasında (ortalama 3,187 µg kg⁻¹) değişiklik göstermiştir. Aflatoksinler açısından pozitif olan kuru incir örneklerinin tümünde AFB₁ tespit edilmiştir. AFB₁ tespit edilen 14 adet kuru incir örneğinin yalnızca birinde saptanan miktar (0,258 µg kg⁻¹) ölçüm limitinin (0,277 µg kg⁻¹) altında iken, 13 örnekte 11,92 µg kg⁻¹'a varan konsantrasyonlarda AFB₁'e rastlanmıştır. Kuru incir örneklerinde saptanan ortalama AFB₁ konsantrasyonu ise 2,843 µg kg⁻¹'dir. Analiz edilen kuru incir örneklerinin yalnızca ikisinde tespit edilen AFB₁ ve toplam AFs miktarları, AB (AFB₁ için 6 µg kg⁻¹, toplam AFs için 10 µg kg⁻¹) ve TGK (AFB₁ için 8 µg kg⁻¹, toplam AFs için 10 µg kg⁻¹) Bulaşanlar Yönetmeliği'nde yer alan ML değerlerinin üzerinde bulunmuştur.

Kuru incirlerde ikinci olarak en sık rastlanan aflatoksin tipi AFB₂'dir. Kuru incir örneklerinin 7'sinde AFB₁ ile birlikte 0,095 µg kg⁻¹ ile 0,675 µg kg⁻¹ arasında değişen miktarlarda (ortalama 0,302 µg kg⁻¹) AFB₂ tespit edilmiştir. AFB₂ tespit edilen örneklerin ikisinde saptanan miktar ölçüm limitinin (0,247 µg kg⁻¹) altında bulunmuştur.

G grubu aflatoksinlere ise B grubu aflatoksinlere oranla daha seyrek rastlanmıştır. Kuru incir örneklerinin ikisinde 0,153 µg kg⁻¹ (ölçüm limitinin altında) ve 2,427 µg kg⁻¹ miktarlarında AFG₁ tespit edilmiştir. AFG₂'ye ise yalnızca bir örnekte ve ölçüm limitinin (0,253 µg kg⁻¹) altında, 0,121 µg kg⁻¹ miktarında rastlanmıştır.

Kuru incirlerde AFs'nin varlığı ve miktarı konusunda hem Türkiye'de hem de yurt dışında gerçekleştirilen çok sayıda araştırma mevcuttur. Bu tez kapsamında elde edilen sonuçlar ülkemizde AFs riski konusunda yapılan diğer araştırma sonuçlarıyla kıyaslanacak olursa; Bircan ve Koç (2012)'un kuru incirlerde tespit ettiği AFs insidansı ve miktarı değerlerinden oldukça düşük bulunmuştur. Araştırmacılar, ihraç edilecek kuru incirlerin %23,6'sında,

yurtiçinde satışı sunulacak örneklerin ise %47,5'inde 2 µg kg⁻¹'den az ve 100 µg kg⁻¹'den fazla olacak şekilde değişen konsantrasyonlarda AFs ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir.

Diğer yandan, kuru incirlerde tespit edilen AFs kontaminasyonu sıklığı Kabak (2016) ve Başeğmez (2019) tarafından gerçekleştirilen araştırma sonuçlarına göre yüksek olmasına rağmen, kuru incirlerde saptanan toplam AFs miktarları Kabak (2016) ve Başeğmez (2019)'in tespit ettiği miktarlara göre düşük bulunmuştur. Kabak (2016), 5 farklı ilden topladığı kuru incir örneklerinin %12,3'ünde 0,1-28,2 µg kg⁻¹ arasında değişen miktarlarda AFs bulunduğunu, Başeğmez (2019) ise, hasat yılı 2011 ile 2016 yılları arasında değişen kuru incir örneklerinin %9,11 ile %13,5 oranlarında AFs ile kontamine olduğunu ve toplam AFs miktarlarının 0,50-477,9 µg kg⁻¹ arasında değişiklik gösterdiğini rapor etmiştir.

Ülkemizde gerçekleştirilen diğer bir çalışmada ise, kuru incir numunelerinin %51'inde 0,16-5,20 µg kg⁻¹ aralığında değişen miktarlarda AFs'ye rastlanmıştır (Yılmaz, 2017). Bu kontaminasyon sıklığı oranı, tez kapsamında elde edilen sonuçtan (%14) yaklaşık 3,5 kat daha yüksek olmakla birlikte, tespit edilen maksimum miktar daha düşük bulunmuştur.

Elde edilen analitik sonuçlar farklı ülkelerde gerçekleştirilen araştırma sonuçlarıyla kıyaslanacak olursa; kuru incirlerde tespit edilen AFs varlığı, İran'da satışı sunulan kuru incirlerde AFs kontaminasyon sıklığına göre yaklaşık 4 kat daha düşüktür. Araştırmacılar, kuru incir örneklerinin %59,1'inde 0,3-7 µg kg⁻¹ aralığında değişen konsantrasyonlarda AFs'ye rastlamışlardır (Heshmati ve ark., 2017). Çin'de ise tüketime sunulan kuru incir örneklerinin %50'sinde 0,4-384,1 µg kg⁻¹ değer aralığında AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂ tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2018).

Benzer şekilde, kuru incirlerde saptanan AFB₁ ve AFB₂ varlığı/miktarı Cezayir'de Mimoune ve ark. (2018) tarafından gerçekleştirilen araştırma sonucuna göre oldukça düşüktür. Cezayir'de gerçekleştirilen çalışmada örneklerin %78,8'inde konsantrasyon aralığı 0,22-83,4 µg kg⁻¹ olan AFB₁ ve AFB₂ tespit edildiği belirtilmiştir.

3.3. Kuru İncirlerde OTA Varlığı/Miktarı

Kuru incir örneklerinde saptanan OTA varlığı ve miktarı Tablo 3.4'te özetlenmiştir.

Tablo 3.4. Kuru incirlerde OTA varlığı ve miktarı

Gıda örneği	Parametre	OTA
Kuru incir (n=100)	Pozitif örnek sayısı ^a , n (%)	8 (8)
	Miktar aralığı (min.- maks., µg kg ⁻¹)	0,151 ^b -1,723
	Ortalama OTA miktarı ^c (µg kg ⁻¹)	0,64

^aPozitif örnek sayısı (%): >LOD tespit edilen örnek sayısı (%)

^b<LOQ

^cOrtalama OTA miktarı: Pozitif örneklerin ortalaması (µg kg⁻¹)

Tablo 3.4'ün incelenmesiyle de görülebileceği gibi, kuru incirlerde saptanan OTA kontaminasyonu AFs'ye göre daha düşük düzeyde bulunmuştur. Analiz edilen 100 adet kuru incir örneğinin yalnızca 8'inde OTA kontaminasyonuna rastlanırken, bunlardan 4'ünde tespit edilen OTA miktarı LOQ değerinin ($0,437 \mu\text{g kg}^{-1}$) altında bulunmuştur. Kuru incir örneklerinde $0,151 \mu\text{g kg}^{-1}$ ile $1,723 \mu\text{g kg}^{-1}$ arasında değişen konsantrasyonlarda OTA tespit edilmiştir. Örneklerde saptanan ortalama OTA miktarı ise $0,64 \mu\text{g kg}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Diğer yandan, AB ve TGK Bulaşanlar Yönetmeliği'nde OTA için belirlenmiş ML değeri bulunmadığından, elde edilen sonuçların değerlendirilmesi gerçekleştirilememiştir. Bununla birlikte, Avrupa Komisyonunun kuru incirlerde bulunmasına izin verilen maksimum OTA miktarı için limit belirleme çalışmalarını sürdürdüğü ve yakın gelecekte ilan edeceği bilinmektedir.

AFs'nin tersine, kuru incirde OTA ile ilgili hem ülkemizde hem de dünyada sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ülkemizde OTA konusunda yapılan araştırmalara bakılacak olursa, hem Güler ve Heperkan (2008)'in hem de Bircan (2009)'ın gerçekleştirdikleri çalışmada kuru incirlerde tespit edilen OTA varlığı ve miktarının bu çalışmada elde edilen değerlere kıyasla yüksek olduğu görülmüştür. Güler ve Heperkan (2008), kuru incir örneklerinin %47,8'inde $0,12-15,3 \mu\text{g kg}^{-1}$ arasında değişen miktarlarda OTA'ya rastlarken, Bircan (2009) örneklerin %18'inde $0,87-24,4 \mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında OTA'ya rastlamıştır.

Benzer şekilde, Kulahi ve Kabak (2020) tarafından 50 adet kuru incir örneği ile gerçekleştirilen bir çalışmada, tüketime sunulan kuru incir örneklerinin %14'ünde $0,145 \mu\text{g kg}^{-1}$ (LOQ değerinin altında) ve $1,554 \mu\text{g kg}^{-1}$ arasında değişen miktarlarda OTA bulunmuştur.

Elde edilen sonuçlara göre, kuru incirlerde tespit edilen OTA varlığı ve miktarı Pavón ve ark. (2012) tarafından İspanya'da ve Heshmati ve ark. (2017) tarafından İran'da gerçekleştirilen araştırma sonuçlarına göre düşük bulunmuştur. Pavón ve ark. (2012) kuru incir örneklerinin %54,3'ünde $3,15$ ile $245,3 \mu\text{g kg}^{-1}$ arasında değişen konsantrasyonlarda OTA bulunduğunu bildirirken, Heshmati ve ark. (2017) örneklerin %45,5'inde $0,26 \mu\text{g kg}^{-1}$ ile $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ değerinin üstünde değişen miktarlarda OTA'ya rastlamışlardır. Diğer taraftan, kuru incirlerde tespit edilen OTA varlığı Zinedine ve ark. (2006) tarafından Fas'ta gerçekleştirilen araştırma sonucuna göre oldukça düşük olmasına rağmen, saptanan OTA miktarı Zinedine ve ark. (2006)'nın tespit ettiği miktarlara göre yüksek bulunmuştur. Zinedine ve ark. (2006) örneklerin %65'inde $0,03-1,42 \mu\text{g kg}^{-1}$ aralığında OTA kontaminasyonu bulunduğunu bildirmiştir. ABD'de Palumba ve ark. (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise kuru incirlerde tespit edilen OTA varlığı bu çalışmaya kıyasla daha düşük iken, OTA miktarı daha yüksek bulunmuştur. Palumba ve ark. (2015), kuru incir örneklerinin %5'inin $0,5-3,3 \mu\text{g kg}^{-1}$ miktarlarında OTA ile kontamine olduğunu rapor etmiştir.

3.4. AFs ve OTA'ya Maruz Kalma Değerlendirmesi

Araştırma kapsamında ayrıca, ülkemizde yaşayan yetişkin bireylerin kuru incir tüketimi yoluyla AFB₁, toplam AFs ve OTA'ya maruz kalma miktarları (Tablo 3.5) hesaplanmıştır.

Tablo 3.5. Yetişkinlerin kuru incir tüketimi yoluyla AFB₁, toplam AFs ve OTA'ya maruz kalma miktarları

Mikotoksin	Ortalama miktar ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		Maruziyet (ng kg^{-1} v.a. gün^{-1}) (tüketim: 0,685 g gün^{-1})		Maruziyet (ng kg^{-1} v.a. gün^{-1}) (tüketim: 20 g gün^{-1})	
	Alt sınır	Üst sınır	Alt sınır	Üst sınır	Alt sınır	Üst sınır
AFB ₁	0,398	0,469	0,0039	0,0046	0,1137	0,1341
Toplam AFs	0,446	0,589	0,0044	0,0058	0,1275	0,1682
OTA	0,051	0,172	0,0005	0,0017	0,0146	0,0491

Analiz sonuçlarına göre, kuru incirlerde AFB₁'in ortalama alt sınır ve üst sınır miktarları sırasıyla 0,398 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ve 0,469 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Kuru incirlerdeki toplam AFs ortalama alt sınır ve üst sınır değerleri ise 0,446 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ve 0,589 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 'dir. Ülkemizde kişi başı ortalama kuru incir tüketim miktarı (0,685 g gün^{-1}) üzerinden yetişkin bireyler için AFB₁'e maruz kalma hesaplamaları yapıldığında; kuru incir tüketimi yoluyla AFB₁'e ortalama alt sınır ve üst sınır maruz kalma miktarları sırasıyla 0,0039 ve 0,0046 ng kg^{-1} v.a. gün^{-1} olarak hesaplanmıştır. Benzer şekilde, toplam AFs'ye kuru incir tüketimi yoluyla ortalama alt sınır ve üst sınır maruz kalma miktarları sırasıyla 0,0044 ve 0,0058 ng kg^{-1} v.a. gün^{-1} 'dir. Diğer yandan, yüksek miktarda kuru incir tüketim senaryosuna (günde 1 adet \approx 20 g gün^{-1}) göre; yetişkin bireylerin AFB₁ ve toplam AFs'ye ortalama alt sınır maruz kalma değerleri sırasıyla 0,1137 ng kg^{-1} v.a. gün^{-1} ve 0,1275 ng kg^{-1} v.a. gün^{-1} olarak, ortalama üst sınır maruz kalma miktarları ise sırasıyla 0,1341 ng kg^{-1} v.a. gün^{-1} ve 0,1682 ng kg^{-1} v.a. gün^{-1} olarak hesaplanmıştır.

AB Gıda Bilimsel Komitesi (Scientific Committee on Food, SCF) AFs'ye maruz kalma miktarının mümkün olan en düşük düzeyde olması gerektiğini, kg v.a. başına günde 1 ng AFs alımının dahi, karaciğer kanseri oluşum riskine katkı sağlayabileceğini açıklamışlardır (EFSA, 2007). Diğer yandan, EFSA tarafından yayımlanan son Bilimsel Görüşte, AFs'nin genotoksik ve karsinojenik potansiyeli gözönüne alınarak "Maruz Kalma Sınırı" ("margin of exposure", MOE) yaklaşımının uygulanması gerektiği belirtilmiştir (EFSA, 2020a). Avrupa Gıda Güvenlik Otoritesi Bulaşanlar Paneli (EFSA CONTAM) AFB₁'in risk karakterizasyonunda erkek sıçanlarda karaciğer kanseri oluşumu için referans noktası olarak "Benchmark dose alt güvenlik sınırı (BMDL₁₀)" değerini (0,4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ v.a. gün^{-1}) önermişlerdir. Bu referans miktarın günlük maruz kalınan AFB₁ miktarına bölünmesiyle ise MOE değeri elde edilmektedir. MOE değerinin 10.000'in üzerinde olması düşük sağlık endişesini tanımlarken (risk yönetiminde düşük önceliğe sahip), 10.000'in altında olması sağlık endişesine işaret etmektedir (EFSA, 2020a).

2019 Yılı Kuru İncir Raporunda (ESKGM, 2020) belirtilen kişi başı kuru incir tüketim miktarına (0,685 g gün^{-1}) göre AFB₁ için ortalama alt sınır ve üst sınır MOE değerleri sırasıyla 102.711 ve 87.092 olarak hesaplanmıştır. MOE değerlerinin 10.000'in oldukça üzerinde olması nedeniyle

sağlık açısından endişe oluşturacak bir durumun bulunmadığı (düşük sağlık endişesi) değerlendirilmektedir. Diğer yandan, günde 1 adet kuru incir tüketim senaryosuna göre ise, ortalama alt sınır ve üst sınır MOE değerleri AFB₁ için sırasıyla 3.517 ve 2.983, toplam AFs için ise sırasıyla 3.138 ve 2.377 olarak hesaplanmıştır. Günde 1 adet tüketim senaryosunda tüm MOE değerlerinin 10.000'in altında bulunması olası sağlık endişesine yol açmaktadır.

Analiz sonuçlarına göre, kuru incirlerde OTA'nın ortalama alt sınır ve üst sınır miktarları sırasıyla 0,051 µg kg⁻¹ ve 0,172 µg kg⁻¹ olarak belirlenmiştir. Ülkemizde kişi başı ortalama kuru incir tüketim miktarı (0,685 g gün⁻¹) göz önüne alındığında, yetişkin bireylerin kuru incir tüketimi yoluyla OTA'ya ortalama alt sınır ve üst sınır maruz kalma miktarları sırasıyla 0,0005 ve 0,0017 ng kg⁻¹ v.a. gün⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Bölgesel farklılıklar göz önüne alınarak yüksek miktarda kuru incir tüketim senaryosuna (günde 1 adet ≈20 g gün⁻¹) göre ise, OTA'ya ortalama alt sınır ve üst sınır maruz kalma miktarları sırasıyla 0,0146 ng kg⁻¹ v.a. gün⁻¹ ve 0,0491 ng kg⁻¹ v.a. gün⁻¹ olarak bulunmuştur.

EFSA, OTA'nın TWI miktarını 120 ng kg⁻¹ v.a. olarak belirlemiştir (JECFA, 2001; EFSA, 2006; EFSA, 2010). Kuru incir tüketimi yoluyla OTA'ya maruz kalma değerleri, her iki tüketim miktarına göre de EFSA tarafından OTA için belirlenen TWI değerinin oldukça (yaklaşık 350-34.285 kat) altındadır.

Diğer yandan, EFSA tarafından 2020 yılında yayımlanan "Gıdalarda OTA'nın Risk Değerlendirmesi" başlıklı son Bilimsel Görüşte "sağlık bazlı kılavuz değer" (health-based guidance value, HBGV) değerlendirilmesinin uygun olmadığı belirtilmiş ve OTA'nın hem neoplastik hem de neoplastik olmayan etkileri için MOE yaklaşımının uygun olduğu kanısına varılmıştır. Bilimsel Görüşte ayrıca, Panel tarafından daha önce belirlenmiş olan TWI değerinin (120 ng kg⁻¹ v.a.) artık geçerliliğini yitirdiği vurgulanmıştır. Bulaşanlar Panelinde, OTA'nın genotoksik etkisi konusunda kanıtların henüz yetersiz olması nedeniyle genotoksik ve karsinojenik maddeler için belirlenen MOE değerinin (10.000) OTA için uygun olmayabileceği değerlendirilmesine karşın, OTA'nın genotoksisitesi/karsinojenitesi için belirlenmiş/ispatlanmış etki mekanizmalarının olmadığı durumda, sıçanlardaki neoplastik etkiler (böbrek tümörleri) için belirlenen 14,5 µg kg⁻¹ v.a. gün⁻¹ BMDL₁₀'a 10.000'lik bir MOE'nin uygulanması gerektiği sonucuna varılmıştır (EFSA, 2020b).

Bu yaklaşıma göre, OTA için hem kişi başı kuru incir tüketim miktarına göre hesaplanan MoE değerleri (8.630.249-28.949.013) hem de günde 1 adet kuru incir tüketim senaryosuna göre hesaplanan MOE değerleri (295.556-991.405) 10.000'in oldukça üstünde olup, kuru incirlerde saptanan OTA kontaminasyon seviyelerinin ülkemizde yaşayan yetişkin bireyler açısından ciddi sağlık endişesine neden olmadığı (düşük sağlık endişesi) değerlendirilmektedir. Diğer yandan, diyetinde yer alan ve OTA açısından risk oluşturabilecek diğer gıda ürünleri kaynaklı maruz kalma değerlerinin artışına bağlı olarak MOE değerlerinin düşebileceği düşünülmektedir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, ülkemiz için önemli bir yere sahip olan kuru incirlerde AFs ve OTA varlığı/miktarının belirlenmesi, ülkemizde yaşayan yetişkin bireylerin kuru incir tüketimi yoluyla AFs ve OTA'ya maruz kalma miktarlarının hesaplanması ve risk değerlendirmesinin yapılması amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan analiz yöntemlerinin, AB tarafından belirlenen metot validasyon parametrelerini karşıladığı görülmüştür. AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve OTA için elde edilen LOD değerleri sırasıyla 0,083 µg kg⁻¹, 0,074 µg kg⁻¹, 0,092 µg kg⁻¹, 0,076 µg kg⁻¹ ve 0,131 µg kg⁻¹ olarak bulunmuştur. AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ ve OTA için elde edilen LOQ değerleri ise sırasıyla 0,277 µg kg⁻¹, 0,247 µg kg⁻¹, 0,307 µg kg⁻¹, 0,253 µg kg⁻¹ ve 0,437 olarak hesaplanmıştır. 2 farklı konsantrasyonda laboratuvar koşullarında kontamine edilen kuru incir matrikslerinden AFs'yi geri kazanım oranları %91,5-98,8 arasında bulunurken, tekrarlanabilirlik %RSD değerleri %2,51-7,47 arasında değişiklik göstermiştir. Benzer şekilde, laboratuvar koşullarında 5 ve 10 µg kg⁻¹ konsantrasyonlarında kontamine edilmiş kuru incir matrikslerinden OTA'yı geri kazanım oranları sırasıyla %97,3 ve %94,9 olarak saptanmıştır. Tekrarlanabilirlik %RSD değerleri ise sırasıyla %2,65 ve %5,56 olarak hesaplanmıştır.

Analiz edilen 100 adet kuru incir örneğinin 86'sında AFs tespit edilememiştir. Kuru incir örneklerinin 14'ünde LOD değerinin üzerinde AFs'ye rastlanırken, toplam AFs miktarı 0,258 µg kg⁻¹ ile 12,6 µg kg⁻¹ arasında (ortalama 3,187 µg kg⁻¹) değişiklik göstermiştir. AFs açısından pozitif olan kuru incir örneklerinin tümünde AFB₁ tespit edilmiştir. AFB₁ tespit edilen 14 adet kuru incir örneğinin yalnızca birinde saptanan miktar (0,258 µg kg⁻¹) LOD-LOQ değerlerinin arasında iken, 13 örnekte 11,92 µg kg⁻¹'a varan konsantrasyonlarda AFB₁'e rastlanmıştır. Kuru incir örneklerinde saptanan ortalama AFB₁ konsantrasyonu ise 2,843 µg kg⁻¹'dir. Analiz edilen kuru incir örneklerinin yalnızca ikisinde tespit edilen AFB₁ ve toplam AFs miktarları hem AB hem de TKG Bulaşanlar Yönetmeliği'nde yer alan ML değerlerinin (AB'de AFB₁ için 6 µg kg⁻¹, toplam AFs için 10 µg kg⁻¹; TKG'de AFB₁ için 8 µg kg⁻¹, toplam AFs için 10 µg kg⁻¹) üzerinde bulunmuştur.

AFB₂ kuru incirlerde ikinci en sık rastlanan AFs tipi olmuştur. Kuru incir örneklerinin 7'sinde AFB₁ ile birlikte 0,095 µg kg⁻¹ ile 0,675 µg kg⁻¹ arasında değişen miktarlarda (ortalama 0,302 µg kg⁻¹) AFB₂ tespit edilmiştir. AFB₂ tespit edilen örneklerin ikisinde saptanan miktar ölçüm limitinin (0,247 µg kg⁻¹) altında bulunmuştur. G grubu AFs'ye ise B grubu AFs'ye oranla daha seyrek rastlanmıştır. Kuru incir örneklerinin ikisinde 0,153 µg kg⁻¹ ve 2,427 µg kg⁻¹ miktarlarında AFG₁ tespit edilmiştir. AFG₂ ise yalnızca bir örnekte 0,121 µg kg⁻¹ miktarında (<LOQ) saptanmıştır.

Kuru incir örneklerinin (n=100) 92'sinde OTA tespit edilememiştir. Kuru incir örneklerinin sadece 8'inde (oransal olarak %8) OTA kontaminasyonuna rastlanırken, bunlardan 4'ünde tespit edilen OTA miktarı LOQ değerinin (0,437 µg kg⁻¹) altında bulunmuştur. Kuru incir örneklerinde 0,151 µg kg⁻¹ ile 1,723 µg kg⁻¹ arasında değişen konsantrasyonlarda (ortalama

0,64 $\mu\text{g kg}^{-1}$) OTA tespit edilmiştir. Diğer yandan, AB ve TGK Bulaşanlar Yönetmeliği'nde OTA için belirlenmiş ML değeri bulunmadığından, elde edilen sonuçların değerlendirilmesi gerçekleştirilememiştir.

Araştırma sonuçlarından elde edilen veriler ışığında, ülkemizde yaşayan yetişkin bireylerin kuru incir tüketimi yoluyla AFB₁'e ortalama alt sınır ve üst sınır maruz kalma miktarları sırasıyla 0,0039 ve 0,0046 ng kg^{-1} v.a. gün^{-1} olarak bulunmuştur. Benzer şekilde, toplam AFs'ye kuru incir tüketimi yoluyla ortalama alt sınır ve üst sınır maruz kalma miktarları sırasıyla 0,0044 ve 0,0058 ng kg^{-1} v.a. gün^{-1} 'dür. OTA için kuru incir tüketimi yoluyla maruz kalınan ortalama alt sınır ve üst sınır değerleri ise sırasıyla 0,0005 ve 0,0017 ng kg^{-1} v.a. gün^{-1} olarak hesaplanmıştır.

2019 Yılı Kuru İncir Raporunda (ESKGM, 2020) belirtilen kişi başı kuru incir tüketim miktarına (0,685 g gün^{-1}) göre hesaplanan MOE değerleri incelendiğinde; AFB₁ için sağlık bakımından riskli bir durum söz konusu değilken (düşük sağlık endişesi), günde 1 adet kuru incir tüketim senaryosuna (20 g gün^{-1}) göre hesaplanan MOE değerleri sağlık endişesini işaret etmektedir.

Diğer yandan, OTA için ise hem kişi başı kuru incir tüketim miktarına hem de günde 1 adet kuru incir tüketim senaryosuna göre hesaplanan MOE değerlerine bakıldığında OTA kontaminasyon seviyelerinin ülkemizde yaşayan yetişkin bireyler açısından ciddi sağlık endişesine neden olmadığı (düşük sağlık endişesi) değerlendirilmektedir. Diğer yandan, günlük diyetinde yer alan ve OTA açısından risk taşıyan tahıl ve tahıl bazlı ürünler, baharat, kurutulmuş diğer meyveler (kuru üzüm başta olmak üzere), asma meyvesi ürünleri (üzüm suyu, şarap), kakao, kahve vb. ürünlerin tüketimi yoluyla OTA maruziyetinin artabileceği, dolayısıyla MOE değerlerinin düşebileceği değerlendirilmektedir. Bu değerlendirmeden yola çıkarak, ülkemizde yaşayan farklı yaş gruplarındaki bireyler için toplam OTA maruziyetinin belirlenmesi ve risk karakterizasyonunun yapılması büyük önem taşımaktadır.

Hem üretim miktarı hem de ihracat bakımından dünyada birinci sırada olduğumuz ekonomik değeri yüksek bir tarımsal ürün olan kuru incirde AFs ve OTA kontaminasyonunun düzenli olarak izlenmesi, denetimlerin artırılması ve bu kapsamda önleyici tedbirlerin uygulanması önerilmektedir. Kuru incirlerde AFs ve OTA oluşumunun engellenmesi veya miktarının azaltılması amacıyla İyi Tarım Uygulamaları (GAP), İyi Üretim Uygulamaları (GMP) ve İyi Depolama Uygulamalarının (GSP) gerçekleştirilmesi AFs ve OTA riskinin azaltılmasına katkı sağlayacaktır.

Bununla birlikte, kuru incirlerde OTA için ML belirlenmesine yönelik çalışmaların acilen gerçekleştirilmesi ve bu kapsamda ülke görüşünün oluşturulması büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKÇA

- Bakker, M., Pieters, M.N. (2002). Risk assessment of ochratoxin A in the Netherlands. RIVM Report 388802025/2002, Bilthoven, The Netherland.
- Başeğmez, H.İ.O. (2019). Dietary exposure assessment of aflatoxin from dried figs in Turkey. *Hittite Journal of Science and Engineering*, 6(3), 173-177.
- Bedard L.L., Massey T.E. (2006). Aflatoxin B₁-induced DNA damage and its repair. *Cancer Letters*, 241 (2), 174-183.
- Bircan, C., Barringer, S.A., Ulken, U., Pehlivan, R. (2008). Aflatoxin levels in dried figs, nuts and paprika for export from Turkey. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(8), 1492-1498.
- Bircan, C. (2009). Incidence of ochratoxin A in dried fruits and co-occurrence with aflatoxins in dried figs. *Food and Chemical Toxicology*, 47(8), 1996-2001.
- Bircan, C., Koç, M. (2012). Aflatoxins in dried figs in Turkey: A comparative survey on the exported and locally consumed dried figs for assessment of exposure. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14, 1265-1274.
- Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü (BUGEM). (2020). İncir Değerlendirme Raporu. Erişim tarihi: 4 Kasım 2020. <https://www.tarimorman.gov.tr>.
- Cebeci, Z. (2008). Türkiye İncir Çeşitleri-*Ficus carica* L. Erişim tarihi: 13 Haziran 2021. www.turkonde.cukurova.edu.tr.
- Clark, H.A., Snedeker, S.M. (2006). Ochratoxin A: Its cancer risk and potential for exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 9(3), 265-296.
- Codex Alimentarius Commission (CAC). (2002). Proposed draft code of practice for the prevention (reduction) of mycotoxin contamination in cereals, including annexes on ochratoxin A, zearalenone, fumonisins and trichothecenes, CX/FAC 02/21, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Rotterdam.
- Cole, J.R., Jarvis, M., Schweikert, M.A. (2003). *Handbook of Secondary Fungal Metabolites*, volume 1, pp. 547-569, Academic Press, USA.
- Çalışkan, O. (2012). Türkiye'de sofralık incir yetiştiriciliğinin mevcut durumu ve geleceği. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26(2), 71-87.
- Çobanoğlu, F., Armağan, G., Kocataş, H., Şahin, B., Ertan, B., Özen, M. (2005). Aydın ilinde incir üretiminin önemi ve kuru incir üretim faaliyetinin ekonomik analizi. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(2), 35-42.
- Desphande, S.S. (1994). Immunodiagnosics in agricultural, food and environmental quality control. *Food Technology*, 6, 136-141.
- D'Mello, J.P.F., Macdonald, A. M. C. (1997). Mycotoxins. *Animal Feed Science Technology*, 69, 155-166.
- Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (1997). *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*. p.768, ASM Press, Washington D.C., USA.

Entwisle, A.C., Williams, A.C., Mann, P.J., Slack, P.T. (2000). Liquid chromatographic method with immunoaffinity column cleanup for determination of ochratoxin A in barley: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 83(6), 1377-1383.

Esnaf, Sanatkârlar ve Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü (ESKGM). (2020). Erişim tarihi: 16 Temmuz 2021. <https://esnafkoop.ticaret.gov.tr>.

European Commission (EC). (1993). Council Regulation (EEC) No 315/93 of 8 February 1993 laying down community procedures for contaminants in food. *Official Journal of the European Communities*, 37, 1-3.

European Commission (EC). (2004). Commission Regulation (EC) No 683/2004 of 13 April 2004 amending Regulation (EC) No 466/2001 as regards aflatoxins and ochratoxin A in foods for infants and young children. *Official Journal of the European Union*, L106, 3-5.

European Commission (EC). (2006a). Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L70, 12-34.

European Commission (EC). (2006b). Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L364, 5-24.

European Commission (EC). (2012). Commission Regulation (EU) No 1058/2012 of 12 November 2012 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for aflatoxins in dried figs. *Official Journal of the European Union*, L313, 14-15.

European Commission (EC). (2015). Commission Regulation (EU) No 2015/1137 of 13 July 2015 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards the maximum level of ochratoxin A in *Capsicum* spp. spices. *Official Journal of the European Union*, L185, 11-12.

European Food Safety Authority (EFSA). (2004). Opinion on the scientific panel on contaminants in the food chain on request from the commission related to zearalenone as undesirable substance in animal feed. Question no EFSAQ2003-037. *The EFSA Journal*, 89, 1-35.

European Food Safety Authority (EFSA). (2006). Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to ochratoxin A in food. Question N EFSA-Q-2005-154. *The EFSA Journal*, 365, 1-56.

European Food Safety Authority (EFSA). (2007). Opinion on the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to the potential increase of consumer health risk by a possible increase of the existing maximum levels for aflatoxins in almonds, hazelnuts and pistachios and derived products. *The EFSA Journal*, 446, 1-127.

European Food Safety Authority (EFSA). (2010). Scientific opinion statement on recent scientific information on the toxicity of ochratoxin A. *EFSA Journal*, 8(6), 1626.

European Food Safety Authority (EFSA). (2012a). Guidance on selected default values to be used by the EFSA scientific committee, scientific panels and units in the absence of actual measured data. *EFSA Journal*, 10(3), 2579.

- European Food Safety Authority (EFSA). (2012b). Scientific opinion on the risks for public and animal health related to the presence of citrinin in food and feed. *EFSA Journal*, 10 (3), 2605.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2020a). Risk assessment of aflatoxins in food. *EFSA Journal*, 18 (3), 6040.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2020b). Risk assessment of ochratoxin A in food. *EFSA Journal*, 18 (5), 6113.
- Farkhondeh, H.A. (2014). *Erzurum'da Açıkta Satılan Bazı Kurutulmuş Meyveler Üzerinde Gelişen Aflatoksin Üretici Mikrofungusların Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.
- Food and Agriculture Organization (FAO). (1990). Food and nutrition paper, manuals of food quality control 10. Training in mycotoxins analysis. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Rome, 14, 10.
- Food and Agriculture Organization Statistics (FAOSTAT). (2021). Dünya İncir Üretim Miktarları. Erişim tarihi: 3 Aralık 2021. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Gallo, A., Perrone, G., Solfrizzo, M., Epifani, F., Abbas, A., Dobson, A.D., Mulè, G. (2009). Characterisation of a pks gene which is expressed during ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius*. *International Journal of Food Microbiology*, 129(1), 8-15.
- Galvano, F., Piva, A., Ritieni, A., Galvano, G. (2001). Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: A review. *Journal of Food Protection*, 64(1), 120-131.
- Groopman, J.D., Kensler, T.W. (1988). Aflatoxin exposure in human populations: Measurements and relationship to cancer. *Critical Reviews in Toxicology*, 19(2), 113-145.
- Guyonnet, D., Belloir, C., Suschetet, M., Siess, M.H., Le Bon, A.M. (2002). Mechanisms of protection against aflatoxin B₁ genotoxicity in rats treated by organosulfur compounds from garlic. *Carcinogenesis*, 23, 1335-1341.
- Güler, F.K., Heperkan, D. (2008). Natural occurrence of ochratoxin A in dried figs. *Analytica Chimica Acta*, 617, 32-36.
- Gümrük ve Ticaret Bakanlığı Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü (GTBKGM). (2018). *2017 Yılı Kuru İncir Raporu*. Türkiye Cumhuriyeti Gümrük ve Ticaret Bakanlığı Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Günel, N. (2008). Türk dünyasında incir kültürü. *Türk veya Türk Dilleri Edebiyatı ve Tarihi*, 3(5), 563-564.
- Hendrickse, R.G. (1997). Of sick turkeys, kwashiorkor, malaria, perinatal mortality, heroin addicts and food poisoning: research on the influence of aflatoxins on child health in the tropics. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 91(7), 787-93.
- Heperkan, D. (2003). Gıdalarda mikotoksinler ve ülkemiz açısından önemi. *Ulusal Mikotoksin Sempozyumu*, 18-19 Eylül, İstanbul, 1-7.
- Hepsag, F., Golge, O., Kabak, B. (2014). Quantitation of aflatoxins in pistachios and groundnuts using HPLC-FLD method. *Food Control*, 38, 75-81.

Heshmati, A., Zohrevand, T., Khaneghah, A.M., Nejad, A.S.M., Sant'Ana, A.S. (2017). Co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in dried fruits in Iran: Dietary exposure risk assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 106, 202-208.

Hussein, H.S., Brasel, J.M. (2001). Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 167, 101-134.

International Agency for Research on Cancer (IARC). (1993). Some naturally occurring substances, food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*, 56.

İncir Araştırma İstasyonu Müdürlüğü (İAİM). (2017). *İncir Hastalıkları ve İncir Zararlıları*. İncir Araştırma İstasyonu Müdürlüğü, Aydın.

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). (2001). *Safety Evaluation of Certain Contaminants in Food*. Prepared by the Fifty-sixth Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), WHO Food Additives Series 47, FAO Food and Nutrition Paper 74, p. 182, World Health Organization, Geneva.

Kabak, B. (2007). *Bazı Mikotoksinlerin Detoksifikasyonunda Lactobacillus ve Bifidobacterium Suşlarının Kullanımı*. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü/Gıda Mühendisliği ABD, Adana.

Kabak, B. (2016). Aflatoxins in hazelnuts and dried figs: Occurrence and exposure assessment. *Food Chemistry*, 211, 8-16.

Kabak, B., Dobson, A.D.W., Var, I. (2006). Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(8), 593-619.

Khoury, A., Atoui, A. (2010). Ochratoxin A: general overview and actual molecular status. *Toxins*, 2(4), 461-493.

Kırıcı, N. (2018). İncir ihracatını etkileyen faktörler: Aydın örneği. *İktisadi İdari ve Siyasal Araştırmalar Dergisi*, 3(6), 123-138.

Koçlu, T., Çeliker, M. (2006). *İncir Yetiştiriciliği*. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Yayın Daire Başkanlığı, Ankara.

Kulahi, A., Kabak, B. (2020). A preliminary assessment of dietary exposure of ochratoxin A in Central Anatolia Region, Turkey. *Mycotoxin Research*, 36(3), 327-337.

Lerda, D. (2011). Mycotoxins factsheet-4th edition. *JRC Technical Notes*, JRC 66956, 10-11 October, p.36, Geel, Belgium.

Lima, N., Santos, C. (2017). MALDI-TOF MS for identification of food spoilage filamentous fungi. *Current Opinion Food Science*, 13, 26-30.

Marin, S., Ramos, A.J., Cano-Sancho, G., Sanchis, V. (2013). Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 218-37.

Michailides, T.J., Ferguson, L. (2009). University of California Pest Management Guidelines: Fig. UC ANR Publication 3447. Erişim tarihi: 7 Mart 2021. <https://www2.ipm.ucanr.edu/agriculture/fig/>.

- Mimoune, N.A., Manzanares, N.A., Gracia, L.G., Campaña, A.M.G., Bouti, K., Sabaou, N., Riba, A. (2018). *Aspergillus* section Flavi and aflatoxins in dried figs and nuts in Algeria. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 11(2), 119-125.
- Moss, M.O. (1992). Secondary metabolism and food intoxication-moulds. *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement*, 73, 80-88.
- Ouchemoukh, S., Hachoud, S., Boudraham, H., Mokrani, A., Louaileche, H. (2012). Antioxidant activities of some dried fruits consumed in Algeria. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie (LWT)*, 49, 329-332.
- Özkan, R., Öztürk, K., Kılınc, A. (2000). *İncir ve Kayıpların Güneş Kolektörlü Sistemle Kurutulmaları ve Depolanma Teknikleri Üzerine Araştırmalar*. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Projesi, Ankara.
- Palumbo, J.D., O'Keeffe, T.L., Ho, Y.S., Santillan, C.J. (2015). Occurrence of ochratoxin A contamination and detection of ochratoxigenic *Aspergillus* species in retail samples of dried fruits and nuts. *Journal of Food Protection*, 78(4), 836-842.
- Pavón, M.Á., González, I., Martín, R., García, T. (2012). Competitive direct ELISA based on a monoclonal antibody for detection of ochratoxin A in dried fig samples. *Food and Agricultural Immunology*, 23(1), 83-91.
- Petzinger, E., Ziegler, K. (2000). Ochratoxin A from a toxicological perspective. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 23, 91-98.
- Pfohl-Leszkowicz, A., Manderville, R. (2007). Review on ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Molecular Nutrition Food Research*, 51(1), 61-99.
- Pitt, J.I. (2000a). Toxigenic fungi: which are important? *Medical Mycology*, 38, 17-22.
- Pitt, J.I. (2000b). Toxigenic fungi and mycotoxins. *British Medical Bulletin*, 56(1), 184-192.
- Rahimi, E., Shakerian, A. (2013). Ochratoxin A in dried figs, raisings, apricots, dates on Iranian retail market. *Health*, 5(12), 2077-2080.
- Raiola, A., Meca, G., Mañes, J., Ritieni, A. (2012). Bioaccessibility of deoxynivalenol and its natural co-occurrence with ochratoxin A and aflatoxin B₁ in Italian commercial pasta. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 280-287.
- Rapid Alert System for Food and Feed Safety (RASFF). (2021). Erişim tarihi: 10 Şubat 2021. <https://ec.europa.eu>.
- Reddy, K.R.N., Reddy, C.S., Muralidharan, K. (2010). Potential of botanicals and biocontrol agents on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* infecting rice grains. *Food Control*, 20(2), 173-178.
- Resmî Gazete. (2008). Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ, tebliğ no: 2008/26, 17 Mayıs 2008, sayı:26879.
- Richard, J.L. (2007). Some major mycotoxins and their mycotoxicoses. *International Journal of Food Microbiology*, 119(1-2), 3-10.

- Rodrigues, P., Venâncio, A., Lima, N. (2012). Mycobiota and mycotoxins of almonds and chestnuts with special reference to aflatoxins. *Food Research International*, 48(1), 76-90.
- Sanchis, V., Marin, S., Ramos, A.J., Sancho, G.C. (2013). Mycotoxins: Occurrence, toxicology and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 218-237.
- Scientific Committee on Food (SCF). (1998). Opinion on ochratoxin A. Expressed on 17 September 1998, the Scientific Committee on Food, the European Commission. Erişim tarihi: 23 Mayıs 2021. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out14_en.html.
- Seo, J.A., Yu, J.H. (2005). Toxigenic Fungi and Mycotoxins. In: *Handbook of Industrial Mycology*, An, Z. (ed.), Marcell Dekker Inc., New York, USA.
- Sherif, S.O., Salama, E.E., Abdel-Wahhab M.A. (2009). Mycotoxins and child health: The need for health risk assessment. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 21(4), 347-368.
- Solomon, A., Golubowicz, S., Yablowicz, Z., Grossman, S., Bergman, M., Gottlieb, H.E., Altman, A., Kerem, Z., Flaishman, M.A. (2006). Antioxidant activities and anthocyanin content of fresh fruits of common fig (*Ficus carica L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (20), 7717-7723.
- Soufleros, E.H., Tricard, C., Bouloumpassi, E.C. (2003). Occurrence of ochratoxin A in Greek wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 173-179.
- Steyn, P.S., Stander, M.A. (1999). Mycotoxins with special reference to the carcinogenic mycotoxins: Aflatoxins, ochratoxins and fumonisins. In: *General and Applied Toxicology*, Ballantyne, B., Marrs, T.C., Syversen, T.L.M. (eds), 2nd edition, pp. 2145-2176, Macmillan Reference Ltd., United Kingdom.
- Sweeney, M.C., Dobson, A.D.W. (1999). Molecular biology of mycotoxin biosynthesis. *FEMS Microbiology Letters*, 175(2), 149-163.
- Şanlı, Y. (2002). *Veteriner Klinik Toksikoloji*. Medipres Yayıncılık, Malatya, 816.
- Taydaş, E.E. (1993). *Kırmızı Biberlerde Aflatoksin ve Okratoksin Oluşumu Üzerine Araştırmalar*. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Türk Gıda Kodeksi (TGK). (2011). TGK Bulaşanlar Yönetmeliği. *Resmî Gazete*, 29 Aralık 2011, sayı 28157, Ankara, Başbakanlık Basımevi.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). (2019). Bitkisel Üretim İstatistikleri. Erişim tarihi: 23 Mayıs 2020. www.tuik.gov.tr.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). (2020). Bitkisel Ürün Denge Tabloları. Erişim tarihi: 7 Nisan 2021. www.data.tuik.gov.tr.
- Türk Standardı (TS). (2006). Türk Standardı-TS 541. Türk Standardları Enstitüsü, Ankara.
- Ueno, Y. (1985). The toxicology of mycotoxins. *Critical Reviews in Toxicology*, 14(2), 99-132.
- Vallejo, F., Marin, J.G., Tomas-Barberan, F.A. (2012). Phenolic compound content of fresh and dried figs (*Ficus carica L.*). *Food Chemistry*, 130 (3), 485-492.
- VICAM. (2008). Ochratest and ochratest WB instruction manual. Milford, USA 25.

- Vinson, J.A. (1999). The functional food properties of figs. *Cereal Foods World*, 4, 82-87.
- Wang, Y., Nie, J., Yan, Z., Li, Z., Cheng, Y., Saqib, F. (2018). Multi-mycotoxin exposure and risk assessments for Chinese consumption of nuts and dried fruits. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(7), 1676-1690.
- Wang, Y., Wang L., Liu, F., Wang, Q., Selvaraj, J.N., Xing, F., Zhao, Y., Liu Y. (2016). Ochratoxin A producing fungi, biosynthetic pathway and regulatory mechanisms. *Toxins*, 8(83), 1-15.
- Yağcıoğlu, A. (1999). *Tarım Ürünleri Kurutma Tekniği*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Makineleri Bölümü Yardımcı Ders Kitabı, E.Ü. Ziraat Fak. Ofset Atelyesi, I. Basım, İzmir.
- Yaşartürk, Z.E. (2016). *Sarılop İncir Çeşidinde Bazı Uygulamaların Meyve Kalitesi Üzerine Etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 99.
- Yılmaz, S.O. (2017). The contamination rate of aflatoxins in ground red peppers, dried figs, walnuts without shell and seedless black raisins commercialized in Sakarya city center, Turkey. *Italian Journal of Food Science*, 29(4), 591-598.
- Zheng, Z., Humphrey, C.W., King, R.S., Richard, J.L. (2005). Validation of an ELISA test kit for the detection of total aflatoxins in grain and grain products by comparison with HPLC. *Mycopathologia*, 159(2), 255-263.
- Zinedine, A., Soriano, J.M., Juan, C., Mojemmi, B., Molto, J.C., Bouklouze, A., Cherrah, Y., Idrissi, L., El Aouad, R., Manes, J. (2006). Incidence of ochratoxin A in rice and dried fruits from Rabat and Sale' area, Morocco. *Food Additives and Contaminants*, 24(3), 285-291.

