

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KURU İNCİRLERDE SİKLOPIAZONİK ASİT
VARLIĞININ VE MİKTARININ BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gıda Müh. Şükran SOMUNCUOĞLU**

Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Programı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

OCAK 2007

**KURU İNCİRLERDE SİKLOPIAZONİK ASİT
VARLIĞININ VE MİKTARININ BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gıda Müh. Şükran SOMUNCUOĞLU
506041503

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 27 Aralık 2005
Tezin Savunulduğu Tarih : 29 Ocak 2007

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Dilek HEPERKAN
Diğer Jüri Üyeleri Doç.Dr. Beraat ÖZÇELİK (İ.T.Ü)
Doç.Dr. Emine UBAY ÇOKGÖR (İ.T.Ü.)

OCAK 2007

ÖNSÖZ

Mikotoksin sorunu, sağlık ve ekonomik açıdan doğurduğu ciddi sonuçlar neticesinde gün geçtikçe daha da önem kazanan bir konu haline gelmiştir. Siklopiazonik asit, gıda ve yemlere kontaminasyon riski yüksek olan bir mikotoksin olup, kilo kaybı, halsizlik, iştahsızlık, kusma, ishal, su kaybı, depresyon gibi ve hatta daha ciddi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Bu kapsamda siklopiazonik asitin gıdalarda varlığının ve miktarının belirlenmesi önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, ülkemizin en önemli ihracat kaynaklarından biri olan kuru incirlerde siklopiazonik asitin varlığı ile ilgili bir görüş edinilmesi ve literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Uzun ve yorucu bir çalışmanın ürünü olan tezim; yardımını, desteğini esirgemeyen, benimle birlikte zaman, emek harcayan pek çok kişinin de katkısıyla hazırlanmıştır. Başta değerli tez danışmanım Gıda Mühendisliği Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Dilek HEPERKAN'a, yorucu geçen laboratuvar çalışmalarında büyük destek olan, tezime büyük emeği geçen Funda K. GÜLER'e ve Levent DİNÇER'e, manevî destekleriyle hep yanımda olan sevgili arkadaşlarım Ayça YUMLU, Dilek ERARSLAN, Ömer S. KARAOZAN, Selim COŞKUN ve Ahmet Burak İLGÜN'e, zor zamanlarımda bana katlanarak desteğini de artırarak güç veren ve tezimin bitmesini dört gözle bekleyen kocaman aileme de sonsuz teşekkür ederim.

Aralık, 2006

Şükran SOMUNCUOĞLU

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÖZET	viii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ	1
2. MİKOTOKSİNLER	3
2.1. Mikotoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri	3
2.2. Mikotoksinlerin Ekonomik Açıdan Önemi	4
2.3. Gıdalarda Mikotoksin Oluşturan Başlıca Küfler ve Ürettiği Mikotoksinler	5
2.4. Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler	6
2.5. Mikotoksinlerle İlgili Yasal Düzenlemeler	6
2.6. Mikotoksin Oluşumunun Engellenmesi ve Kontrolü	8
3. KURU İNCİR	10
3.1. İncirin Tarihçesi	11
3.2. Kuru İncirin Üretimi	11
3.2.1. Kuru incir hasadı	11
3.2.2. Kurutma	12
3.2.3. Kuru alma	12
3.2.4. Fumigasyon	13
3.2.5. Depolama ve ambalajlama	13
3.3. Kuru İncirin İnsan Sağlığı ve Beslenme Açısından Önemi	13
3.4. Kuru İncirin Ekonomik Açıdan Önemi	15
3.4.1. Dünya incir ve kuru incir üretimi	15
3.4.2. Türkiye incir ve kuru incir üretimi	17
3.4.3. Dünya kuru incir ithalatı ve ihracatı	17
3.4.4. Türkiye kuru incir ithalatı ve ihracatı	18
3.5. Kuru İncirde Görülen Bozulmalar	19
3.6. Kuru İncirde Görülen Küf ve Mikotoksinler	20
3.6.1. Kuru incirde görülen küfler	20

3.6.2. Kuru incirde bulunan miktoksinler	21
4. SİKLOPIAZONİK ASİT	25
4.1. Siklopiazonik Asitin Toksisitesi	26
4.2. Siklopiazonik Asit ile İlgili Yasal Düzenlemeler	27
4.3. Siklopiazonik Asit Üreten Küfler ve İzole edildiği Gıdalar	28
4.4. Siklopiazonik Asitin Gıdalarda Doğal Olarak Bulunması	30
4.5. Siklopiazonik Asit Analizi İçin Uygulanan Yöntemler	33
5. MATERYAL ve METOT	38
5.1. Materyal	38
5.1.1. Kuru incir örnekleri	38
5.1.2. Standart mikotoksin çözeltilerinin hazırlanması	38
5.2. Metot	39
5.2.1. Ekstraksiyon	39
5.2.2. İnce tabaka kromatografisi	41
6. BULGULAR ve TARTIŞMA	42
6.1. CPA Bulguları	42
7. SONUÇLAR	51
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	60

KISALTMALAR

CPA	: Siklopiazonik asit
TLC	: İnce tabaka kromatografisi
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
EU	: Avrupa Birliği
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
DON	: Deoksinivalenol
UV	: Ultraviyole
ELISA	: Enzim bağlı immün assay

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1 Gıdalarda bulunan belli başlı bazı mikotoksinler ve biyolojik etkileri ..	4
Tablo 2.2 Gıdalarda görülen başlıca mikotoksinler ile bu mikotoksinlerin üretici bazı küfleri ve görüldüğü gıdalar	5
Tablo 2.3 Bazı mikotoksinler için belirlenen limitler	7
Tablo 2.4 Ülkemizde gıda maddeleri için belirlenen maksimum mikotoksin seviyeleri	8
Tablo 3.1 Kuru incirlerin besin değerleri ve günlük önerilen miktarları karşılama oranı	14
Tablo 3.2 Kuru incir ve diğer bazı meyvelerin besin içerikleri	15
Tablo 3.3 Dünya incir yetiştirilme alanları, incir üretimi ve verimi	16
Tablo 3.4 İncir üretiminin ülkelere göre dağılımı ve üretim miktarları	16
Tablo 3.5 Dünya kuru incir üretimi ve ülkelere göre dağılımı	16
Tablo 3.6 Türkiye’de taze incir ve kuru incir üretiminin yıllara göre dağılımı	17
Tablo 3.7 2004 yılına ait, kuru incir ithalatında ve ihracatında yer alan ilk 10 ülke ithalat ve ihracat miktar ve değerleri	18
Tablo 3.8 Türkiye’nin son yıllardaki kuru incir ihracat miktarı ve değerleri	19
Tablo 4.1 Siklopiazonik asit üreten küfler ve izole edildiği gıdalar	29
Tablo 4.2 CPA analizi için HPLC yöntemleri	36
Tablo 5.1 Kuru incir örneklerinin temin edilidği bölgeler	38
Tablo 6.1 CPA bulguları	42
Tablo 6.2 Kuru incir örneklerinin yıllara ve toksin miktarına göre dağılımı	44
Tablo 6.3 2003 yılı örneklerinin bölgelere göre CPA bulguları	44
Tablo 6.4. 2004 yılı örneklerinin bölgelere göre CPA bulguları	46
Tablo 6.5 CPA bulgularının yıllara ve bölgelere göre değişimi	47
Tablo 6.6 CPA analizi için uygulanan TLC metodu ile elde edilen geri kazanım oranları	48

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1	İncirlerin güneş altında kurutulması 12
Şekil 4.1	Siklopiazonik asitin kimyasal yapısı 25
Şekil 5.1	CPA analizi için kuru incir örneklerine uygulanan ekstraksiyon yöntemi 40
Şekil 6.1	2003 yılına ait örneklerdeki toksin miktarının bölgelere göre dağılımı 45
Şekil 6.2	2004 yılına ait örneklerdeki toksin miktarının bölgelere göre dağılımı 46
Şekil 6.3	Bölgelerdeki CPA bulgularının yıllara göre değişimi 47

KURU İNCİRLERDE SİKLOPIAZONİK ASİT VARLIĞININ VE MİKTARININ BELİRLENMESİ

ÖZET

Mikotoksin kontaminasyonu, ciddi boyutlara varan sağlık ve ekonomik sorunlara yol açması sebebiyle dünya çapında giderek önem kazanan bir konu durumuna gelmiştir. Kanserojenik, mutajenik, teratojenik etkiler gibi sağlığı tehdit edici çeşitli sonuçlar doğurmakla birlikte, ekonomik açıdan ciddi kayıpları da beraberinde getiren mikotoksinler, bazı filamentli küfler tarafından üretilen, farklı yapılara sahip ikincil metabolitlerdir. Siklopiazonik asit, (CPA) mikotoksinler grubuna dahil olup, üretici küflerinin her yerde bulunabilmesi ve genellikle gıda ve yem olarak kullanılan ürünlere yayılma eğilimi göstermesi nedeniyle bu ürünlerde kontaminasyon riski yüksek olan bir metabolittir. Yer fıstığı, mısır, peynir, domates ürünleri gibi gıdalara ek olarak kontamine gıda ve yemlerle beslenen hayvanların et, süt ve yumurtasında da varlığı tespit edilen siklopiazonik asit ile ilgili henüz bir yasal düzenleme bulunmamakla birlikte kilo kaybı, halsizlik, iştahsızlık, kusma, ishal, v.b. sağlık sorunlara yol açtığından ileriki dönemlerde sınırlandırmalar getirilmesi söz konusudur.

Kuru incir, besleyici değeri yüksek ve sağlık açısından çok faydalı bir ürün olmasının yanında ülkemiz için ayrı önem taşıyan bir meyvedir. Dünya kuru incir üretiminde en büyük paya sahip olan ülkemiz, aynı zamanda en büyük kuru incir ihracatçısı konumundadır.

Bulgulara göre, Germencik, Erbeyli, İncirliova, Söke, Selçuk, Ortaklar ve Torbalı olmak üzere 7 farklı bölgeden alınan 2003-2004 yıllarına ait toplam 48 adet kuru incir örneğinin 28'inde (%58) miktarı 23,38 ile 187 ppb arasında değişen CPA varlığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışma, yer fıstığı, mısır ve peynirde CPA varlığını araştıran çalışmalardan elde edilen dağılım oranlarını desteklemektedir. Bu çalışma CPA toksininin kuru incir örneklerindeki varlığını ilk kez ortaya koymaktadır. Çalışma ince tabaka kromatografisi yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiş olup, tespit limiti 23,38 ppb olarak belirlenmiştir.

OCCURRENCE OF CYCLOPIAZONIC ACID IN DRIED FIGS

SUMMARY

Mycotoxin contamination is an important worldwide issue due to causing serious health and economic problems. Mycotoxins, which lead to carcinogenic, mutagenic, teratogenic effects and also economic losses, are secondary metabolites having different structures and produced by filamentous fungi. Cyclopiazonic acid (CPA) is a mycotoxin having high potential to contaminate foods and feeds due to its producer fungi and their propensity to invade these commodities. Natural occurrence of CPA has been reported in peanuts, corn, cheese, tomato products and also meat, eggs and milk of animals that are feeded by contaminated feeds. Although there is no regulation for cyclopiazonic acid, limitations can be set in the future considering that its intoxication results in weight loss, inappetence, vomiting, diarrhea e.g.

Dried fig, very nutritional and a healthy food, is an important product for our country. Turkey is the leading dried fig producer and exporter in the world.

According to CPA analysis results, CPA is found in 28 of 48 samples (58%) in ranges of 23,38-187 ppb. The samples are collected from 7 different regions, Germencik, Erbeyli, İncirliova, Söke, Selçuk, Ortaklar, and Torbalı in 2003 and 2004. Results of the study are comparable with other studies on CPA in literature. This is the first report about the occurrence of CPA in dried figs. The analysis is performed by using thin layer chromatography (TLC). The detection limit of the method 23,38 ppb.

1. GİRİŞ

Mikotoksin kontaminasyonu dünya çapında önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Mikotoksinler, sağlık üzerinde kanserojenik, mutajenik, teratojenik etkiler gibi çeşitli sorunlara yol açtığından dünyanın ilgiyle üzerine eğildiği bir mesele olmakla birlikte ciddi ekonomik sorunları da beraberinde getirmektedir.

Kuru incir, oldukça besleyici nitelikte, yüksek vitamin ve mineral içeriğine sahip, sağlık üzerinde pek çok olumlu etkisi bulunan, hasadı takiben incirin kurutma işlemine tabii tutulmasıyla elde edilen bir meyvedir. Türkiye, dünya kuru incir üretiminde %54.3'lük pay ile birinci sırada yer almaktadır (Tuğ, 2002). Dünya kuru incir üretimindeki yerini dünya kuru incir ihracatında da koruyan ülkemizin, 2004 yılında 49.074 ton kuru incir ihraç ettiği ve ihracat değerinin 85.597 \$ olduğu beyan edilmiştir (Anon., 2006a).

Kuru incirin mikroflorası üzerine yapılan çalışmalar, hakim floranın *Aspergillus niger*, *A.flavus*-*A.parasiticus* ve *Fusarium* küflerinden oluştuğunu ortaya koymaktadır (Heperkan, 2005). Kuru incirde bulunan *A.flavus* küflerinin toksijenik suşları aflatoksin oluşturarak kuru incirde mikotoksin sorununun doğmasına neden olmuştur. *A.flavus* küfünün aflatoksin yanında aynı zamanda siklopiazonik asit oluşturma özelliği nedeniyle kuru incirlerde, CPA bulunma olasılığı bulunmaktadır (Luk ve ark., 1977). İhracatımızda önemli yere sahip olan kuru incirde mikotoksin sorunun olması sağlık açısından tehlike oluşturduğu gibi ekonomik açıdan da büyük zararlar doğuracaktır.

Siklopiazonik asit, farklı gıda ürünlerine bulaşan farklı küfler tarafından üretilen bir mikotoksindir (Anon., 2006b). Gıda ve yemlerin CPA ile kontamine olma olasılığı, toksinin üretici küflerinin her yerde bulunabilmesinden ve bu ürünlere yayılma eğilimi göstermesinden dolayı oldukça fazladır (Dorner, 2002). İntoksikasyonu durumunda kilo kaybı, halsizlik, iştahsızlık, kusma, ishal, su kaybı, depresyon gibi olumsuz etkilere ve hatta daha ciddi sonuçlara yol açabilen siklopiazonik asit, sağlık açısından muhtemel bir tehlike arz etmektedir (Norred ve

ark., 1988). Siklopiazonik asit üzerine yapılan çalışmalar, bu toksinin yer fıstığından mısıra, peynirden tavuk etine çeşitli gıdalarda bulunabildiğini ortaya koymuştur. Siklopiazonik asitin gıda ve yemlerde var olmasıyla ilgili henüz yasal bir düzenleme bulunmamasına rağmen mikotoksinlerle ilgili sınırlandırmalar ileriki dönemlerde bu toksin için de limitlerin olabileceğine işaret etmektedir.

Bu çalışmanın amacı, çeşitli bölgelerden alınan kuru incir örneklerinde CPA varlığının ve miktarının belirlenerek, ülkemizin en önemli ihracat kaynağı olan kuru incirlerde CPA varlığı ile ilgili bir fikir edinilmesini sağlamak ve literatüre katkıda bulunmaktır. Çalışmada CPA varlığı ve miktarını belirlemeye yönelik olarak ince tabaka kromatografisi (Thin Layer Chromatography, TLC) kullanılmıştır.

2. MİKOTOKSİNLER

Mikotoksinler, bazı filamentli küfler tarafından üretilen, farklı yapılara sahip, gıdalara kontamine olması durumunda insanlarda ve hayvanlarda çeşitli toksik etkilere neden olan ikincil metabolitlerdir (Deshpande, 2002; Smith, 2001). Oldukça toksik kimyasal maddeler olan mikotoksinler genellikle düşük molekül ağırlığında ve aromatik yapıda olan, antijenik olmayan bileşiklerdir (Smith, 2001; Tunail, 2000). Bu bileşiklerin stabiliteleri, mikotoksin çeşidine, sıcaklık derecelerine ve uygulama sürelerine göre farklılık gösterirken çoğu yüksek sıcaklıklara dirençlidirler ve genellikle de kendilerinin sentezlediği toksinlerden olumsuz etkilenmezler (Tunail, 2000).

2.1. Mikotoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri

Mikotoksinlerin hayvanlar üzerindeki olumsuz etkilerinin bilinmesine ve bu konu ile ilgili pek çok araştırma bulunmasına rağmen, insan sağlığı üzerindeki etkileri az anlaşılmış olup oldukça karmaşıktır. Mikotoksinle kontamine gıda tüketimi hayvanlarda ve insanlarda mikotoksikoz olarak adlandırılan toksik semptomların görülmesine yol açmaktadır. Görülen toksik semptomlar, mikotoksinlerin kimyasal yapı ve fiziksel özellikler bakımından farklılık göstermesine bağlı olarak geniş bir yelpazeye sahiptir (Smith, 2001). Mikotoksinler, mutajenik, karsinojenik, teratojenik, östrojenik, tremorjenik etkilerin yanı sıra hepatoksik, dermatoksik, nefrotoksik, nörotoksik, genotoksik, immunotoksik veya immunosupresif etkilere de yol açmaktadır (Smith, 2001; Tunail, 2000).

Mikotoksinlerin dozuna bağlı olarak canlılarda akut veya kronik etkiler görülmektedir. Bu bileşiklerin yüksek dozda alınmaları halinde ağır hastalıklar ortaya çıkabileceği gibi kısa sürede ölüm de meydana gelebilmektedir. Akut toksisitede bireyin duyarlılığı, genetik ve fizyolojik özellikleri ve çevresel faktörler etken olarak rol oynamaktadır. Kronik etkiler ise mikotoksinlerin daha düşük dozlarda alınması durumunda görülmektedir. Özellikle karaciğer, böbrek gibi organlarda hastalıklar, bağışıklık sistemi bozuklukları, kilo kaybı, üremede azalma,

kusurlu ve eksik organ oluşumu, deri nekrozları v.b. kronik etkilerin başlıcalarındandır (Tunail, 2000). Gıdalarda bulunan belli başlı bazı mikotoksinlerin gösterdikleri biyolojik etkiler Tablo 2.1’de verilmektedir (Moss, 2000).

Tablo 2.1: Gıdalarda bulunan belli başlı bazı mikotoksinler ve biyolojik etkileri (Moss, 2000).

Mikotoksin	Biyolojik etkisi
Aflatoksin B ₁	hepatotoksik, karsinojenik
Deoksinivalenol	kusma, iştah kaybı
Fumonisin	kanserojenik (yemek borusu)
Okratoksin	nefrotoksik
Patulin	ödem, kanama, muhtemel kanserojen
Siklopiazonik asit	kasılma
Sterigmatosistin	hepatotoksik, kanserojenik,
Zearalenon	östrojenik

2.2. Mikotoksinlerin Ekonomik Açıdan Önemi

Mikotoksinlerin insanlar, hayvanlar ve tarım üzerindeki ekonomik etkisinin değerlendirilmesine yönelik birden çok kriter bulunmaktadır. Bu kriterler, başta insan ve hayvan ölümleri ile tarımsal ve hayvansal üretimdeki kayıplar olmak üzere sağlık, veteriner harcamaları, yasal düzenlemeler ve araştırmalar için yapılan harcamaları kapsamaktadır. Bununla beraber tüm bu kriterlerin birlikte değerlendirilmesi zor olduğundan konu genellikle tek bir açıdan ele alınmaktadır (Hussein ve Brasel, 2001).

Gıda ve yemlerin mikotoksinle kontaminasyonu dünya çapında önemli bir problemdir. Yapılan araştırmalar, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkeleri kapsayan, geniş alanlara yayılmış bir mikotoksin kontaminasyonunun olduğunu ortaya koymaktadır (Hussein ve Brasel, 2001). Dünya çapındaki mahsüllerin yaklaşık %25’inin her yıl değişik seviyelerde mikotoksinle kontamine olduğu öngörülmektedir. Bu durum, ekonomik açıdan üreticiden tüketiciye çok geniş bir kitle için ve esasen de ülke ekonomisi için ciddi sonuçlar doğurmaktadır. A.B.D ve Kanada’da mikotoksin varlığından ötürü yem ve hayvancılık alanındaki yıllık zararın 5 milyar \$ olduğu tahmin edilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ise

mikotoksinlerin beslenme ile alınması durumunda erken ölümler ve hastalıklar ortaya çıkacaktır (Smith, 2001).

Gıda ve yemlerde mikotoksin varlığından ötürü ortaya çıkan ekonomik kayıplar, ilk etapta ürün veriminde ve kalitesinde kaydedilen düşmelerden, hayvancılıkla ilgili sorunlardan kaynaklansa da mikotoksin sorununun dolaylı olarak neden olduğu ekonomik zararlar da küçümsenmemelidir (Smith, 2001).

2.3. Gıdalarda Mikotoksin Oluşturan Başlıca Küfler ve Ürettiği Mikotoksinler

Bazı mikotoksinler, sınırlı sayıdaki küf türü tarafından oluşturulurken, bazıları farklı cinslere ait çeşitli türler tarafından üretilmektedir. Yapılan çalışmalarda, laboratuvar koşulları altında en az 300 potansiyel mikotoksinin izole edildiği, ancak bunların çok az bir kısmının (yaklaşık 20) gıda ve yemlerde kayda değer seviye ve sıklıkta görüldüğü belirtilmektedir (Smith, 2001).

Gıdalarda görülen başlıca mikotoksinler ve bu mikotoksinlerin üretici küfleri ile görüldüğü gıdalar Tablo 2.2’de verilmektedir (Moss, 2000; Deshpande, 2002).

Tablo 2.2: Gıdalarda görülen başlıca mikotoksinler ile bu mikotoksinlerin üretici bazı küfleri ve görüldüğü gıdalar* (Moss, 2000; Deshpande, 2002).

Mikotoksin	Üretici bazı küfler	Gıda
Aflatoksinler	<i>A.flavus</i> , <i>A.parasiticus</i>	Yer fıstığı, fındık, incir, mısır, tahıllar, baharatlar, meyveler, yemler
Aflatoksin M ₁	<i>A.flavus</i> , <i>A.parasiticus</i>	Süt ve süt ürünleri
Okratoksin	<i>A.ochraceus</i> , <i>P.verrucosum</i> , <i>A.carbonarius</i>	Tahıllar, baklagiller, kahve çekirdeği, mısır
Fumonisin	<i>Fusarium moniliforme</i>	Mısır ve diğer tahıllar
Siklopiazonik asit	<i>A.flavus</i> , <i>P.aurantiogriseum</i> **	Peynir, mısır, yer fıstığı, darı
Trikotesenler	<i>Fusarium</i> spp.	Mısır, buğday
Patulin	<i>P. expansum</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp.	Elma suyu
Zearalenon	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>Fusarium</i> spp.	Mısır, buğday, arpa, v.s
Sitrinin	<i>P.viridicatum</i> , <i>P.citrinum</i> , <i>A.ochraceus</i>	Tahıllar
Sterigmatosistin	<i>A.versicolor</i>	Tahıllar, kahve, peynir

* Bu tablo, Moss(2000) ve Deshpande (2002)’nin çalışmalarından düzenlenmiştir.

** *P.aurantiogriseum* küfü, bazı kaynaklarda CPA üreticisi olarak sayılmasına rağmen, son kaynaklara göre CPA üretmediği belirtilmekte ve CPA üreticisi küflere olan benzerliğinden dolayı onlarla karıştırıldığı düşünülmektedir (Samson ve ark., 2002; Pitt ve Hocking, 1997).

2.4. Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Gıda ve yemlerde mikotoksin oluşumu etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörler biyolojik, kimyasal ve fiziksel olarak gruplandırılabilir. Biyolojik faktörler, fungal türlerin ve substratın özellikleri ile ilgili olup, küfün türü, suşu, toksijenik özelliklerinin stabilitesi ile substratların küflere karşı hassasiyetini kapsamaktadır (Hussein ve Brasel, 2001). Ayrıca, tarım ürününün veya gıdanın çeşidi, kimyasal kompozisyonu, ürünün nem içeriği ve olgunluk durumu da bu faktörlere dahil edilebilmektedir (Tunail, 2000).

Kimyasal faktörler, fungusit ve/veya gübre kullanımı ve stres etkileri olarak sıralanmaktadır. Susuzluk ya da sıcaklıkta artış ya da bağıl nemdeki değişiklik gibi stres etkisi yaratan etkenler, mikotoksijenik küflerin kolonizasyonunu ve metabolizmalarını ve dolayısıyla da mikotoksin üretimini etkileyebilmektedir (Hussein ve Brasel, 2001).

Fiziksel faktörler ise fungal kolonizasyona ve mikotoksin üretime olanak sağlayan sıcaklık, bağıl nem, böcek istilası gibi çevresel faktörleri kapsamaktadır (Hussein ve Brasel, 2001). Ayrıca, atmosferik oksijen, diğer modifiye atmosfer gazları, ışık, süre, pH, hasat, işleme ve depolama koşulları gibi etkenler de bulunmaktadır (Tunail, 2000).

2.5. Mikotoksinlerle İlgili Yasal Düzenlemeler

Mikotoksinlerle ilgili sınırlamalar ve yasal düzenlemelerin oluşturulmasında bilimsel ve sosyo-ekonomik faktörler rol oynamaktadır. Bu faktörlerin başında mikotoksinlerin toksikolojisi ile çeşitli ürünlerdeki varlığı ile ilgili bilgilerin bulunması gelmektedir. Mikotoksinlerin analizi gerekli analitik metotların bulunması ve mikotoksinlerin bulunduğu ürünlerin gıda alımındaki yeri ve öneminin belirlenmesi diğer faktörlerdir. Esasen mikotoksinlerin toksik etkileri temel alınarak yapılan yasal düzenlemelerde maruz kalınan tehlikenin boyutları da göz önüne alınmaktadır (Egmond ve Jonker, 2004).

Dünya çapında en az 100 ülkede gıda ve/veya yemlerde mikotoksinlerle ilgili yasal düzenlemeler bulunmaktadır. Bu sınırlamaları uygulayan ülkelerin sayısında 1995'ten 2002'ye yaklaşık %30 artış gözlenmiştir. Ülkelerin sayısı artmakla birlikte sınırlama getirilen mikotoksin türünde ve ürünlerin sayısında da artış görülmüştür.

Tablo 2.3: Bazı mikotoksinler için belirlenen limitler (Egmond ve Jonker, 2006).

Mikotoksin	Gıda	Limit (µg/kg)	
		(EU*)	(FDA**)
Afla*** B ₁	findık, yer fıstığı, kuru meyve (insan tüketimine	2	-
Afla B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	direk sunulan veya ürün bileşeni olarak kullanılan)	4	-
Afla B ₁	insan tüketimine direk sunulmadan veya ürün	8 / 5	-
Afla B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırmaya veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulan yer fıstığı / findık ve kuru meyve	15/10	-
Afla B ₁	tahıllar (kara buğday dahil) ve işlenmiş ürünleri	2	-
Afla B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	(insan tüketimine direk sunulan veya ürün bileşeni olarak kullanılan)	4	-
Afla B ₁	insan tüketimine direk sunulmadan veya ürün	2 / 5	-
Afla B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırmaya veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulan tahıllar (mısır hariç) / mısır	4/10	-
Afla B ₁	baharatlar	5	-
Afla B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂		10	-
Afla B ₁	bebek gıdaları, tahıl bazlı küçük çocuk gıdaları, çocuklar için özel tıbbi amaçlı gıdalar	0,10	-
Afla M ₁	süt	0,05	0,5
Afla M ₁	bebek ve devam formülleri (bebek sütü ve devam sütü de dahil), çocuklar için özel tıbbi amaçlı gıdalar	0,025	-
Afla B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	süt haricindeki tüm gıdalar	-	20
Okratoksin A	işlenmemiş tahıl taneleri (kara buğday, pirinç)	5	-
	tahıl türevli tüm ürünler	3	-
	kuru asma meyveleri (kuru üzüm v.s)	10	-
	bebek gıdaları, tahıl bazlı küçük çocuk gıdaları, çocuklar için özel tıbbi amaçlı gıdalar	0,50	-
Patulin	meyve suları (özellikle elma suyu) (konsantre ve elma suyu türevli içecekler dahil)/ katı elma türevleri / çocuk ve bebek gıdalarında kullanılan elma suyu ve elma türevleri	50 / 25 / 10	-
Patulin	elma suyu, konsantre elma suyu ve bileşen olarak kullanılan elma suyu	-	50
DON	işlenmemiş tahıllar (buğday, yulaf, mısır hariç) / işlenmemiş buğday ve yulaf mısır	1250 / 1750	-
	tahıl unları, mısır unu ve mısır türevleri, makarna (kuru) / ekmek, bisküvi, kahvaltılık tahıllar v.b.	750 / 500	-
	tahıl bazlı küçük çocuk gıdaları	200	-
DON	insan tüketimine sunulan işlenmiş buğday ürünleri	-	1000
Zearalenon	işlenmemiş tahıllar (mısır hariç) / mısır	100 / 200	-
	tahıl unları (mısır unu hariç) / mısır unu v.b.	75 / 200	-
	ekmek, bisküvi, kahvaltılık tahıllar v.b. (mısır bazlı ürünler dahil)	50	-
	bebek ve küçük çocuklar için işlenmiş tahıl bazlı gıdalar	20	-
Fumonisin	işlenmemiş mısır / mısır unu, irmiği v.b. / mısır unu, irmiği v.b hariç diğer mısır bazlı gıdalar	2000 / 1000 / 400	-
	bebek ve küçük çocuklar için işlenmiş mısır bazlı gıdalar	200	-
Fumonisin B ₁ B ₂ B ₃	kuru öğütülmüş mısır ürünleri (tohumlanmış) / (kısmen tohumlanmış)	-	2000 / 4000
Fumonisin B ₁ B ₂ B ₃	Patlamış mısırdaki kullanılan mısır	-	3000

*EU: European Union, Avrupa Birliği

**FDA: Food and Drug Administration

*** Afla: Aflatoksin

Bununla birlikte, toksinler için belirlenen tolerans limitleri yıllar içerisinde azalmaya doğru eğilim göstermektedir (Egmond ve Jonker, 2004). Belli başlı bazı mikotoksinler için belirlenen limitler Tablo 2.3’de verilmiştir.

Ülkemizde mikotoksinlerle ilgili getirilen sınırlandırmalar ise Tablo 2.4’te verilmiştir (TGK, 2002). Buna göre bazı gıda gruplarında sadece üç mikotoksin için (aflatoksin, okratoksin A ve patulin) limitler konulmuştur.

Tablo 2.4: Ülkemizde gıda maddeleri için belirlenen maksimum mikotoksin seviyeleri (TGK, 2002).

Gıda Maddesi	Maksimum Seviye (ppb)			
	Aflatoksin		Okratoksin A	Patulin
	B ₁	B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	M ₁	
Fındık, yer fıstığı ve diğer yağlı kuru meyveler, yağlı tohumlar, incir, üzüm ve kurutulmuş meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar	5	10		
Tahıllar (kara buğday-fagopyrum sp. dahil) ve tahıl ürünleri	2	4		
Süt			0,05	
Süt tozu			0,5	
Peynir			0,25	
Bebek mamaları ve devam formleri (süt bazlı)			0,05	
Bebek mamaları ve bebek gıdaları	1	2		
Baharat	5	10		
Diğer gıda maddeleri*	5	10		
İşlenmemiş tahıl taneleri (çeltik ve karabuğday dahil)				5
Tahıllardan elde edilen bütün ürünler (tahıl bazlı işlenmiş ürünler ve doğrudan insan tüketimine sunulan tahıl taneleri)				3
Kuru üzüm				10
Elma suyu ve elma suyu içeren içecekler ve sirkeler**				50

* Bulunması muhtemel riskli gıdalar

** Konsantre ürünlerde tarifine uygun hazırlama sonucundaki üründe bakılır.

2.6. Mikotoksin Oluşumunun Engellenmesi ve Kontrolü

Mikotoksinlerin oluşumunun engellenmesi ve kontrolüne yönelik olarak yapılan uygulamalar bulunmaktadır. Hasat öncesinden başlayarak yapılan bu uygulamaların başında küflere dayanıklı ürünler yetiştirilmesi, iyi tarım uygulamaları, ürünlerin en doğru zamanda hasatı, kurutma esnasında nemin en hızlı şekilde düşürülmesi ve pestisit kullanımı gelmektedir. Ayrıca mikotoksin oluşumunu destekleyici böcek istilası, susuzluk, mekanik hasarlanmalar, mevsim değişiklikleri gibi etkenlerin en aza indirilmesi önem taşımaktadır (Smith, 2001).

Hasat sonrasında depolama aşaması mikotoksinlerin oluşumun önlenmesi açısından önem taşımaktadır. Hasat sonrasındaki mikotoksin kontaminasyonu depolama ve

nakliye sırasında uygun olmayan koşullardan dolayı gerçekleşmektedir. En önemli faktörler olan nem ve sıcaklığın kontrol altında tutulması gerekmektedir (Smith, 2001). Depolama aşamasında fungistatik özellikteki kimyasal ajanların (formik, asetik, propiyonik asit gibi organik asitler ve tuzları) kullanılması genellikle tahıllarda uygulanan önleyici bir yöntemdir. Ancak bu yöntemin etkisinin zaman bağlı olması, kullanılan ajanların korozif olması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Aynı zamanda bu uygulamanın yetersiz olarak yapılması durumunda bazı küflerin asitleri karbon kaynağı olarak kullandığı ve buna bağlı olarak da mikotoksin üretiminin arttığı ne sürülmektedir (Shapira ve Paster, 2004).

rnlerin depolama aşamasında, özellikle tahıllar için, uygulanabilen bazı fiziksel ve biyolojik yöntemler de bulunmaktadır. Modifiye atmosfer uygulamaları ve gama ışınlaması fiziksel yöntemlerdendir. Mikotoksinlerin biyolojik olarak kontrolü için, mikotoksin üretimi üzerinde engelleyici etkisi olduğu belirlenen bazı küf, maya ve bakteriler ile bazı doğal ürünlerin ileride kullanılabileceğinden de söz edilmektedir (Shapira ve Paster, 2004).

rnlerin mikotoksinle kontamine olması durumunda güvenli ürün eldesi için izlenecek iki yol bulunmaktadır; toksinle kontamine olmuş ürünler ayrılabilmekte veya toksin daha az toksik veya toksik olmayan ürünlere dönüştürülebilmektedir (Smith, 2001). Kontamine rnlerin fiziksel yollarla ayrılması üründe hiçbir besleyici ve teknolojik özellik değişimine neden olmadığından en uygun yöntem olarak görülmektedir. Ancak renk ve görünüşle ilgili tekniklere dayanan bu yöntemlerin etkinliği ve uygulanabilirliğinin sınırlı olduğu da belirtilmektedir (Smith, 2001; Shapira ve Paster, 2004). Mikotoksin dekontaminasyonuna yönelik olarak yapılan, çeşitli kimyasal (ışınlama, mikrodalga, v.s) ve biyolojik yöntemler ile çeşitli işlemlerin (yüksek sıcaklıklara maruz bırakma, v.s) etkinliğini inceleyen ve henüz uygulanabilirliği olmayan çalışmalar da bulunmaktadır (Smith, 2001; Shapira ve Paster, 2004).

3. KURU İNCİR

Kuru incir, *Ficus carica domestica* L. türüne dahil olan ağaçların olgunlaşmış meyvelerinin hasat edildikten sonra doğal veya yapay yöntemlerle kurutulmasıyla elde edilen ve doğrudan ya da işlem gördükten sonra insan tüketimine sunulan incir olarak tanımlanmaktadır (TS-541, 2002).

İncir, incir çiçek kılıfının büyümesi ve etlenmesi suretiyle meydana gelen, Moraceae familyasına (dut familyası) dahil olan incir ağacının, şişkin, etli çukur ve armuta benzer olarak tarif edilen yalancı meyvesidir. İncirin, içerisinde pek çok sayıda ufak çekirdek bulunmaktadır (Anon., 2006c). Subtropik ve ılıman kuşağın sıcak bölgelerinde yetişebilen incir meyvesi, taze olarak tüketilebildiği gibi kurutulduktan sonra da tüketime sunulmaktadır (Tuğ, 2002).

Kuru incir, incir meyvesinin su içeriğinin düşürülmesi amacıyla kurutma işlemine tabi tutulmasıyla elde edilmektedir. Kurutma işlemi sonucunda meyve, şeklini kaybederek yassı, yuvarlak bir şekil almaktadır. Kuru incirlerin nem içeriğinin genellikle %18-22 arasında olması beklenmekte, standartlara göre de %26'dan yüksek olmaması gerekmektedir (Anon., 2006c; Anon., 2003; TS-541, 2002). Ayrıca temiz, kendine has koku ve tat olmalı, güneş yanıklı, yırtık, yarık ve aşırı derecede kuru olmamalıdır (TS-541, 2002).

Kuru incirler, naturel (işlenmemiş), işlenmiş olmak üzere 2 grupta sınıflandırılmaktadır. Naturel kuru incirler, şekil verilmemiş, doğal durumunu koruyan incirler olarak tanımlanmaktadır. Bu gruptaki incirlerin sap ve göz kısımları kesilmiş olabilir. İşlenmiş incirler ise kuru incirlerin doğal görünümüne teknolojik işlemlerle veya elle çeşitli şekiller verilerek, gerektiğinde sap ve göz kısımlarının kesilerek, yırtılarak ya da delinerek hazırlanan kuru incirler olarak tanımlanmaktadır. İşlenmiş kuru incirler ise tiplerine göre çukulat, lokum, layer, pulled, protoben, lerida, makaroni, bağlama ve garland olmak üzere 9'a ayrılmaktadır. Ayrıca kuru incirler 1 kg'daki tane sayısına göre de 1'den 11'e kadar boylara ayrılmaktadır. Diğer

bir sınıflandırma ise tüm grup, tip ve boylardaki kuru incirleri kapsamakta olup ekstra, sınıf I, sınıf II ve endüstriyel olarak yapılmıştır (TS-541, 2002).

Besin maddeleri açısından zengin içeriği, yüksek kalori değeri ve mineral içeriği nedeniyle özel bir yere sahip olan kuru incirin çok çeşitli tüketim alanları bulunmaktadır. Çerezlik olarak tüketildiği gibi reçel, tatlı ve bisküvi sanayiinde, pasta imalatında, çeşitli yemeklerin yapımında, dilimlenmiş olarak ekmek imalatında ve meyve karışımlarında kullanılmaktadır. Kalitesi düşük olan incirlerden pekmez yapılmakta, hurda olanlarından ise etil alkol üretilmektedir. Etil alkolün üretimi sırasında ortaya çıkan incir çekirdekleri, boya, kozmetik ve ilaç sanayiinde, küspesi de besi yemi imalatında değerlendirilmektedir (Tuğ, 2002; Özden, 2005).

3.1. Kuru İncirin Tarihçesi

İncir, botanik ismini yani "Ficus carica" adını Ege Bölgesi'ndeki antik yerleşim alanı "Caria"dan almıştır. Anadolu ve Ege'de binlerce yıllık bir geçmişe sahip olan incir eski Yunan ve Mısır uygarlıklarında verimlilik sembolü olarak kabul edilmiştir. M.Ö. 484 yılında Herodotos tarafından yazılan kaynağa göre incirin Anadolu'daki kültürünün insanlık kültürü kadar eski olduğu, en eski gelişme tarihine sahip meyvenin incir meyvesi olduğu belirtilmektedir (Anon., 2006c; Anon., 2006d).

İncirin anavatanının Türkiye olduğu, buradan önce Suriye ve Filistin'e daha sonra da Ortadoğu üzerinden Çin ve Hindistan'a yayıldığı belirtilmektedir. Amerika'da incir yetiştiriciliğinin ise ikinci bir girişimin sonucunda 1900'lerin başında başarıya ulaştığı ve Ege'den Kaliforniya'ya götürülen incir fidanları aracılığıyla gerçekleştiği kaynaklarda yer almaktadır (Anon., 2006d).

3.2. Kuru İncirin Üretimi

Kuru incir üretimi, kuru incir hasadını takiben gerçekleştirilen kurutma, kuru alma, fumigasyon işlemlerini kapsamaktadır.

3.2.1. Kuru incir hasadı

Taze olarak toplanmayan incirler ağaç üzerinde su kaybetmektedir. Buruk olarak tanımlanan bu meyveler sap kısımlarında meydana gelen oluşumlardan ötürü kendiliğinden dökülmekte, aksi durumda da bir sırık yardımıyla düşürülmektedir.

Buruk incirler ağaç altlarından 10-15 kilogramlık sepet, kova ve benzeri kaplar aracılığıyla toplanarak kurutma yerlerine götürülmektedir (Anon., 2006c; Anon., 2006e).

Kuru incir hasadının her gün düzenli olarak yapılması; hayvan ve haşere zararlıların en alt seviyeye indirilmesi, kuru incir meyvesinde en büyük sorun olan incir kurdu kelebeklerinin yumurta bırakmasının önüne geçilmesi ve küf kontaminasyonunun engellenmesi açısından önem taşımaktadır (Anon., 2006d).

3.2.2. Kurutma

Kurutmanın amacı, nem içeriği %30-50 olan buruk incirlerin nem içeriğini %18-20'ye indirmektir. Nem değerinin belirtilen seviyelere düşürülmesi fermentasyon ve bozulma meydana gelmemesi için büyük önem taşımaktadır. Yine küf konsantrasyonu da kurutmadaki nem içeriği ile doğrudan ilişkilidir. Kurutmada kullanılmak üzere çeşitli araçlar kullanılabildiği gibi, kurutma doğal koşullarda güneş altında da gerçekleştirilebilmektedir (Anon., 2006c). Şekil 2.1.'de incirlerin güneş altında kurutulma aşaması görülmektedir.

Kurutmanın yapıldığı yerle ilgili olarak yapılan çalışmalarda, yerden 10-15 cm yükseklikte yerleştirilmiş telli kerevet üzerinde yapılan kurutmanın diğer çeşit kerevetlere, çakıl döşenmiş zemine, betona veya sıkıştırılmış toprak zemine göre hem temizlik hem de kuruma süresi yönünden daha uygun olduğu gözlemlenmiştir (Anon., 2006c; Anon., 2006e).



Şekil 3.1: İncirlerin güneş altında kurutulması

3.2.3. Kuru alma

Kurutma süresi 2-4 gün arasında değişmektedir (Anon., 2006e). Kurutulmaya bırakılan incirler, her gün serin saatlerde, düzenli olarak kontrol edilmektedir.

Kurumuş olan meyveler sergiden alınırken, kurumamış olanlar ise alt üst edilerek tekrar kurumaya bırakılmaktadır (Anon., 2006c).

3.2.4. Fumigasyon

İncirlerin fumigasyon işlemi yapılarak ilaçlanması sayesinde zararlıların ergin, pupa, larva ve yumurta halindeki tüm dönemlerine karşı savaş verilmektedir. Kullanılan fumigant çeşidi ve miktarı, fumigasyon yöntemi, fümigatuvar hacmi ve fümigasyon süresi gibi parametreler optimum olarak belirlenerek uygulanmaktadır. Bu amaçla en yaygın olarak kullanılan fumigant ise metil bromid olarak bilinmektedir (Anon., 2006c).

3.2.5. Depolama ve ambalajlama

Kuru incirler fumigasyon işlemine tabi tutulduktan sonra kilodaki meyve adedi ve kaliteleri açısından sınıflandırılmakta, ardından değerlendirilme biçimine göre ambalajlanarak piyasaya sunulmaktadır. Kuru incirler, değerlendirilme aşamasına kadar olan süreçte herhangi bir kontaminasyona olanak vermeyecek şekilde serin ortamlarda veya muhafazalı soğuk depolarda saklanmaktadır (Anon., 2006c). Depolama sürecinde de optimum sıcaklık ve bağıl nemin seçilerek uygulanması önem taşımaktadır. Aksi takdirde, uygun olmayan sıcaklık ve yüksek nem yüzünden meyvenin şekerlenmesi, fermantasyon, istenmeyen ekşi koku oluşumu, renk değişimi, kalite düşmesi, küf ve maya oluşumu gibi sonuçlar doğabilmektedir (Anon., 2006c).

Ambalajlama biçimi iç ve dış pazar istekleri doğrultusunda çeşitlilik göstermekle birlikte, ambalajlanmadan önce yine talep gereği kuru incirler farklı işlemlere tabi tutulabilmektedir. İncirler, karton kutular, ağaç kasalar, değişik sepet ve kaplar içinde ambalajlandığı gibi bazıları da ezme, pekmez veya başka bir teknolojik ürün olarak değerlendirilme amacıyla işletmelere gönderilmektedir (Anon., 2006c).

3.3. Kuru İncirin İnsan Sağlığı ve Beslenme Açısından Önemi

Kuru incir, yüksek enerji değeri, içerdiği mineral, vitamin ve diğer besin maddeleri ile insan sağlığı ve beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Kuru incirin besin değerleri Tablo 3.1’de verilmektedir. Kuru incir ve diğer bazı meyvelerin besin içerikleri ise Tablo 3.2’de gösterilmektedir. Kuru incir, diğer meyveler arasında en

yüksek mineral içeriğine sahip meyvedir. Kalsiyum, bakır, magnezyum, potasyum ve kükürt içeriği açısından diğer meyvelerle kıyaslandığında birinci sırada yer alan kuru incir, enerji, pantotenik asit, riboflavin, tiamin ve piridoksin bakımından ikinci sırada bulunmaktadır. Kolay sindirilebilen fruktoz ve glikoz içeriğine sahip kuru incirin protein miktarı ise diğer birçok kuru meyvenin iki katından daha fazladır (Anon., 2006c). Sütte bulunan kalsiyuma oranla kuru incirin daha yüksek miktarda kalsiyum içerdiği bilinmektedir. Kemik yapısının oluşmasında ve kanın pıhtılaşmasında önemli rol oynayan kalsiyumun gereksinimi gelişme çağında, hamilelikte, lohusa ve menapoz dönemlerinde arttığından bu evrelerde incir tüketimi daha önem kazanmaktadır. Kuru incirin demir içeriği de diğer meyvelerle karşılaştırıldığında yüksek olup üzüm ile aynı seviyededir. İçerdiği bakır ise demirin vücut tarafından emilimini kolaylaştırdığından önem taşımaktadır (Anon., 2006c). Diğer meyveler arasında en fazla lif içeriğine sahip olma özelliği de kuru incire aittir. (Vinson, 1999) Bir adet kuru incir, günlük alınması gereken lif miktarının %20'sine karşılık gelmektedir. İçerdiği lifin %28'den fazlası ise çözünür özelliktedir. Çözünür özellikteki lif, kan şekerinin kontrol edilmesinde ve kandaki kolesterol düzeyinin düşürülmesinde rol almaktadır. Ayrıca, yapılan çalışmalar obez hastaların kilo vermesinde de yardımcı rol oynayabileceğini göstermektedir (Vinson, 1999).

İncirin içerdiği potasyum, magnezyum ve kalsiyum gibi minareller, incirin zengin lif içeriği ile birlikte yüksek kan basıncının düşürülmesine de yardımcı olmaktadır.

Tablo 3.1: Kuru incirin (100 gr için) besin değerleri ve günlük önerilen miktarları karşılama oranı (Anon., 2006a; Vinson, 1999; Bamford, 1990).

Bileşen	Miktar	Önerilen Miktarın Yüzdesi (%)	Bileşen	Miktar	Önerilen Miktarın Yüzdesi (%)
Enerji (kcal)	213 - 274	-	Magnezyum(mg)	59 - 92	21.6-27
Protein (g)	3.1 - 4.3	-	Potasyum (mg)	640 - 1010	41.3
Yağ (g)	1.2 -1.3	-	Sodyum (mg)	11 - 87	9.8
Karbonhidrat (g)	53 - 69	-	Bakır (mg)	0.24 – 0.31	13.8
Diyet lifi (g)	5.6 - 18.5	-	A vitamini (IU)	9.76-13	0.2-0.3
Şeker (g)	48 - 55	-	C vitamini (mg)	0 – 8.5	7.1
Kalsiyum (mg)	126 - 280	25.4	Tiamin (mg)	0.07 – 0.1	5.7-7.7
Fosfor (mg)	68 - 92	10	Riboflavin (mg)	0.08 – 0.1	5.3-6.9
Demir (mg)	2.2 - 4.2	32-21.3	Niasin (mg)	0.69 – 1.7	6.3-8.0

Kuru incirin anti-kanserojenik etkileri üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Kuru incirler, pek çok tahıl, sebze ve meyve ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek oranda polifenol içeriğine sahiptir. 100 gr incirde 1090-1100 mg polifenol bulunduğu belirlenmiştir. Antioksidan özelliğine sahip polifenoller, kanser oluşumunu ve kardiyovasküler hastalık riskini düşürücü özelliğe sahip olduğundan incir tüketimi sağlık açısından önem taşımaktadır. Polifenollerin yanında anti-kanserojenik aktivite gösteren diğer bileşikler de kuru incirin yapısında yer almaktadır. Benzaldehit ve kumarinler bu bileşiklerdendir. Benzaldehit, ölümcül kanser vakalarının tedavisinde başarıyla kullanılabilir. İncirlerin uçucu ekstraktından izole edilen kumarinler ise prostat kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır. Kumarinlerin deri kanserinin tedavisinde de kullanımı üzerine araştırmalar sürdürülmektedir. Kuru incirlerin kolesterol düşürücü özellikteki fitosterol, lanosterol ve stigmasterol içerdiği de tespit edilmiştir (Vinson, 1999).

Tablo 3.2: Kuru incir ve diğer bazı meyvelerin besin içerikleri (Vinson, 1999).

Meyve (g)	Kalori (kcal)	Diyet lifi (g)	Potasyum (g)	Kalsiyum (mg)	Demir (mg)
Elma (154 g)	91	3.0	177	11.0	0.3
Muz (126 g)	75	1.7	324	4.9	0.3
Hurma (40 g)	113	3.8	240	10.0	0.2
Kuru incir (40 g)	113	4.9	244	53.0	1.2
Üzüm (138 g)	98	0.8	255	15.0	0.4
Portakal (154 g)	72	2.9	279	62.0	0.2
Kuru erik (40 g)	109	2.47	290	7.2	0.6
Kuru üzüm (40 g)	126	2.3	306	16.0	1.2
Çilek (147 g)	147	2.2	244	20.6	0.6

3.4. Kuru İncirin Ekonomik Açıdan Önemi

3.4.1. Dünya incir ve kuru incir üretimi

Dünyada 2005 yılına ait en son verilere göre incir üretimine ayrılan alan 427,462 (427 bin hektar) olup elde edilen incir miktarı ise 1,1 milyon ton olarak kaydedilmiştir. Dünya incir yetiştirilme alanlarına, incir üretimine ve verimine ait son 5 yıla ait veriler Tablo 3.3'te verilmektedir.

Tablo 3.3: Dünya incir yetiştirilme alanları, incir üretimi ve verimi (Anon., 2006a).

Yıllar	Üretim Alanı (Ha)	Üretim Miktarı (Mt)	Verim (Hg/Ha)
2001	421,879	983,904	23,321
2002	414,885	1,038,100	25,021
2003	418,359	993,966	23,758
2004	418,940	1,011,480	24,143
2005	427,462	1,075,174	25,152

Dünya incir üretimi açısından önde gelen ülkeler arasında %26 pay ile Türkiye ilk sırada yer almaktadır. Ülkemizi sırasıyla %16 pay ile Mısır, İran (%8), Yunanistan (%7), Cezayir (%6) ve Fas (%6) takip etmektedir. İncir üretiminin ülkelere göre dağılımı ve üretim miktarları Tablo 3.4'te verilmektedir.

Tablo 3.4:İncir üretiminin ülkelere göre dağılımı ve üretim miktarları (Anon. 2006a)

Ülkeler	Alan (Ha)	Miktar (Mt)	Verim (Hg/Ha)	Üretim Payı (%)
Türkiye	65,000	280,000	43,076	26
Mısır	29,000	170,000	58,620	16
İran	45,000	90,000	20,000	8
Yunanistan	15,000	80,000	53,333	7
Cezayir	53,000	63,000	11,886	6
Fas	42,700	60,000	14,051	6

İncir üretimi dünyada sınırlı sayıda ülke tarafından yapılmaktadır. Buna bağlı olarak da kuru incir üretimi yapan ülke sayısı da oldukça azdır. Dünya kuru incir üretimi ve ülkelere göre dağılımı Tablo 3.5'te verilmektedir. Bu verilere göre dünyada kuru incir üretimi yaklaşık 90 bin ton olup bu miktarın %54.3'ü Türkiye tarafından üretilmektedir. Ülkemizi %13,9 oranla Yunanistan ve ABD takip etmektedir (Tuğ, 2002). Bu veriler Türkiye'nin dünya kuru incir üretiminde yarıdan fazla bir payla sahip olduğunu göstermektedir.

Tablo 3.5: Dünya kuru incir üretimi ve ülkelere göre dağılımı (Tuğ, 2002).

Ülkeler	1996	1997	1998	1999	2000
Türkiye	50.155	45.225	50.981	52.684	49.001
Yunanistan	15.700	12.560	12.250	12.400	12.500
ABD	12.600	12.500	12.400	12.650	12.500
İtalya	6.700	8.000	7.200	6.475	7.000
Portekiz	4.100	4.100	4.200	4.200	4.000
İspanya	3.500	3.400	3.600	3.500	3.700
Diğerleri	1.500	1.450	1.300	1.450	1.500
Dünya Toplamı	94.255	87.235	91.931	93.539	90.201

3.4.2. Türkiye incir ve kuru incir üretimi

Dünya kuru incir üretiminde çok büyük paya sahip olan Türkiye’de kuru incir bütün kıyı kesimleri dahil olmak üzere birçok bölgede, Büyük ve Küçük Menderes havzalarında, İç Anadolu’nun korumalı vadilerinde ve Güneydoğu Anadolu’da üretilmektedir. Bununla birlikte ticari önem taşıyan kuru incir üretimi genellikle Büyük ve Küçük Menderes havzaları ile Bursa ve çevresinde yapılmaktadır (Aksoy, 2001). Kurutma işlemine tabi tutulacak incirler için tadı, büyüklüğü, etli oluşu, açık rengi ve yumuşak kabuğu ile dünyada kurutmaya en uygun çeşitlerden biri olarak nitelendirilen Sarılop çeşidi incirler tercih edilmektedir (Özden, 2005). Dünyaca tanınan, yüksek kalitede ve dolayısıyla da yüksek ekonomik değere sahip olan bu çeşit ülkemizde en yaygın olarak üretilen çeşit olma özelliğini de taşımaktadır (Anon., 2003). Bu incir çeşidinin en önemli üretim alanı ise Ege Bölgesi’nde, İzmir (Ödemiş, Tire) ve Aydın (Germencik) çevresindedir (Aksoy, 2001; Özden, 2005). Üretilen diğer çeşitler ise Bursa Siyahı (Dürdane İnciri), Göklop, Yeşilgüz, Morgüz ve Bardacık gibi çeşitler olup yetiştirilme oranı %12 ile sınırlıdır (Tuğ, 2002).

Türkiye’de taze incir ve kuru incir üretimin yıllara göre dağılımı Tablo 3.6’da verilmektedir. 2004 yılına ait son verilere göre Türkiye’nin taze incir üretimi 280.000 ton olarak bildirilirken kuru incir üretimi 55.631 ton olarak rapor edilmiştir.

Tablo 3.6: Türkiye’de taze incir ve kuru incir üretiminin yıllara göre dağılımı (Özden, 2005).

Yıllar	Taze incir (ton)	Kuru incir (ton)
1995	300.000	49.975
1996	290.000	50.155
1997	243.000	45.255
1998	255.000	50.981
1999	275.000	47.800
2000	240.000	48.675
2001	235.000	48.028
2002	250.000	53.200
2003	280.000	46.500
2004	280.000	55.631

3.4.3. Dünya kuru incir ithalatı ve ihracatı

Dünya kuru incir ihracatında ilk sırayı Türkiye almaktadır. İhracat değeri ve miktarında Türkiye’yi büyük ölçüde farklarla A.B.D ve İspanya takip etmektedir.

Tablo 3.7'ye bakıldığında Türkiye'nin en yakın takipçisi ile arasında miktar olarak 13 kat, değer olarak 9 kat fark olduğu görülmektedir. Türkiye, 2004 yılında 49.074 ton kuru incir ihraç etmiş ve ihracat değeri 85.597 \$ olarak rapor edilmiştir (Anon., 2006a).

Kuru incir üretiminde ithalatçı ülkelerin başında ise 9.706 ton ile Almanya gelmektedir. Almanya'yı 9.155 ton ile Fransa ve 5.795 ton ile İtalya takip etmektedir. 2004 yılında, kuru incir ithalatında ve ihracatında yer alan ilk 10 ülke ithalat ve ihracat miktar ve değerleriyle birlikte Tablo 3.7'de verilmektedir (Anon., 2006a).

Tablo 3.7: 2004 yılına ait, kuru incir ithalatında ve ihracatında yer alan ilk 10 ülke ithalat ve ihracat miktar ve değerleri (Anon., 2006a).

Sıra	Ülke	İthalat		Ülke	İhracat	
		Miktar (ton)	Değer (bin \$)		Miktar (ton)	Değer (bin \$)
1	Almanya	9.706	19.294	Türkiye	49.074	85.597
2	Fransa	9.155	18.543	ABD	3.835	9.536
3	İtalya	5.795	11.318	İspanya	3.377	4.394
4	Hong Kong	4.699	7.756	Suriye	2.898	2.027
5	ABD	4.420	6.873	Yunanistan	2.831	7.105
6	Hindistan	3.239	4.737	Afganistan	2.702	3.732
7	İngiltere	2.709	6.733	Sri Lanka	1.585	1.093
8	İspanya	2.709	4.442	Hong	1.894	1.310
9	İsviçre	2.092	5.557	Almanya	1.410	4.390
10	Kanada	1.698	4.192	Fransa	1.344	5.858

3.4.4. Türkiye kuru incir ithalatı ve ihracatı

Dünyanın en önemli kuru incir üreticisi olan Türkiye, 2005 yılına ait son verilere göre 52.573 ton ihraç etmiştir. Tablo 3.8'de Türkiye'nin son yıllardaki kuru incir ihracat miktarı ve değerleri verilmektedir (Anon., 2006a; Özden, 2005).

Türkiye, dünyada ihracatçı ülkeler arasında önemli bir pay ile ilk sırayı aldığından ithalat miktarı oldukça az miktardadır. Çok düşük miktarlarda yapılan ithalat, tekrar ihraç edilmek amacıyla İran ve Suriye gibi ülkelere yapılmaktadır (Anaç, 2003).

Tablo 3.8: Türkiye'nin son yıllardaki kuru incir ihracat miktarı ve değerleri (Anon., 2006a; Özden, 2005).

Yıllar	İhracat miktarı (ton)	İhracat değeri (bin \$)
2000	43.066	68.038
2001	39.284	66.216
2002	35.052	70.553
2003	42.081	78.028
2004	49.074	85.597
2005	52.573	105.038

3.5. Kuru İncirde Görülen Bozulmalar

Kuru incirlerde hasat öncesi ve hasat sonrasında (üretim, depolama, nakliye) çeşitli nedenlerden ötürü istenmeyen değişiklikler ve bozulmalar görülebilmektedir.

Kuru incirlerde, hasattan önce çeşitli hastalık ve zararlıların görülmesi meyvede bozulmalara neden olmaktadır. Görülen hastalıkların başında, kök uyuzu, çelik marazı ile sürme (siyah küf) ve iç çürüklüğü gelmektedir. Sürme hastalığına *A.niger* küfleri yol açarken, meyvenin olgunlaşması esnasında meyve içinin yumuşayıp pembeleşmesi ve pembe renkli sıvı akması olarak ortaya çıkan meyve iç çürüklüğüne *Fusarium* küfleri sebep olmaktadır (Aksoy, 2001).

Kuru incirlerin üretimi esnasında meyvenin incir kurdu kelebekleri ve diğer zararlılarla temas etmesi durumunda küfle kontaminasyon olasılığının ve küf yoğunluğunun arttığı, dolayısıyla mikotoksin oluşumunun da etkilendiği belirtilmektedir (Buchanan ve ark., 1975).

Kurutma esnasında meyvelerin gün ışığına fazla maruz kalması, lezzet ve renk kaybına, yapı ve doku değişikliklerine yol açabilmektedir (TS-541, 2002; Anon., 2006c).

Kuru incirin depolanması ve taşınması sırasında meyvede ürün yükü ile ezilme ve parçalanmalar meydana gelebilmektedir. Bu durum, meyvenin küfle kontaminasyon olasılığının artmasına ve hızla bozulmasına sebep olmaktadır. Yine nakliye esnasında kullanılan ve bez torbalar gibi ürünün havalanmasına müsade etmeyen materyaller de kuru incirde ekşimeye neden olabilmektedir (Aksoy, 2001).

Kuru incirlerin nem içeriklerinin yüksek olması, depolama esnasında meyvede istenmeyen değişikliklere neden olmaktadır. Fermantasyon ve buna bağlı olarak ekşi

koku oluşumu ve tat değişimi, şekerlenme ve küf yoğunluğunda artış görülebilmektedir. Depolama aşamasında sıcaklık artışı ise meyvede istenmeyen renk değişimine, kararırma reaksiyonlarına yol açmaktadır (Anon., 2006c).

3.6. Kuru İncirde Görülen Küf ve Mikotoksinler

3.6.1. Kuru incirin küf florası

İncir meyvesi, yetiştiği iklim koşullarından dolayı küf oluşumu ve gelişimi için riskli gıdalar grubuna dahil bir üründür. İncirlerin küf florası üzerine yapılan çalışmalarda hakim floranın *A.niger*, *A.flavus*-*A.parasiticus* ve *Fusarium* küflerinden oluştuğu, ancak incirin temin edildiği aşamaya göre de farklılık gösterebileceği bildirilmiştir (Heperkan, 2005). *A.flavus*-*A.parasiticus* küflerinin kontaminasyon oranı ağaçtan toplanan incirlerde %41, toprak üzerinden alınan incirlerde %21, güneşte kurutulanlarda %42, depolardan temin edilenlerde ve incir ezmesinde ise %25 olarak tespit edilmiştir (Heperkan, 2005).

Karapınar ve Gönül (1989) tarafından kuru incirlerin küf florasının ve aflatoksijenik küflerin varlığının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada 206 sergi örneğinden izole edilen küfler *A.niger* (%95.14), *A.flavus* (%22.81), *Fusarium oxysporum* (%17.96), *Rhizopus stolonifer* (%14.97), *Alternaria tenuis* (%11.6), *Penicillium glabrum* (%8.25), *Cladosporium sphaerospermum* (%7.27) olarak rapor edilmiştir. İzole edilen diğer tür küflerin rastlanma oranı ise oldukça düşük olarak kaydedilmiştir. Çalışmaya göre kuru incirlerde en dominant türün *A.niger* olduğu gözlenmiştir. *A.flavus* izolatlarının aflatoksijenitesinin araştırılması sonucunda izolatların %66'sının aflatoksijenik olduğu belirtilmiştir (Karapınar ve Gönül, 1989).

Karapınar ve Gönül (1990)'ün yaptığı diğer bir çalışma ise farklı depolardan alınan kuru incirlerin küf florası üzerinedir. İncelenen toplam 64 örnekte benzer bir şekilde dominant küf *A.niger* (%92) izole edilmiştir. Diğer izole edilen küfler ise *A.parasiticus* (%12), *A.flavus* (%5), *A.terreus* (%5), *Rhizopus stolonifer* (%9), *Mucor racemosus* (%9) olarak sıralanmıştır. İzole edilen diğer 4 küfe ise bir veya iki örnekte rastlanmıştır (Karapınar ve Gönül, 1990).

Var ve arkadaşlarının (2001) çalışmasında analize alınan ambalajlı ve ambalajsız kuru incirlerin küf florası incelenmiş ve *Mucor*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Scopulariopsis* ve *Cladosporium* cinsi küfler izole edilmiştir. Çalışmada hiçbir

örnekte aflatoksin üreten küfe rastlanmazken sadece bir örnekte aflatoksinejik küf bulunmadığı halde aflatoksin B₁ tespit edilmiştir (Var ve ark., 2001). Bu durum da aflatoksin üreten küflerin daha önce incirde bulunduğuna ve toksini ürettikten sonra canlılığını yitirdiğine işaret etmektedir.

Iamanaka ve arkadaşları (2006a) tarafından Brezilya'da satılan kuru incirlerde aflatoksinejik küflerin ve aflatoksin varlığının incelendiği çalışmada ise, analize alınan 19 incir örneğinden bir adet *A.flavus* izolatı elde edilmiş ve aflatoksin B₁ ve B₂ üreticisi bir izolat olduğu belirtilmiştir (Iamanaka ve ark., 2006a).

Kuru incirlerle birlikte diğer bazı kuru meyvelerin de analize alındığı bir başka çalışmada ise kuru incirlerde *A.niger*+*A.carbonarius* ve *A.ochraceus* kontaminasyonu incelenmiştir. Kuru incirlerin %38'e varan oranlarda ortalama %4.5 değerinde *A.niger*+*A.carbonarius* ile enfekte olduğu belirlenirken *A.ochraceus* varlığına rastlanmadığı kaydedilmiştir (Iamanaka ve ark., 2006b).

3.6.2. Kuru incirde bulunan mikotoksinler

Kuru incirde küf florası üzerine yapılan çalışmalar, mikotoksin üretme potansiyeline sahip küflerin de kuru incirde bulunduğunu ve mikotoksin üretebileceğini göstermektedir. Kuru incirde en çok karşılaşılan mikotoksin problemlerinden biri mikotoksin grubunun en toksijenik metabolit olma özelliğini taşıyan aflatoksinlerdir. Kuru incir, aflatoksin üreticisi olan *A.flavus*-*A.parasiticus* küflerinin gelişimi için oldukça uygun olmakla beraber meyvenin yetiştirildiği bölgelerde olgunlaşma ve hasat dönemindeki sıcaklık da küf ve mikotoksin oluşumu için optimum değerlerdedir (Özay, 1989).

Buchanan ve arkadaşları (1975) kuru incire *A.flavus* ile aşılama yaparak kuru incirlerin aflatoksin üretimi için iyi bir substrat olup olmadığını araştırmışlardır. Çalışmaya göre, kuru meyvede nem yetersizliğinden dolayı fungal gelişim sona erinceye kadar fungal kolonizasyon ve aflatoksin oluşumu hızla gerçekleşmektedir (Buchanan ve ark., 1975).

Morton ve arkadaşları (1979) benzer şekilde kuru incirin aflatoksijenik potansiyelini araştırmak amacıyla 3 aflatoksijenik suşu kuru incir, kayısı, ananas ve kuru üzümle aşılamışlardır. TLC yöntemi ile yapılan çalışma sonunda kuru incirlerin toksin oluşturma potansiyelinin diğer meyvelere göre daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Morton ve ark., 1979).

Boyacıoğlu ve Gönül (1990) 1985-1986 sezonuna ait kuru incirlerin İsviçre'ye ihracatında aflatoksin sorunu yaşanması ve ürünlerin reddedilmesi üzerine 1986 yılında üretilen kuru incirlerde aflatoksin varlığını ve miktarını incelemişlerdir. Kurutma, depolama ve işleme olmak üzere 3 farklı aşamadan alınan toplam 284 kuru incir örneğinin %4'ünün aflatoksin B₁ ile, %2'sinin aflatoksin B₂ ile ve %2'sinin aflatoksin G₁ ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. TLC yönteminin kullanıldığı çalışmada pozitif çıkan örneklerdeki ortalama kontaminasyon seviyesi ise B₁ için 112.3, B₂ için 50.6, G₁ için 61.4 ng/g (ppb) olarak belirlenmiştir. Çalışmada toksin varlığına sadece kurutma aşamasından alınan düşük kalitedeki incir örneklerinde rastlandığı da belirtilmiştir. İsviçre'deki bir laboratuvar analizinin sonucuna göre 1986 yılına ait kuru incirlerin %17'si yüksek konsatrasyonlarda aflatoksin ile kontamine olmuştur (Boyacıoğlu ve Gönül, 1990).

Kuru incirde aflatoksin kontaminasyonu üzerine yapılan başka bir çalışma 1988 yılına ait ürünlerde gerçekleştirilmiştir. Aydın ve İzmir'de bulunan incir bahçelerinden ve işletmelerinden alınan toplam 103 adet incir örneği analiz edilmiş ve örneklerin %29'unun aflatoksinle kontamine olduğu belirlenmiştir. HPLC yöntemi ile aflatoksinlerin konsantrasyon aralıkları B₁ için 0.5-63.0 µg/kg (ppb), B₂ için 0.5-37.7 µg/kg (ppb), G₁ için 0.5-78.3 µg/kg (ppb) ve G₂ için 0.5-12.5 µg/kg (ppb) olarak kaydedilmiştir (Özay, 1989).

Özay ve Alperden (1991) tarafından yapılan çalışmada farklı aşamalarda analize alınan kuru incir örneklerinde aflatoksin kontaminasyon oranı araştırılmış ve elde edilen sonuçlar ağaçta %32 (3.7-60.0 ppb B₁ ve 3.2-37.7 ppb G₁), toprak üzerinden alınanlarda %21 (1.8-63.0 ppb B₁ ve 15.2-78.9 ppb G₁), kurutmada %17 (0.5-3.7 ppb B₁ ve 0.5-4.0 ppb G₁), depoda %33, işleme sırasında %25 ve ezmede %60 olarak kaydedilmiştir. Özay ve arkadaşları (1995) tarafından, incirlerde hasat ve kurutma işlemlerinin mikroflora ve miktoksin kontaminasyonuna etkisinin incelendiği çalışmada, kurutma aşamasındaki 32 örnekten birinde aflatoksine rastlanmıştır. Var ve arkadaşları da (2001), Adana, Eskişehir, Gaziantep ve Malatya olmak üzere çeşitli illerden aldıkları 40 adet örnekten yalnızca birinde aflatoksin B₁ varlığını tespit etmişlerdir. Çeşitli Türk gıdalarının analize alındığı, Arıcı (2001) tarafından yapılan çalışmada, 23 kuru incir örneğinin 5'inde aflatoksin B₁ ve G₁ bulunmuştur.

Erdoğan ve arkadaşları (2003) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise 17 adet kuru incir örneği aflatoksin varlığı ve miktarı açısından incelenmiştir. 2001 yılında

Erzurum piyasasından alınan örneklerin 5'inde (%29.4) aflatoksin varlığına rastlanmış ve pozitif numunelerin ortalama değeri 13.9 µg/kg (ppb) olarak belirlenmiştir. TLC yönteminin kullanıldığı çalışmada pozitif numunelerde tespit edilen en düşük değer ise 4.1 µg/kg (ppb) olarak kaydedilirken en yüksek değer Türk Gıda Kodeksi'nde yer alan sınır değerinin (10 ppb) oldukça üzerinde (33.9 µg/kg (ppb)) belirlenmiştir (Erdoğan ve ark., 2003).

İsviçre'de Türkiye'den ithal edilen kuru incir örneklerinde yapılan çalışmada, örneklerin %28'inde miktarı 0.1-0.3 µg/kg (ppb) arasında değişen aflatoksin B₁ bulunmuştur. Diğer bir çalışma ise Almanya'da gerçekleştirilmiş ve örneklerin %10'unda aflatoksine rastlanmıştır. Ortalama toksin miktarı ise 15.4 µg/kg (ppb) olarak tespit edilmiştir (Tunail, 2000). Brezilya'da satışa sunulan kuru incir örneklerindeki aflatoksin varlığının incelendiği araştırmada, 19 adet kuru incir örneğinin 11'inde, yani örneklerin %58'inde aflatoksin kontaminasyonu gözlemlenmiştir. Aflatoksin miktarı, HPLC yöntemi kullanılarak sadece bir örnekte 1500 µg/kg (ppb) olarak ölçülürken diğer örneklerdeki miktarı 0.3-2.0 µg/kg (ppb) arasında kaydedilmiştir (Iamanaka ve ark., 2006a).

Kuru incirlerde varlığına rastlanan diğer bir mikotoksin de okratoksindir. Iamanaka ve arkadaşları (2006b) tarafından araştırmada 19 adet incir örneği HPLC yöntemi ile analiz edilmiş ortalama okratoksin miktarı 4.10 µg/kg (ppb) olarak belirtilmiştir. Örneklerin 13'ünde okratoksin miktarı 0.13-5.0 µg/kg (ppb) arasında değişirken 4'ünde 5.1-20.0 µg/kg (ppb) arasında, 1'inde ise 20.0-30.0 µg/kg (ppb) arasında tespit edilmiştir (Iamanaka ve ark., 2006b).

Okratoksin A mikotoksinin potansiyel kontaminasyon riskinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise 1999-2001 yılları arasında alınan 238 adet kuru incir örneğinden 69'unda (%29) HPLC yöntemi ile bu mikotoksinin varlığı tespit edilmiştir. Pozitif çıkan örneklerin 60'ında toksin seviyesi 2 ile 50 ppb arasında değişirken 6'sında 50 ppb'nin üzerinde ve 3'ünde de 1000 ppb'nin üstünde kaydedilmiştir (Aksoy ve ark., 2003).

Yemen'de bazı kuru meyvelerdeki mikotoksinlerin kontaminasyonunun araştırıldığı bir çalışmada spektrofotometrik yöntem ile analiz edilen 20 kuru incir örneğinin 120-250 µg/kg (ppb) konsantrasyonlarında aflatoksin B₁ ile, 4 örneğin ise 70-160 µg/kg

(ppb) arasındaki konsantrasyonlarda okratoksin A ile kontamine olduğunu tespit edilmiştir (Alghalibi ve Shater, 2004).

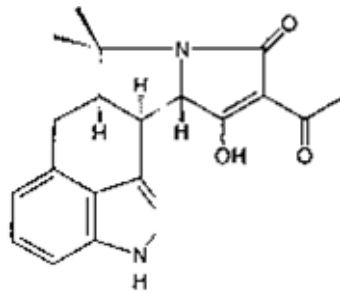
Şenyuva ve arkadaşları (2005), çalışmalarında Avrupa Birliği'ne ithal edilecek olan 2003-2004 yıllarına ait kuru incirler ile Türkiye piyasasından alınan kuru incirlerde okratoksin A ile aflatoksinin birlikte bulunma durumunu araştırmışlardır. Toplam 119 örneğin HPLC yöntemi kullanılarak analize tabi tutulduğu araştırmada, 2003 yılına ait 58 incir örneğinin 7'sinde sadece aflatoksin B₁, 2'sinde sadece okratoksin A ve 2'sinde de hem okratoksin A hem de aflatoksin B₁ varlığına rastlanmıştır. 2004 yılına ait örneklerde ise 41 örneğin 16'sında aflatoksin B₁, 4'ünde okratoksin A ve yine 2'sinde her iki toksinin varlığı tespit edilmiştir. Toksinlerin maksimum konsantrasyonları aflatoksin B₁ için 35.1 ng/g (ppb), okratoksin A için 26.3 ng/g (ppb) olarak belirlenmiştir. Türkiye piyasasından alınan 20 kuru incir örneğinde ise aflatoksin B₁ varlığına rastlanmamış olup sadece bir örnekte okratoksin A bulunmuştur (Şenyuva ve ark., 2005).

Karaca ve Nas (2006) tarafından yapılan araştırma, 3 farklı kategorideki kuru incirleri kapsamakta olup bu incirlerdeki aflatoksin ve patulin varlığının HPLC yöntemi ile belirlenmesi üzerinedir. İlk kategoride yüksek kalitedeki incirler, ikinci kategoride UV lambası altında yeşil-sarı floresans veren incirler, üçüncü kategoride endüstriyel işlemeye daha uygun, fiziksel zarara uğramış, kusurları olan incirler bulunmaktadır. Çalışma sonunda ilk kategorideki incirlerde bazı örneklerde miktoksin varlığına rastlanmazken bazılarında iz miktarlarda (belirlenen limit seviyelerinin oldukça altında) rastlanmıştır. İkinci kategorideki incirlerde yüksek konsantrasyonlarda aflatoksin (117.9-471.9 ppb) tespit edilmiştir. Bu kategorideki patulin miktarı ise elma için belirlenen limitin (50 ppb) altında bulunmuştur. Son kategorideki incirlerde ise konsantrasyonu 8.3 ppb'ye varan oranlarda aflatoksin ve yüksek miktarda (39.3-151.6 ppb) patulin varlığına rastlanmıştır (Karaca ve Nas, 2006).

4. SİKLOPIAZONİK ASİT

Siklopiazonik asit, toksik özellikte bir indol tetramik asittir. İlk defa 1968 yılında Holzapfel tarafından *Penicillium cyclopium* küfünden izole edilmiştir. Ardından diğer *Penicillium* (örn. *P. commune* ve *P. camembertii*) ve *Aspergillus* (örn. *A. flavus* ve *A. versicolor*) türlerinden de izole edildiği bildirilmiştir (Dorner, 2002; Anon., 2006b). Siklopiazonik asit (CPA), farklı gıda ürünlerine bulaşan farklı küfler tarafından üretilebilen bir mikotoksin olup, bu özeliğinden dolayı ayrı bir önem taşımaktadır (Anon., 2006b). Siklopiazonik asit üretici küflerinin her yerde bulunabilmesi ve genellikle gıda ve yem olarak kullanılan ürünlere yayılma eğilimi, bu ürünlerin CPA ile kontamine olma olasılığının çok fazla olduğuna işaret etmektedir (Dorner, 2002).

Siklopiazonik asit optik olarak aktif, renksiz, kristal yapıda bir bileşiktir. Moleküler ağırlığı 336,39 olup, erime noktası 245°C'dir. Siklopiazonik asitin kimyasal yapısına ait şekil Şekil 4.1'de verilmektedir. Higroskopik özellikteki toksin; kloroformda, diklorometanda, metanol ve asetonitrilde ve sodyum bikarbonatta çözünabilmektedir (Anon., 2006b). Floresans vermemektedir ve UV absorpsiyonu spesifik değildir (maksimum 284 nm) (Yu ve ark., 1998). Karboksilik gruptan yoksun olduğu için zayıf asitler grubuna dahil olmaktadır (Aresta ve ark., 2003). Monobazik asit grubuna dahil olan bu mikotoksinin literatürde pH ve pK_a değerleri yer almamakta ancak pK_a değerinin tenuazonik asitinki ile aynı olabileceği (≈3.5) varsayılmaktadır (Monaci ve ark., 2002; Anon., 2006f). Kuru halde 4°C'de depolandığında stabilitesini korumaktadır (Anon., 2006b).



Şekil 4.1: Siklopiazonik asitin kimyasal yapısı (Anon., 2006b).

Siklopiazonik asit sentezi, gıda güvenliğini tehdit eden potansiyel bir tehlike olarak karşımıza çıkmaktadır. Siklopiazonik asidin insan sağlığı açısından oluşturduğu riski minimize etmek amacıyla bu toksinin varlığının ve miktarının belirlenmesi için farklı metotlarla çalışmalar yapılmaktadır.

4.1. Siklopiazonik Asitin Toksisitesi

Siklopiazonik asit yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunda toksik özellik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, farelere karın bölgesinden enjekte edildiğinde nörotoksijenik özellik gösterebileceği kaydedilmiş ve erkek farelerde LD₅₀ değeri 2.3 mg/kg (ppm) olarak tespit edilmiştir. Toksinin oral yolla verilmesi ile yapılan çalışmalarda ise herhangi bir kasılma görülmemiş ve bu yolla alınması halinde LD₅₀ değeri erkek fareler için 36 mg/kg (ppm), dişi fareler için 63 mg/kg (ppm) olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada karaciğerde, böbrekte, dalakta ve diğer organlarda lezyonların olduğu gözlenmiştir. Kaydedilen değişiklikler arasında kilo kaybı, ishal, su kaybı, depresyon, hypokinesis, kasılma ve ölüm de yer almaktadır. Bu etkilerin bazılarının toksinin girişimde bulunarak Ca²⁺ iyonlarının serbest kalmasından kaynaklandığı rapor edilmiştir. Bu yüzden kalsiyum dengesini sağlamaya yönelik olarak ilaç kullananlar için daha büyük bir risk oluşturduğu belirtilmektedir (Anon., 2006b).

Siklopiazonik asitin toksisitesiyle ilgili olarak yapılan bir diğer çalışma da mikotoksinle farklı konsantrasyonlarda (10, 50 ve 100 ppm) kontamine yemlerle beslenen tavuklar üzerinde yapılmıştır. Yemlerinde en yüksek dozda toksin bulunan gruptaki tavuklarda, diğer doz gruplarına göre daha yüksek ölüm oranına, daha fazla kilo kaybına rastlanmıştır. Ölüm sonrası yapılan incelemelerde de tavukların çeşitli organlarında lezyonların olduğu belirlenmiştir (Dorner ve ark.,1983). Ancak CPA ile birlikte oluşabilen diğer mikotoksinlerin görülen toksisiteye neden olmuş olabileceği ya da görülen toksisiteyi kamufle etmiş olabileceği de öne sürülmektedir (Anon., 2006b). Tavuklarda LD₅₀ değeri ise 12 mg/kg (ppm) olarak tespit edilmiştir (Wilson ve ark., 1986).

Siklopiazonik asit intoksikasyonunda elde edilen klinik bulgular; kilo kaybı, halsizlik, iştahsızlık, kusma, ishal, su kaybı, depresyon, opistotonus, kasılmalar ve ölüm olarak kaydedilmiştir. Siklopiazonik asidin, 1960 yılında ortaya çıkan ve 100.000 kümes hayvanının ölümüyle sonuçlanan “Turkey X” hastalığından,

aflatoksinle birlikte sorumlu olduğu sanılmaktadır. Siklopiazonik asidin nörolojik etkileri, bu vakada gözlemlenenlerle benzerlik taşımaktadır. Bu iddiayı destekleyen bir diğer bulgu da, hastalığın nedeni olarak belirlenen aflatoksinle kontamine yerfistığında siklopiazonik asidin varlığının (31 µg/kg (ppb)) da tespit edilmesidir (Dorner, 2002; Norred ve ark., 1988).

Siklopiazonik asit ile ilgili olan diğer bir vaka da “kodua zehirlenmesi” olarak bilinen ve kusma, baş dönmesi semptomlarıyla beliren olaydır. CPA üreticisi olan *A. flavus* ve *A. tamarii* ile yoğun bir şekilde kontamine olan darı tüketilmesi sonucu Hindistan’da ortaya çıkmıştır (Anon., 2006b; Dorner, 2002; Hayashi ve Yoshizawa, 2005).

Hayvanlar üzerine yapılan araştırmalar baz alınarak siklopiazonik asitin, insanlar üzerinde teratojenik etkilere sebep olabileceği, böbrek, dalak, kardiyovasküler sistem ve merkezi sinir sisteminde hasar oluşturabileceği kaydedilmiştir. Yine hayvansal denemeler üzerinde yapılan çalışmalara dayanarak insan üzerindeki kronik etkilerinin olabileceği, üreme sisteminde olumsuz etkilere ve doğum kusurlarına yol açabileceği, genetik materyali de etkileyebileceği belirtilmiştir (Anon., 2006f).

4.2. Siklopiazonik Asit ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Bu tarihe kadar siklopiazonik asite dair herhangi bir yasal standart belirlenmemiştir. Bunun nedeni olarak toksinin gıdalarda çok düşük olarak bulunduğundan yola çıkılarak insanların toksine maruz kalma durumunun sınırlı olduğu gösterilmektedir. Siklopiazonik asitin bazı ürünlerde aflatoksinle birlikte bulunmasından dolayı aflatoksin için belirlenen yasal standartlarla dolaylı olarak önlenebilecek olması da olası diğer bir neden olarak gösterilmektedir (Anon., 2006b).

Siklopiazonik asit için kabul edilebilir günlük alım miktarının yaklaşık olarak belirlenmesi amacıyla bir girişimde bulunulduğu da raporlanan bilgiler arasındadır. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar ışığında hiçbir etkinin görülmediği seviye (1 mg/kg/gün) baz alınarak belirlenen bu miktar 10 µg/kg/gün veya 700 µg/gün olarak kaydedilmiştir (Anon., 2006b).

4.3. Siklopiazonik Asit Üreten Küfler ve İzole Edildiği Gıdalar

Siklopiazonik asitin orjinal izolatu olan *P.cyclopium* (Holzapfel, 1968) daha sonraları *P.griseofulvum* (de Jesus ve ark., 1981) ve *P. verrucosum* alttür *cyclopium* (Malik ve ark., 1986) olarak tanımlanmıştır (Dorner ve ark., 2000; Dorner, 2002). Siklopiazonik asiti üreten ve beyaz peynir yapımında kullanılan küfler de *Penicillium camembertii* olarak sınıflandırılmıştır (Pitt ve ark., 1986). Bu toksini üreten *Penicillium* cinsine ait başka küflerin de olduğu rapor edilmiştir. Ancak bu küflerin tanımlanmasıyla ilgili bazı farklılıklar bulunmaktadır. *P.patulum* ve *P.urticae* olarak da isimlendirilen *P.griseofulvum* (Pitt ve Hocking, 1997) ile *P.commune* CPA üreticisidir (Pitt ve Hocking, 1997; Samson ve ark., 2002). Pitt ve ark. (1986) tarafından aynı olarak belirtilen *P. commune* ve *P. palitans* küflerinin aslında ayrı türler olduğu Lund (1995) tarafından ortaya konmuştur. *P.palitans* küfü bazı kaynaklarda CPA üreticisi küfler arasında sayılırken (Samson ve ark., 2002), diğer bazı kaynaklarda, bu küfün CPA üreticisi olmayan *P.puberulum* ve *P.aurantiogriseum* ile aynı olduğu yazılmaktadır (Pitt ve Hocking, 1997). CPA üreticisi olarak ismi geçen *P. patulum*, *P. puberulum*, *P. viridicatum*, *P. crustosum* küfleri (Dorner, 2002; Calvo, 2005) ise CPA üretici küfleriyle olan benzerliklerinden dolayı karıştırılmakta, CPA üreticisi olarak bazı kaynaklarda yer almaktadır. Siklopiazonik asit üreten *Aspergillus* cinsi küflerin başında *Aspergillus flavus* (Luk ve ark., 1977) gelmekte olup *A. versicolor* (Ohmomo ve ark., 1973), *A. oryzae* (Orth, 1977), ve *A. tamarii* (Dorner, 1983) küflerinin de üretici olduğu bildirilmiştir (Calvo, 2005; Dorner, 2002). Aflatoksinlerin başlıca üreticilerinden olan *A. flavus*' un siklopiazonik asit de üretebilme özelliğinden dolayı bu iki mikotoksin birlikte bulunabilmektedir (Anon., 2006e). *A.flavus* küflerinde siklopiazonik asit üretiminin genellikle aflatoksin üretimiyle birlikte oluşmasından yola çıkılarak yapılan çalışmalarda, aflatoksin mutantlarının siklopiazonik asit sentezinin, aflatoksin sentez kapasitesinden bağımsız olduğu görülmüştür (Calvo, 2005). Siklopiazonik asit üreten küfler ve izole edildiği gıdalar Tablo 4.1'de verilmektedir (Samson ve ark, 2004).

Çeşitli gıdalardan izole edilen küflerin siklopiazonik asit üretebilme potansiyelini araştırmaya yönelik olarak yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Trucksess ve ark. (1987) tarafından yapılan çalışmada, çeşitli kuru gıdalardan [mısır, makarna ve Brezilya cevizi (pecans)] izole edilen 95 adet *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsi küfün siklopiazonik asit üretebilme özelliği incelenmiş ve *Penicillium* cinsinden *P.urticae*

türüne ait 13 izolatın tümünün toksin oluşturabildiği kaydedilmiştir. *Aspergillus* cinsine ait küflerden *A.flavus*'un 31 izolatından 19 izolatının ve *A.tamarii* küfünün de bir izolatının CPA üretebildiği belirtilmiştir (Trucksess ve ark., 1987).

Tablo 4.1: Siklopiazonik asit üreten küfler ve izole edildiği gıdalar (Samson ve ark, 2004).

Küf	İzole edildiği gıdalar
<i>P.griseofulvum</i>	Tahıllar başta olmak üzere çeşitli gıdalar
<i>P.commune</i>	Sert ve yumuşak peynirler, et ürünleri
<i>P.camemberti</i>	Yumuşak peynirler
<i>P.palitans</i>	Sert peynirler ve bazen et ürünleri
<i>A.flavus</i>	Yerfıstığı, baharat, tahıl, yağlı tohumlar, kuru meyve
<i>A.versicolor</i>	Peynir, tahıllar, baharatlar, kuru et ürünleri, yerfıstığı
<i>A.tamarii</i>	Topikal ürünler, mısır, v.b
<i>A.oryzae</i>	Fermente gıda ürünleri

Arjantin'de farklı substratlardan izole edilen *Aspergillus* cinsi küflerin aflatoksin ve CPA üretiminin incelendiği çalışmada, CPA üreticisi *A.flavus* izolatı sayısının oldukça fazla olduğu gözlemlenmiştir. Yer fıstığı izolatlarının %94'ünün, buğdaydan elde edilenlerin %93'ünün ve soya fasulyesinden izole edilenlerin de %73'ünün de CPA üreticisi olduğu belirlenmiştir. Çalışmada AFB üretilen CPA üretmeyen izolat sayısının oldukça az olduğu da belirtilmiştir (Vaamonde ve ark., 2003).

Bamba ve Sumbali (2005), misket limonu (sour lime) olarak adlandırılan meyve üzerinde *A.flavus* küflerinin CPA üretimi ile ilgili bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu meyvelerden izole edilen *A.flavus* küflerinin %60'ının aflatoksijenik olduğunu, bu aflatoksijenik küflerin %33'ünün aynı zamanda CPA üretebildiğini (250-2501.3 µg/kg (ppb)) tespit etmişlerdir. Çalışma, siklopiazonik asitin taze meyvelerde de bulunabileceğini ortaya koymuştur (Bamba ve Sumbali, 2005).

Siklopiazonik asit üretimi üzerine yapılan bir başka çalışma ise et ürününde gerçekleştirilmiştir. Fransa'da satılan kuru tütsülenmiş et ürünlerinden izole edilen ve CPA üretebilme özeliğine sahip suşların da içinde bulunduğu farklı küfler yine kuru, tütsülenmiş jambonlara inoküle edilmiştir. 20°C'de 16 günlük inkübasyon sonrasında yaklaşık 50 mg/kg (50 ppm) CPA oluştuğu tespit edilmiştir. Toksinlerin stabilitelerinin de incelendiği çalışmada siklopiazonik asitin diğer bazı miktoksine (patulin, sitrinin, okratoksin A) göre daha stabil olduğu gözlemlenmiştir (Bailly ve ark., 2005).

4.4. Siklopiazonik Asitin Gıdalarda Doğal Olarak Bulunması

Siklopiazonik asit, üretici küflerinin çeşitli gıdalara bulaşabilme özelliğinden dolayı farklı gıdalarda üretilebilme potansiyeline sahip bir mikotoksindir.

Siklopiazonik asitin varlığının yaygın olarak incelendiği ürünlerin başında yer fıstığı ve mısır gelmektedir. Lansden ve Davidson (1983), Amerika Birleşik Devletleri'nin güneydoğusunda yetiştirilen yerfıstıklarında TLC yöntemiyle CPA varlığını incelemiş ve kabuğu ayrılmış tanelerin 27'sinin 21'inde miktarı 32 ile 6,525 µg/kg (ppb) arasında, olgun tanelerin 21'inin 4'ünde ise miktarı 32 ile 130 µg/kg (ppb) arasında değişen toksin varlığına rastlamışlardır. Kabuğu ayrılmış tanelerde CPA toksininin bulunma oranı ve konsantrasyonunun da olgun tanelere göre oldukça düşük olduğunu belirtmişlerdir (Lansden ve Davidson, 1983).

Urano ve ark. (1992a), HPLC yöntemini kullanarak Georgia'da yetiştirilen 50 yer fıstığı örneğinden % 90'ının siklopiazonik asit ile kontamine olduğunu ve miktarının 50 ile 2900 ng/g (ppb) arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, 45 adet mısır örneğinin de %51'inde siklopiazonik asit varlığına rastlanmış ve miktarı da 25 ile 2800 ng/g (ppb) arasında belirlenmiştir (Urano ve ark., 1992a).

Mısırlar üzerine Lee ve Hagler (1991) tarafından yapılan çalışmada kontamine olmuş mısırlarda TLC yöntemiyle bazı mikotoksinlerin varlıkları incelenmiştir. Siklopiazonik asit, analize alınan 7 parti numuneden 4'ünde, konsantrasyonu 25-250 ng/g (ppb) olmak üzere tespit edilmiştir. Kontamine mısırlardan izole edilen *Aspergillus flavus* küflerinin aflatoksin ve siklopiazonik asit üretiminin de araştırıldığı çalışmada, 19 izolattan 14'ünün siklopiazonik asit (0.5-135 µg/mL (ppm)) üretebildiği belirlenmiştir (Lee ve Hagler, 1991).

Le Bars (1979), siklopiazonik asidin ticari peynirlerden izole edilen *P. camemberti* küfü tarafından üretilip üretilmediğini ve bu toksinin bu ürünlerde olası var olma durumunu incelemek amacıyla TLC yöntemini kullanarak bir çalışma yürütmüş, çalışma sonucunda Fransa'da yerel marketten alınan 20 peynir örneğinin 11'inde CPA varlığına rastlamıştır. Peynirlerin dış kısmında tespit edilen toksin konsantrasyonu 0.05 ile 1.5 µg/g (50-1500 ppb) arasında belirlenmiştir. Aynı çalışmada peynirlerden izole edilen ve besiyerlerinde farklı koşullar altında inkübe edilen tüm suşların CPA ürettiği, miktarının ise ortama, sıcaklığa ve inkübasyon süresine bağlı olarak değiştiği belirtilmiştir (Le Bars, 1979).

Norred ve ark. (1988) siklopiazonik asitin, kontamine yemle beslenmiş tavukların etlerindeki varlığını araştırmışlardır. Araştırmada tavuklara farklı konsantrasyonlarda toksin verilmiştir ve toksin verilmesinin ardından farklı zamanlarda öldürülmüşlerdir. Her doz grubundaki tavukların etlerinde toksinin varlığına rastlanmış, toksin miktarının da verilen doza ve aradan geçen süreye bağlılık gösterdiği kaydedilmiştir. HPLC yöntemi kullanılarak tespit edilen en yüksek toksin miktarı ise, 10 mg/kg (ppm) toksin verilen tavuklarda 5000 ppb nin üstünde olarak belirtilmiştir (Norred, 1988).

Dorner ve ark. (1994)'nın yaptıkları çalışmada ise siklopiazonik asitle kontamine gıda ve yemlerin hayvanlar tarafından tüketilmesi sonucu bu mikotoksinin kalıntılarının yumurtaya ve süte geçmesi olasılığının incelenmesi amaçlanmıştır. TLC yönteminin kullanıldığı çalışmada koyunlara, ağırlıkları baz alınarak 5 mg/kg (ppm) dozunda oral olarak toksin verilmiş ve ilk dozdan 24 saat sonra sütte ortalama 236 ng/g (ppb) konsantrasyonunda siklopiazonik asit tespit edilmiştir. Sütte tespit edilen maksimum toksin miktarı ise 568 ng/g (ppb) olarak belirlenmiştir. İlk dozdan 9 gün sonra da sütte hiçbir toksin varlığına rastlanmadığı rapor edilmiştir. Aynı çalışmada tavuklara akut ve kronik olarak farklı konsantrasyonlarda toksin verilmiş, sonucunda da tavukların yumurtalarında toksin bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca toksinin, yumurtanın beyazında (≈ 100 ng/g (ppb)) sarısında (≈ 10 ng/g (ppb)) olduğundan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu belirtilmiştir (Dorner ve ark., 1994).

Da Motta ve Valente Soares (2001) Brezilya'da üretilen ve satılan domates ürünlerinde HPLC yöntemi ile bazı mikotoksinlerin varlığını incelemiş ve siklopiazonik asit varlığını tespit etmişlerdir. Analize alınan 22 domates ezmesinden 6'sında ve 22 püreden 2'sinde varlığı belirlenen siklopiazonik asit miktarının da 36 ile 178 ng/g (ppb) arasında değiştiğini kaydetmişlerdir. Çalışmada ürünlerden üçünde de tenuazonik asit ile siklopiazonik asitin beraber bulunduğu rapor edilmiştir (Da Motta ve Valente Soares, 2001).

Zambonin ve ark. (2001) siklopiazonik asitin varlığını peynirde incelemek amacıyla Güney İtalya'daki farklı marketlerden aldıkları beyaz peynir örneklerini HPLC yöntemi ile analiz etmişlerdir. Çalışma sonunda alınan 6 örnekten hepsinin 20 ile 80 ppb arasında değişen farklı konsantrasyonlarda siklopiazonik asit ile kontamine olduğu raporlanmıştır (Zambonin ve ark., 2001).

Pinto ve ark. (2001)'nın Arjantin'de yetiştirilen yer fıstıkları üzerinde yaptıkları çalışmada aflatoksinle siklopiazonik asitin birlikte bulunması araştırılmıştır. Córdoba eyaletine bağlı arazilerde yetiştirilen yer fıstıklarından 50 örnek TLC metodu ile analize tabi tutulmuş ve iki örnekte hem aflatoksin hem de CPA varlığı tespit edilmiştir. Aflatoksin konsantrasyonları B₁ için 625 ve 435 µg/kg (ppb); G₁ için 625 ve 83 µg/kg (ppb) olarak belirlenmiştir. CPA konsantrasyonları ise 4300 ve 493 µg/kg (ppb) olarak kaydedilmiştir (Pinto ve ark., 2001).

Aresta ve ark. (2003) tarafından mısır gevrekleri üzerinde birden fazla mikotoksin varlığının aynı analizle belirlenmesi amacıyla yönelik olarak yapılan çalışmada siklopiazonik asit ile tenuazonik asitin birlikte bulunduğu kaydedilmiş ve HPLC yöntemi ile siklopiazonik asit konsantrasyonu 72 ± 9 ng/g (ppb) olarak kaydedilmiştir (Aresta ve ark., 2003).

Hayashi ve Yoshizawa (2005)'nin mısır ve pirinç örneklerinde siklopiazonik asit varlığını ve miktarını belirlemek için HPLC metodu kullanarak yaptıkları çalışmada Filipinlerden alınan 6 mısır numunesinin birinde siklopiazonik asit tespit edilmiş ve miktarı da 76 ng/g (ppb) olarak tayin edilmiştir. Tayland'dan alınan pirinç örneklerinin hiçbirinde ise siklopiazonik asite rastlanmamıştır (Hayashi ve Yoshizawa, 2005).

Oliveira ve ark. (2006) tarafından Brezilya'da ticari olarak satışa sunulan 48 adet süt örneğinde aflatoksin M₁ ve siklopiazonik asit varlığını ve miktarını belirlemek amacıyla HPLC yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada 2 örnekte 6.4 ve 9.7 µg/l (ppb) seviyesinde siklopiazonik asit bulunmuştur (Oliveira ve ark., 2006).

Siklopiazonik asitin ürünlerin işlenme ve depolanma süresince stabilitesi üzerine de yapılan araştırmalar bulunmaktadır. Prasongsidh ve ark. (1997), sütteki siklopiazonik asitin stabilitesini incelemişler ve çiğ sütün 4°C'de 21 gün depolanmasının, toksin oranını %5.8 oranında azalttığını kaydetmişlerdir. -18°C'de depolanan dondurulmuş ve dondurularak kurutulmuş sütlerde ise 140 günlük depolama süresi sonunda toksin miktarında %12'den daha düşük bir azalma tespit edilmiştir. Konsantre şekersiz süt üretiminde, kontamine sütün 100°C'de ön ısıtmaya tabi tutulması ve buhar enjeksiyonu ile konsantre edilmesi sonucunda ise %39.7 oranında toksinde azalma kaydedilmiştir. Buna karşın, düşük sıcaklıkta (60°C) vakum altında evapore süt üretiminde çok düşük miktarda azalma tespit edilmiştir (Prasongsidh ve ark., 1997).

Siklopiazonik asidin yoğurt üretimi ve depolanması süresince stabilitesi üzerine yapılan çalışmada ise (4°C; 30 gün; kons: 1 mg/L) CPA konsantrasyonunun %70 (pH 4) ve %64 (pH 2) oranında azaldığı belirtilmiştir. CPA ile inoküle edilen yoğurtta ilk günden itibaren toksin miktarında %70'ten fazla azalma kaydedilmiştir. 21 gün sonrasında ise hala %12 oranından fazla mikotoksin tespit edilebildiği belirtilmiştir. Toksin miktarında benzer bir azalma, kimyasal olarak asitlendirilmiş sütlerde de gözlenmiş ancak düşüşün yoğurttaki kadar olmadığı bildirilmiştir (Prasongsidh ve ark., 1998a).

4.5. Siklopiazonik Asit Analizi için Uygulanan Yöntemler

Siklopiazonik asit varlığının ve miktarının tespiti için bilimsel gelişmelere bağlı olarak farklı analitik metotlar kullanılmaktadır. İnce kolon kromatografisi bu mikotoksin analizi için kullanılan en yaygın metottur. Silika jel plakaların kullanıldığı bu metotta siklopiazonik asit, Erlich's reaktifiyle spreylenece sonrasında mavi-mor renk vermektedir. Reaktif olarak ferrik klorit kullanıldığında ise kırmızı-kahverengi renk gözlemlenmektedir (Dorner, 2002). Çözgen sistemi olarak kloroform-metil-isobutylketen (4:1, v/v) veya toluen-etil asetat-formik asit (5:4:1, v/v/v) kullanılabilir (Dorner, 2002). Plakalar, aşırı kuyruklanmayı önlemek için okzalik asitle ön muameleye tabi tutulmaktadır (Dorner ve ark., 2000). Okzalik asit kullanımı yerine, aynı amaçla çözgen sistemleri amonyak veya asetik asit kullanılarak modifiye edilebilmektedir (Dorner, 2002).

İnce tabaka kromatografisi, peynirde (Le Bars, 1979), mısırdaki (Lee ve Hagler, 1991), yerfıstığında (Lansden ve Davidson, 1983; Pinto ve ark., 2001), süt ve yumurtada (Dorner ve ark., 1994) CPA analizi için uygulanmıştır. Bu yöntemin tespit limiti, öncesinde uygulanan ekstraksiyon yöntemlerine bağlılık göstermekte olup, 5 ile 125 ppb arasında değişiklik göstermektedir (Dorner, 2002).

Siklopiazonik asit analizi için kullanılan diğer bir metot da yüksek performanslı sıvı kromatografisidir (HPLC). Bu metotla yapılan çalışmalarda farklı clean-up prosedürleri ve farklı kromatografik koşullar kullanılmıştır. Fungal kültürlerde ve çeşitli gıdalarda siklopiazonik asit varlığının ve miktarının belirlenmesine yönelik olarak yapılan çalışmalar, kromatografik koşulları, geri kazanım oranları, tespit ve ölçme limitleri ile birlikte Tablo 4.2'de verilmektedir.

Siklopiazonik asit analizi için kullanılan diğer metotlar spektrofotometrik yöntemler, kapiler elektroporez ve immunokimyasal yöntemlerdir.

Spektrofotometrik yöntemler, siklopiazonik asitin Erlich's reaktifiyle oluşturduğu reaksiyon temel alınarak geliştirilmiştir. Toksin ile Erlich's reaktifinin girişimde bulunarak oluşturduğu rengin kolorimetre veya spektrofotometre ile ölçülmesi sonucunda analiz gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemlerde ekstraktı saflaştırmak için TLC kullanılabildiği gibi farklı metotlar da uygulanmıştır. Çeşitli varyasyonların ve iyileştirmelerin yapıldığı spektrofotometrik yöntemi, kümes yem ve mısırları üzerinde kullanan Chang-Yen ve Bidasse (1990), ortalama %93.8 oranında geri kazanım elde etmiştir. Yöntemin tespit limiti ise 80 ng/g (ppb) olarak kaydedilmiştir (Chang-Yen-Bidasse, 1990).

Siklopiazonik asit analizi için alternatif bir metot olan kapiler elektroforez metodu, Prasongsidh ve ark. (1998b) sütte CPA analizinde uygulanmıştır. Tespit limiti 20 ppb olarak kaydedilmiştir. Geri kazanım oranı ise %78-81 olarak hesaplanmıştır (Prasongsidh ve ark.,1998b).

Siklopiazonik asit analizlerinde kullanılmak üzere geliştirilen immunokimyasal yöntemler bulunmaktadır. Clean-up amacıyla immunoaffinite kolonlarının kullanılması ve tespit için ELISA prosedürlerinin kullanılması bu yöntemlerdendir. Bu yöntemlerin kullanılmasıyla daha hassas sonuçlar elde edilebilmektedir. Yu ve Chu (1998) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, mısır, yer fıstığı ve karışık yemde CPA analizi için ELISA yöntemi kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, tespit limitleri mısır için 100 ng/g (ppb), karışık yem için 300 ng/g (ppb), yer fıstığı için 600 ng/g (ppb) olarak belirlenmiştir. 200-5000 ppb aralığında CPA ilavesi sonucunda kaydedilen geri kazanım oranları ise mısır için %97.6, karışık yem için %92 ve yer fıstığı için ise %93'tür (Yu ve Chu, 1998).

Tarımsal ürünlerin analizinde ELISA yönteminin, örnekte meydana gelebilen girişimlerden dolayı hassasiyetini kaybettiği belirtilmektedir (Dorner ve ark., 2000). Yu ve arkadaşları (1998) tarafından yapılan çalışmada ELISA uygulamasından önce immunoaffinite kolonları clean-up amacıyla kullanılmıştır. Çalışma sonucunda metodun hassasiyetinin yüksek oranda arttığı gözlemlenmiştir. Tespit limitleri mısır için 2.0 ng/g (ppb), karışık yem için 4.4. ng/g (ppb) ve yer fıstığı için 4.7 ng/g (ppb) olarak belirlenmiştir. 10-200 ng/g (ppb) aralığında CPA ilavesi sonucunda elde

edilen geri kazanım oranları mısır için %88-105, yer fıstığı için %86-100 ve karışık yem için %90-110 olarak rapor edilmiştir (Yu ve ark., 1998).

İmmunoaffinite kolonları HPLC yöntemlerinde clean-up prosedürlerinde de kullanılabilmektedir. Dorner ve ark. (2000) tarafından yer fıstıkları üzerine yapılan çalışmada, immunoafinite kolonları ve HPLC metodu kullanılmış, tespit limiti 2.5 ng/g (ppb) olarak kaydedilmiştir. Geri kazanım oranının ise %83.7 ile %90.8 arasında olduğu belirtilmiştir (Dorner ve ark., 2000).

Tablo 4.2. CPA analizi için HPLC yöntemleri

Substrat	Kromotografik koşullar	Geri kazanım oranı	Tespit & ölçme limiti	Referans
Yer fıstığı	Ters faz C ₈ veya C ₁₈ Mobil faz: asetonitril (%40), 2-propanol (%30) ve %1.0 amonyum asetat içeren su (%20), %0.025 4-dodecyldiethlenetriamine ve 0.001 M çinko asetat UV detektör	%85.9 (69 ng/g) %72.9 (210 ng/g) %81.4 (955 ng/g)	T.L: 4 ng/g	Lansden, 1984
Kümes hayvanı eti	Minikolon kromatografi Ters faz Mobil faz: asetonitril (%40), 2-propanol (%30) ve %1.0 amonyum asetat içeren su (%20), %0.025 4-dodecyldiethlenetriamine ve 0.001 M çinko asetat UV detektör	%67.2 - 89.3 (16-15,600 ng/g)	Ö.L: 16 ng/g	Norred ve ark., 1987
Fungal kültür	Normal faz Silika jel Mobil faz: etil asetat-2-propanol-%25 sulu amonya (55:20:5, v/v/v) UV detektör	-	0.2 ng/g	Goto ve ark., 1987
Mısır ve yer fıstığı	Ters faz C ₁₈ Mobil faz: A: metanol-su (85:15, v/v) B: metanol-4mM ZnSO ₄ .7H ₂ O (85:15, v/v) Lineer gradient (A→B) Akış hızı: 1 mL/min UV detektör	Mısır: %72 (50 ng/g) %77 (100 ng/g) %82 (200 ng/g) %84 (500 ng/g) Yer fıstığı: %74 (100 ng/g) %76 (200 ng/g) %80 (500 ng/g)	Ö.L: 50 ng/g (mısır) Ö.L: 100 ng/g (yer fıstığı)	Urano ve ark., 1992
Fungal kültür	Ters faz C ₁₈ kolon Mobil faz: 50mM H ₃ PO ₄ +1mM ZnSO ₄ -asetonitril (45:55, v/v) UV detektör	-	T.L: 0.3 ng/g	Matsuda ve Sasaki, 1995
Fungal kültür	Normal faz LC-silika jel Mobil faz: n-heptan – 2-propanol – n-butanol – su – tetrabutylamonyumhidroksit (2560+900+320+32+8, v/v) Akış hızı: 1,5 mL/min	%98.90 (10 µg/mL) %98.89 (100 µg/mL)	T.L: 0,25 µg/mL	Sobolev ve ark., 1998

Tablo 4.2. CPA analizi için HPLC yöntemleri (Devamı)

Substrat	Kromatografik koşullar	Geri kazanım oranı	Tespit & ölçme limiti	Referans
Peynir	SPME Normal faz LC-NH ₂ Mobil faz: asetonitril-amonyum asetat tampon (80:20, v/v) Akış hızı: 0.2 mL/min PDA detektör	%82 (0.1 ng/mg) %86 (1 ng/mg)	T.L: 7 ng/g	Zambonin ve ark., 2001
Domates ürünleri	Ters faz ODS-2 Mobil faz: 300 mg/L ZnSO ₄ .H ₂ O içeren metanol-su (90:10, v/v) Akış hızı: 0.8 mL/min DA detektör	%78 (84.7-80.0 ng/g)	T.L: 11.0 ng/g	da Motta ve Valente Soares, 2001
Fungal kültür	Normal faz LC-NH ₂ Mobil faz: asetonitril-amonyum asetat tampon (80:20, v/v) Akış hızı: 1 mL/min DA detektör	-	T.L: 1,25 ng/g	Monaci ve ark., 2002
Mısır gevreği	SPME Normal faz LC-NH ₂ Mobil faz: asetonitril-metanol-amonyum asetat tampon (78:2:20, v/v) Akış hızı: 1 mL/min UV/PDA detektör	%94±7 (200 ng/g)	Ö.L: 7 ng/mL	Aresta ve ark., 2003
Mısır ve pirinç	Ters faz ODS-80 Mobil faz: A: metanol-su (85:15, v/v) B: metanol-4mM çinko sülfat (85:15, v/v) Lineer gradient (A→B) Akış hızı: 1,2 mL/min UV ve PDA detektör	Mısır: %64.7 (25 ng/g) %68.5 (50 ng/g) %74.6 (100 ng/g) %75.4 (200 ng/g) Pirinç: %51.4 (25 ng/g) %70.4 (50 ng/g) %82.1 (100 ng/g)	Ö.L: 25 ng/g	Hayashi ve Yoshizawa, 2005

5. MATERYAL ve METOT

5.1. Materyal

5.1.1. Kuru incir örnekleri

Analiz edilecek kuru incir örnekleri, 2003-2004 yıllarında Ege Bölgesi'nden, Germencik, Erbeyli, İncirliova, Söke, Selçuk, Ortaklar, Torbalı olmak üzere 7 farklı yöreden temin edilmiştir. Örnekler, örnekleme planına göre alınmıştır.

Toplam 48 adet kuru incir örneğinin ait olduğu yöreler Tablo 5.1'de verilmiştir.

Tablo 5.1: Kuru incir örneklerinin temin edildiği bölgeler

Sıra No	Örnek No	Bölge	Sıra No	Örnek No	Bölge	Sıra No	Örnek No	Bölge
1	1-03*	Germencik	17	11-03	Erbeyli	33	33-04	Ortaklar
2	3-03	"	18	16-03	"	34	42-04	"
3	4-03	"	19	19-03	"	35	43-04	"
4	6-03	"	20	64-03	"	36	44-04	"
5	12-03	"	21	9-03	İncirliova	37	21-03	Söke
6	26-03	"	22	10-03	"	38	61-03	"
7	56-03	"	23	14-03	"	39	19-04	"
8	59-03	"	24	20-03	"	40	22-03	Selçuk
9	62-03	"	25	29-03	İncirliova	41	35-03	"
10	65-03	"	26	54-03	"	42	51-03	"
11	2-04**	"	27	68-03	"	43	69-03	"
12	3-04	"	28	20-04	"	44	12-04	"
13	9-04	"	29	40-04	"	45	42-03	Torbalı
14	11-04	"	30	41-04	"	46	70-03	"
15	30-04	"	31	36-03	Ortaklar	47	71-03	"
16	8-03	Erbeyli	32	52-03	"	48	4-04	"

*-03: 2003 yılı örnekleri

** -04: 2004 yılı örnekleri

Kuru incir örnekleri kıyma makinası yardımıyla öğütülmüş, ardından 250 gr'ına 4/5 (su/meyve) oranında su ilavesi yapılmıştır. Karışım, homojenize edilmek amacıyla

stomacher cihazında 5 dak. çalkalamaya maruz bırakılmıştır. Homojen kuru incir-su karışımları analize alınıncaya kadar -20°C’de depolanmıştır.

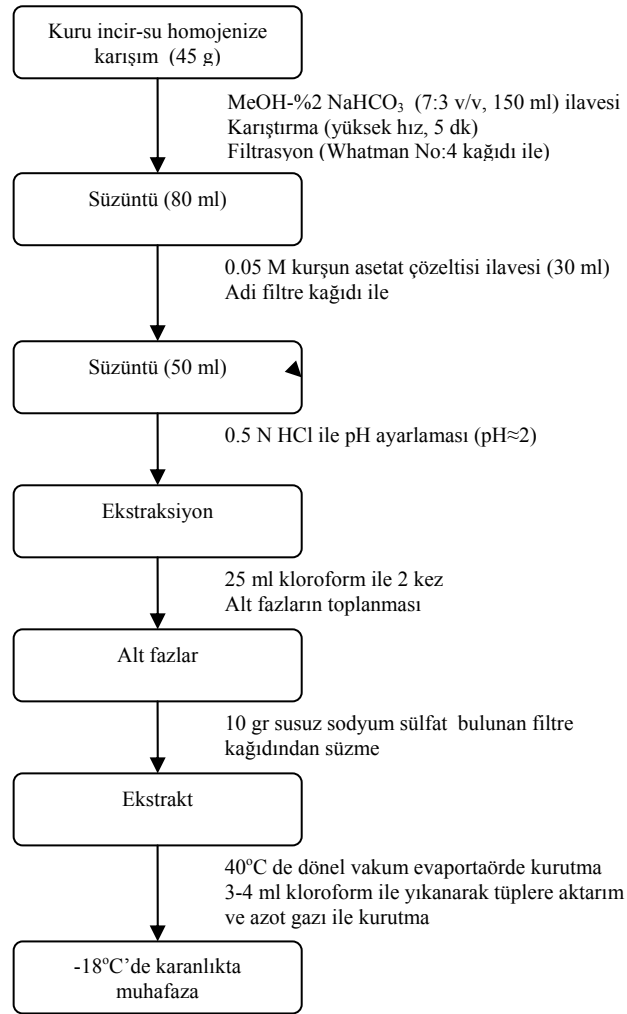
5.1.2. Standart mikotoksin çözeltisinin hazırlanması

Standart mikotoksin stok çözeltisinin hazırlanması için spektrofotometre kalibre edilmiştir. Kalibrasyon için 0.018 N sülfürik asit içerisinde 0,25 mM, 0,125 mM, ve 0,0625 mM potasyum dikromat çözeltileri hazırlanmıştır. Spektrofotometrede kör numune olarak 0.018 N H₂SO₄ çözeltisi kullanılarak her konsantrasyondaki çözeltinin 279 nm’de (Trucksess ve Pohland, 2000) absorpsiyonu (A) ölçülmüş ve molar absorptivitesi ($\epsilon = (A \times 1000) / \text{konsantrasyon}(mM)$) hesaplanmıştır. Ölçüm sonunda elde edilen 3 ϵ değerinin ortalaması kullanılarak düzeltme faktörü (correction factor, $CF = 3160 / \epsilon$) bulunmuştur (Bu faktörün 0.95’ten küçük ve 1.05’ten büyük olması durumunda kullanılan teknik veya cihazlar kontrol edilir). Spektrofotometrenin kalibrasyon işlemi tamamlandıktan sonra CPA standardından (Cyclopiazonic acid from *Penicillium cyclopium* Sigma C1530) hazırlanan CPA çözeltisinin de aynı dalga boyunda absorpsiyon değeri ölçülmüş ve stok standart çözeltinin konsantrasyonu $\mu\text{gCPA} / \text{mL} = (A \times MW \times 1000 \times CF) / \epsilon$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır (Scott, 1990). Elde edilen verilere göre TLC analizlerinde kullanılmak üzere 50 ppm konsantrasyonda CPA standart çözeltisi hazırlanmış ve -18°C’de karanlıkta muhafaza edilmiştir.

5.2. Metot

5.2.1. Ekstraksiyon

Kuru incir örneklerinden siklopiazonik asit ekstraksiyonu için uygulanan yöntem, Urano ve ark. (1992) ile Hayashi ve Yoshizawa (2005) tarafından kullanılan yöntemlerden yola çıkılarak belirlenmiş olup, kuru incire adapte edilmiştir. Kuru incirde yağ içeriği oldukça düşük seviyede olduğundan hekzan ile yağın uzaklaştırılmasına olanak veren basamaklar çıkarılmıştır. Ayrıca proteinlerin çöktürülerek uzaklaştırılması amacıyla yapılan kurşun asetat çözeltisi ilavesi sayesinde kloroform ile ekstraksiyon aşamasında görülen ikiden fazla fazın ortaya çıkması engellenmiştir.



Şekil 5.1. CPA analizi için kuru incir örneklerine uygulanan ekstraksiyon yöntemi

Ekstraksiyon için daha önceden bahsedilen işlemlere tabi tutulan homojenize kuru incir-su karışımından 45 gr tartılmış ve 150 ml metanol-%2'lik sodyum bikarbonat çözeltisi (7:3) ile 5 dakika boyunca karıştırıcıda yüksek hızda karıştırılmıştır. Karışım, Whatman No:4 filtre kağıdı kullanılarak süzölmüş ve elde edilen süzöntüden 80 ml alınmıştır. Süzöntüye 0.05 M kurşun asetat çözeltisinden 30 ml ilave edilip karıştırılarak çökelti filtrasyonla uzaklaştırılmıştır. 0.5 N HCl ile pH değeri 2'ye düşürölen 50 ml süzöntü 25 ml kloroform ile iki kez ekstrakte edilmiş ve alt fazlar toplanmıştır. Kloroform fazındaki (alt faz) suyun uzaklaştırılması amacıyla 10 gr susuz sodyum sülfat bulunan filtre kağıdından süzölmüşdür. Ekstraksiyon sonucunda balonda toplanan ekstrakt, 40°C'de döner vakum evaporatörde kurutulmuştur. Ardından ekstraktların tüplere alınması amacıyla balonlar 3-4 ml kloroform ile yıkanarak tüplere aktarılmış ve azot gazı ile tekrar kurutulmuştur.

Ekstraktlar analize alınana kadar -18°C’de ve karanlıkta muhafaza edilmiştir. Kuru incir örneklerinde CPA ekstraksiyonu için uygulanan yöntemle ait akış şeması Şekil 5.1’de verilmiştir.

5.2.2. İnce tabaka kromatografisi (TLC)

Siklopiazonik asitin varlığının ve miktarının belirlenmesi amacıyla ince tabaka kromatografisi kullanılmıştır.

Analiz için kullanılan ince tabaka (Merck Silica-Gel 60 EM-5721), aşırı kuyruklanmanın önlenmesi için %2’lik okzalik asit-metanol çözeltisine batırılmış ve 10 dk bekletilmiştir. Ardından, plakalar 100°C’deki etüvde 1 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır (Pinto ve ark., 2001; Vaamonde ve ark., 2003; Vaamonde ve ark. 2006). Kurutmadan sonra soğutulan plakalara, kloroformla 200 µl’ye seyreltilen örneklerin ekstraktlarından 60-80 µl spotlanmıştır. Plakalara örnek ekstraktlarıyla birlikte miktarın belirlenebilmesine yönelik olarak 50 ppm’lik standart CPA çözeltisinden de belli miktarlarda spotlama (1-2-3-5-7 µl) yapılmıştır. Spotlama işlemi tamamlandıktan sonra plakalar etil asetat – 2-propanol – amonyak (40:30:20) çözeltisi ile önceden doyurulmuş tanka yerleştirilmiştir. Çözgenin plakanın üst kısmından yaklaşık 2 cm kalıncaya dek yürümesi gerçekleştikten sonra plaka, amonyağın uzaklaştırılması amacıyla 50°C’de 5 dakika boyunca kurumaya bırakılmış ve bunu takiben Erlich’s reaktifiyle (75 ml etanol ve 25 ml konsantre HCl içerisinde 1 gr 4-dimetilaminobenzaldahit) spreyleneştir. Toksinin bu reaktifle reaksiyon vermesine bağlı olarak gözle görülebilir şekilde mavi-mor noktalar görülmüştür. Renk şiddetine göre standartlarla görsel olarak karşılaştırılarak miktar tayini yapılmıştır (Vaamonde ve ark. 2006; Bailly ve ark., 2005). Miktarın belirlenmesi için $\mu g / kg = (S \times Y \times V) / (X \times W)$ formülü kullanılmıştır. S, örnek ekstraktıyla aynı şiddetteki CPA standardının miktarı (µl); Y, CPA standartının konsantrasyonu (µg/ml); V, örnek ekstraktının seyreltme miktarı (µl); X, S miktardaki mikotoksin standardıyla aynı şiddeti veren örnek miktarı (µl); W, Ayırma hunisine transfer edilen sıvıdaki örnek miktarıdır (Scott, 1990).

6. BULGULAR ve TARTIŞMA

6.1. CPA Bulguları

CPA üreticisi olduğu belirlenen *A.flavus* küfünün bulunduğu toplam 48 adet kuru incir örneğinde, TLC metodu kullanılarak yapılan CPA analizine ait bulgular Tablo 6.1’de verilmiştir.

Tablo 6.1: CPA bulguları

Sıra No	Örnek No	Bölge	CPA miktarı (µg/kg)	Sıra No	Örnek No	Bölge	CPA miktarı (µg/kg)
1	1-03*	Germencik	-	25	29-03	İncirliova	-
2	3-03	“	46.30	26	54-03	“	23.38
3	4-03	“	iz	27	68-03	“	187
4	6-03	“	46.75	28	20-04	“	-
5	12-03	“	31.17	29	40-04	“	-
6	26-03	“	46.75	30	41-04	“	-
7	56-03	“	-	31	36-03	Ortaklar	-
8	59-03	“	iz	32	52-03	“	-
9	62-03	“	23.38	33	33-04	“	-
10	65-03	“	46.75	34	42-04	“	46.75
11	2-04**	“	iz	35	43-04	“	23.38
12	3-04	“	46.75	36	44-04	“	-
13	9-04	“	23.38	37	21-03	Söke	-
14	11-04	“	35.06	38	61-03	“	46.75
15	30-04	“	-	39	19-04	“	-
16	8-03	Erbeyli	116.88	40	22-03	Selçuk	-
17	11-03	“	70.13	41	35-03	“	-
18	16-03	“	-	42	51-03	“	-
19	19-03	“	93.50	43	69-03	“	70.13
20	64-03	“	38.46	44	12-04	“	-
21	9-03	İncirliova	-	45	42-03	Torbalı	93.50
22	10-03	“	-	46	70-03	“	116.88
23	14-03	“	23.38	47	71-03	“	62.33
24	20-03	“	46.75	48	4-04	“	140.25

Elde edilen bulgulara göre analize alınan 48 örneğin 28'inde yani %58'inde CPA varlığına rastlanmıştır. Bu oran kuru incir örneklerinin yarısından fazlasının CPA toksini içerdiğine işaret etmektedir. Örneklerde belirlenen en düşük toksin miktarı 23,38 µg/kg (ppb), en yüksek miktar ise, 187 µg/kg (ppb) olarak belirlenmiştir. Bulgular, örneklerin alındığı 7 bölgeye (Germencik, Erbeyli, İncirliova, Söke, Selçuk, Ortaklar, Torbalı) ait tüm kuru incir numunelerinde CPA bulunduğunu göstermektedir. Bu çalışma ile CPA toksininin kuru incir örneklerindeki varlığı ilk defa ortaya konmuştur.

Kuru incir örneklerinde görülen CPA toksininin yüksek oranda dağılımına benzer bir dağılım yer fıstıklarında da görülmüştür. 1983 yılında TLC ile yapılan çalışmaya göre, incelenen yer fıstığı örneklerinin yaklaşık %71'inde CPA varlığı belirlenmiştir. Miktarı ise (32 ile 6525 µg/kg (ppb)) bu çalışmada belirlenen toksin miktarından (23,38 ile 187 µg/kg (ppb)) oldukça yüksektir (Lansden ve Davidson, 1983). Yer fıstığı örneklerinde yapılan 1992 yılına ait başka bir çalışmada ise %90 oranında CPA ile kontaminasyon görülmüş, miktarının ise oldukça yüksek olduğu (50 ile 2900 ng/g (ppb)) belirlenmiştir (Urano ve ark., 1992a). Mısırlarda yapılan çalışmalarda da CPA bulunma oranı yüksektir. Urano ve ark. tarafından yapılan çalışmada bu oran %51 olup miktarı 25 ile 2800 ng/g (ppb) arasındadır. Lee ve Hagler (1991)' a ait çalışmada ise mısırlarda CPA bulunma oranı ve miktarı (%57, 25-250 ng/g (ppb)) bu çalışmayla oldukça paralellik taşımaktadır.

Yaygın olarak CPA varlığına rastlanılan yer fıstığı ve mısıra ek olarak, peynir üzerinde yapılan çalışmalar bu üründe de %55'ten %100'e varan oranlarda CPA bulunduğunu ortaya koymaktadır (Le Bars,1979; Zambonin ve ark., 2001). CPA varlığına rastlanan diğer gıda gruplarında (domates ürünleri, misket limonu, süt, v.s) dağılım oranının daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışma ile kuru incir örneklerinde CPA bulunma oranının yer fıstığı, mısır ve peynirde bulunma oranı ile (>%50) benzerlik taşıdığı ortaya konmaktadır.

Kuru incir örneklerinin 2003 yılına ait örnek sayısı 33 (%69), 2004 yılına ait ise 15 (%31)'tir. Örneklerin yıllara ve toksin miktarına göre dağılımı Tablo 6.2'de verilmiştir.

Tablo 6.2: Kuru incir örneklerinin yıllara ve toksin miktarına göre dağılımı

CPA Miktarı (µg/kg) (ppb)	2003		2004	
	Örnek sayısı	Oranı (%)	Örnek sayısı	Oranı (%)
<T.L*	12	0,36	8	0,53
İz-≤50	13	0,40	6	0,4
50-100	5	0,15	-	0
100-150	2	0,06	1	0,07
150-200	1	0,03	-	0

*T.L: Tespit limiti

Bu verilere göre 2003 yılı örneklerinden 12'sinde, yani bu gruptaki örneklerin %36'sında CPA varlığı belirlenmemiştir. 13'ünde (%40) ise iz-≤50 arasında değişen değerlerde toksin tespit edilmiştir. 2003 yılına ait örneklerin 2'sinde (%0,06) 100-150 ppb seviyesinde toksin belirlenirken yalnız 1 adedinde (%0,03) miktarın 150 ppb'nin üstüne çıktığı kaydedilmiştir. Bu bulgulara göre 2003 yılındaki örneklerde toksin miktarının iz-≤50 ppb arasında yoğunlaştığı görülmüştür. 2004 yılındaki 15 örneğin 8'inde yani % 53'ünde CPA tespit edilmezken 6'sındaki (%0,4) toksin miktarının iz-≤50 ppb arasında olduğu ve sıklığın da bu aralıkta gerçekleştirdiği belirlenmiştir. 2004 yılı örneklerinin sadece 1 adedinde (%0,067) toksin miktarı 100-150 ppb arasında bulunmuştur.

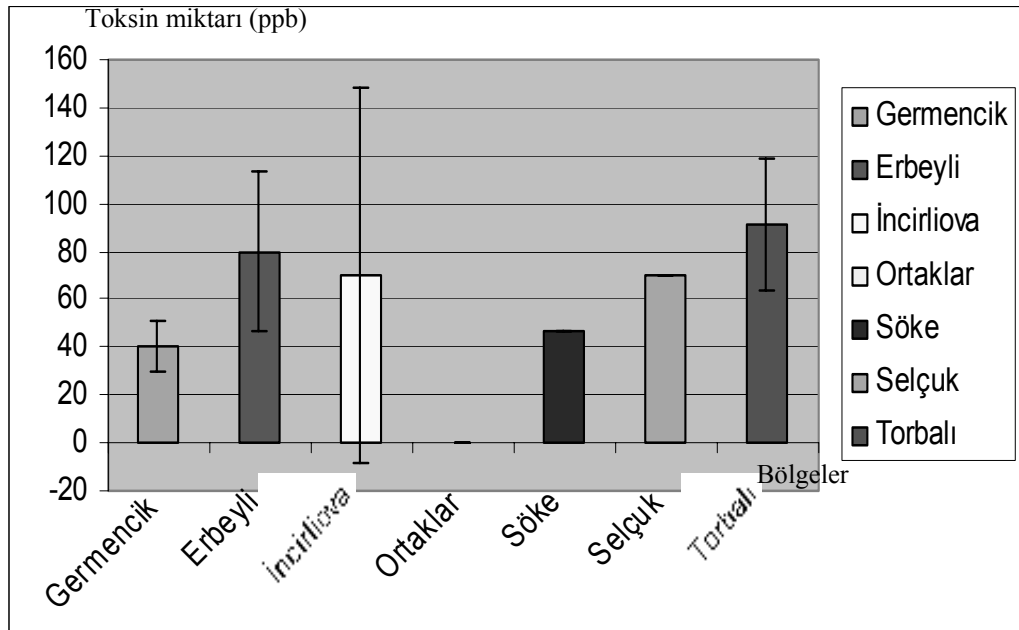
2003 yılına ait örneklerin, alındığı bölgelere göre CPA bulguları Tablo 6.3'te verilmektedir.

Tablo 6.3: 2003 yılı örneklerinin bölgelere göre CPA bulguları

Bölgeler	2003			
	Pozitif örnek sayısı ve (% oranı)	Toplam örnek sayısı	Aralık (ppb)	Ortalama (ppb)
Germencik	8 (%80)	10	iz - 46,75	40,18±10,3*
Erbeyli	4 (%80)	5	38,46 – 116,88	79,74±33,5
İncirlioğa	4 (%57)	7	23,38 - 187	70,13±78,7
Ortaklar	-	2	-	-
Söke	1 (%50)	2	46,75	46,75
Selçuk	1 (%25)	4	70,13	70,13
Torbalı	3 (%100)	3	62,33 – 116,88	90,90±27,4

* Ortalama değerler iz miktardaki örnekler dikkate alınmadan hesaplanmıştır. Ortalama değerlerin yanındaki değerler standart sapmayı göstermektedir.

2003 yılına ait Germencik'ten alınan toplam örnek sayısı 10 olup toksine rastlanan örnek sayısı 8 olarak belirlenmiştir. Pozitif çıkan örneklerdeki toksin miktarı 23,38 - 46,75 ppb arasında değişirken ortalama değeri $40,18 \pm 10,3$ ppb olarak hesaplanmıştır. Erbeyli'den alınan toplam 5 örneğin 4'ünde CPA belirlenmiş olup, miktarları 38,46 – 116,88 ppb arasında ve ortalama olarak $79,74 \pm 33,5$ ppb'dir. Örnek sayısı 4 gibi düşük olduğu için standart sapmanın yüksek olduğu görülmüştür. Torbalı'dan alınan her üç örnekte de CPA varlığına rastlanmış ve aralığı 62,33 – 116,88 ppb, ortalama miktarı da $90,90 \pm 27,4$ ppb olarak kaydedilmiştir. Torbalı'dan alınarak analiz edilen örneklerin tamamında, Germencik ve Erbeyli'den alınan örneklerin ise %80'inde toksin varlığına rastlanması, bu bölgelerde üretilen kuru incirlerin büyük kısmında CPA bulunma tehlikesini ortaya koymaktadır. İncirlioğlu, Söke, Selçuk bölgelerine ait örneklerde ise toksine rastlama oranı daha düşük olup, sırasıyla %57, %50 ve %25 olarak belirlenmiştir. Ortalama toksin miktarları göz önüne alındığında en yüksek değerlerin Torbalı bölgesine ait olduğu, bu bölgeyi, sırasıyla Erbeyli ve İncirlioğlu bölgelerinin takip ettiği görülmektedir. Ayrıca en yüksek toksin içeriği İncirlioğlu'dan alınan 2003 yılına ait örnekte 187 ppb olarak bulunmuştur. Ortaklar bölgesinden alınan 2 incir örneğinin hiç birisinde toksin bulunmamıştır. 2003 yılına ait örneklerdeki toksin miktarının bölgelere göre dağılımı Şekil 6.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 6.1: 2003 yılına ait örneklerdeki toksin miktarının bölgelere göre dağılımı

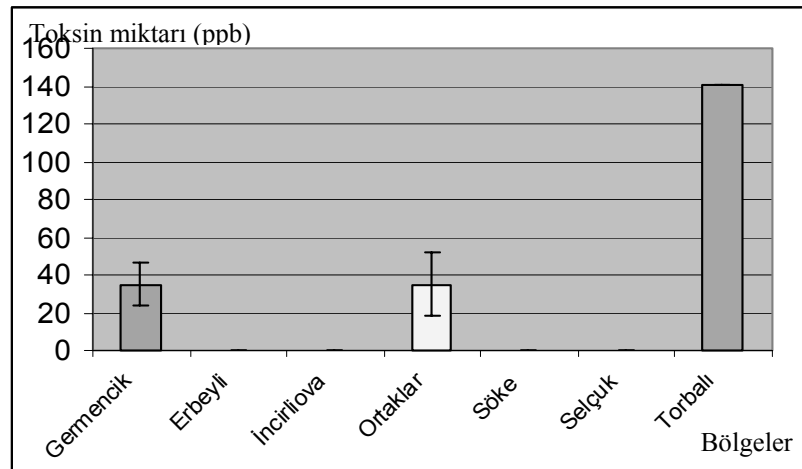
Tablo 6.4'te 2004 yılına ait örneklerin alındığı bölgeler ve CPA bulguları verilmiştir.

Tablo 6.4: 2004 yılı örneklerinin bölgelere göre CPA bulguları

Bölgeler	2004			
	Pozitif örnek sayısı ve (% oranı)	Toplam örnek sayısı	Aralık (ppb)	Ortalama (ppb)
Germencik	4 (%80)	5	iz - 46,75	35,06±11,7*
İncirliova	-	3	-	-
Ortaklar	2 (%50)	4	23,38 - 46,75	35,07±16,5
Söke	-	1	-	-
Selçuk	-	1	-	-
Torbalı	1 (%100)	1	140,25	140,25

* Ortalama değerler iz miktardaki örnekler dikkate alınmadan hesaplanmıştır. Ortalama değerlerin yanındaki değerler standart sapmayı göstermektedir.

2004 yılı örneklerinin sayısı az olup Erbeyli bölgesinden bu yılda alınan örnek bulunmamaktadır. Germencik'ten alınan toplam örnek sayısı 5 olup toksine rastlanan örnek sayısı 4'tür. Pozitif çıkan örneklerdeki toksin miktarı 23,38 - 46,75 ppb arasında değişirken ortalama değeri 35,06±11,7 ppb olarak hesaplanmıştır. Ortaklar bölgesinde 4 örneğin 2'sinde, miktarı 23,38-46,75 arasında değişen, ortalama değeri 35,06±116,5 ppb olan toksin varlığı belirlenmiştir. Torbalı'dan alınan tek örnekte 140,25 ppb miktarında toksin tespit edilmiştir. Ortalama toksin miktarı baz alınarak değerlendirme yapıldığında en çok toksin içeriğine sahip örneğin Torbalı'ya ait olduğu, Torbalı'yı Ortaklar ve Germencik bölgelerinin izlediği görülmüştür. İncirliova, Söke ve Selçuk bölgelerinden 2004 yılına ait örneklerde ise CPA varlığına rastlanmamıştır. 2004 yılı örneklerindeki ortalama toksin miktarının bölgelere göre dağılımını gösteren grafik Şekil 6.2.'de verilmiştir.

**Şekil 6.2:** 2004 yılına ait örneklerdeki toksin miktarının bölgelere göre dağılımı

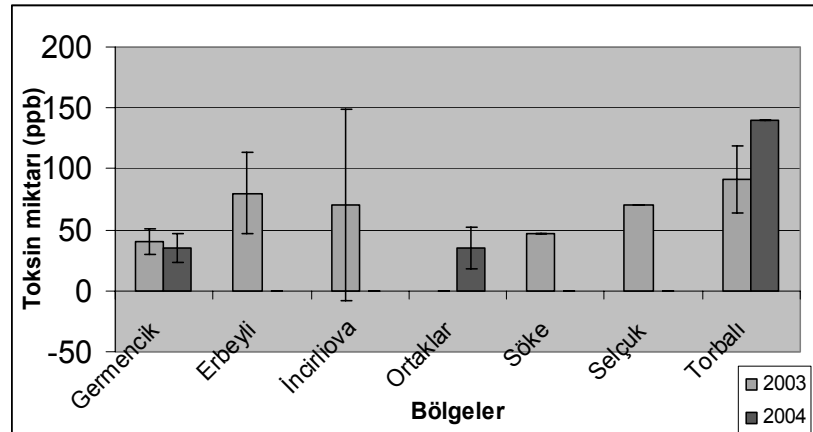
Bölgelerden alınan örneklerdeki ortalama toksin miktarları ve pozitif örnek oranının 2003 -2004 yıllarında nasıl değişiklik gösterdiği Tablo 6.5.'te verilmiştir.

Tablo 6.5: CPA bulgularının yıllara ve bölgelere göre değişimi

Bölgeler	2003			2004		
	Pozitif örnek oranı (%)	Aralık (ppb)	Ortalama (ppb)	Pozitif örnek oranı (%)	Aralık (ppb)	Ortalama (ppb)*
Germencik	80	iz-46,75	40,18±10,3	80	iz m.-46,75	35,06±11,7
Erbeyli	80	38,46-116,88	79,74±33,5	-	-	-
İncirliova	57	23,38-187	70,13±78,7	-	-	-
Ortaklar	-	-	-	50	23,38-46,75	35,07±16,5
Söke	50	46,75	46,75	-	-	-
Selçuk	25	70,13	70,13	-	-	-
Torbalı	100	62,33-116,88	90,90±27,4	100	140,25	140,25

* Ortalama değerler iz miktardaki örnekler dikkate alınmadan hesaplanmıştır. Ortalama değerlerin yanındaki değerler standart sapmayı göstermektedir.

Buna göre, Germencik bölgesinden alınan örneklerde pozitif örnek oranı ve aralığı değişmezken ortalama toksin seviyesinde düşüş gözlenmiştir. İncirliova, Söke, Selçuk bölgelerinden 2003 yılında alınan örneklerde CPA varlığı belirlenirken 2004 yılına ait olanlarda benzer bir bulgu görülmemiştir. Torbalı bölgesine ait örneklerde ise pozitif örnek oranı hem de ortalama toksin miktarı oldukça yüksektir. Pozitif örnek oranı her iki yılda da %100 olarak gözlemlenmiştir. Ancak 2003 yılında bu bölgeden alınan örnek sayısının 3, 2004 yılında ise sadece 1 olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Erbeyli bölgesinden 2004 yılına ait örnek bulunmadığı için bu bölge hakkında herhangi bir yorum yapılamamaktadır. Bölgelerdeki CPA bulgularının yıllara göre değişiminin gösterildiği grafik Şekil 6.3.'te gösterilmektedir.



Şekil 6.3: Bölgelerdeki CPA bulgularının yıllara göre değişimi

50 µg/g (ppm) konsantrasyondaki stok CPA çözeltisinden 1 µl spotlama sonucunda tespit edilme limiti her spot için 50 ng olarak belirlenmiştir. Uygulanan metotta belirlenen en düşük limit ise 23,38 ng/g (ppb)'dır. Toksin içermeyen kuru incir örneklerinin 100 µg/kg (ppb) ve 200 µg/kg (ppb) seviyelerinde CPA ilavesi ile analiz edilmesi sonucunda elde edilen geri kazanım oranları sırası ile %70 ve %78 olarak bulunmuş ve Tablo 6.6.'da verilmiştir.

Tablo 6.6: CPA analizi için uygulanan TLC metodu ile elde edilen geri kazanım oranları

İlave edilen toksin miktarı (ppb)	Tespit edilen toksin miktarı (ppb)	Geri kazanım oranı (%)
100	70,13	%70
200	155,83	%78

Yukarıda verilen bulgular, TLC yönteminde etil asetat/2-propanol/amonyak (40:30:20) çözgen sistemi kullanımı ile elde edilmiştir. Bununla birlikte farklı bir çözgen sisteminin kullanımı da denenmiştir. Toluene/etil asetat/formik asit (TEF) (5:4:1) (Le Bars, 1979) içerisine yerleştirilen plakalar, çözgenin (plakanın üst kısmından yaklaşık 2 cm kalıncaya kadar) ilerleme aşaması tamamlanınca Erlich's reaktifiyle spreyleneştir. Her iki yöntemle de mavi-mor noktalar halinde CPA varlığı tespit edilebilmiştir. Ancak TEF kullanıldığında görülen mavi-mor noktaların, etil asetat/2-propanol/amonyak (40:30:20) çözgen sistemi kullanılması sonucu görülen noktalardan daha büyük çaplı olduğu, yayıldığı ve bu nedenle de miktar tayininin de güçlkle karşılaşılmıştır. Bu nedenle etil asetat/2-propanol/amonyak (40:30:20) çözgen sistemi tercih edilmiştir.

Literatürde CPA analizinde TLC metodunun kullanıldığı çalışmalarda kullanılan çözgen sistemlerinde farklılıklar bulunmaktadır. Ayrıca plakaların okzalik asitle ön bir işleme tabii tutulması yaygın olarak uygulanan bir basamaktır. Ancak, okzalik asit/su, okzalik asit/metanol gibi çözeltilerin kullanımı ve sıcaklık-süre uygulamalarında farklılıklar bulunmaktadır.

Le Bars (1979) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, peynirlerdeki CPA varlığını ve miktarını belirlemeye yönelik olarak TLC yöntemi uygulanmıştır. Plakaların yürütülmesinde farklı çözgen sistemlerinin kullanıldığı yöntemin küf kültürleri için ölçme limiti 0.5 µg/g (500 ppb), peynir numuneleri için ise 0.02 µg/g (20 ppb) olarak belirlenmiştir (Le Bars, 1979).

Lansden ve Davidson (1983) yer fıstığı örneklerinde CPA analizini TLC yöntemini kullanarak gerçekleştirmişlerdir. Tespit edilme limitinin 26 ng olarak belirlendiği çalışmada 105 ve 210 µg/kg (ppb) seviyelerinde CPA ilavesi sonucunda elde edilen geri kazanım oranı ise ortalama %93.3 olarak kaydedilmiştir.

Lansden tarafından (1986) yer fıstığı ve mısırlar üzerine yapılan çalışmada Kullanılan TLC yönteminde densitometre yardımıyla analiz gerçekleştirilmiştir. Toksin miktarının belirlenmesi TLC ve dimetilaminobenzaldehit-HCl sprey ile türevlendirilme işlemlerinden sonra 540 nm’de refleksiyon densitometrisi kullanılarak yapılmıştır. Yöntemin ortalama geri kazanım oranı yer fıstığı için %90, mısır için %85 olarak belirtilmiştir. Tespit limiti ise her spot için 25 ng olarak belirlenmiş ve 50 g’lık örnek için bu limit 125 µg/kg (ppb) olarak belirtilmiştir (Lansden, 1986).

Çeşitli kuru gıdalardan [mısır, makarna ve Brezilya cevizi (pecans)] izole edilen *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsi küflerin siklopiazonik asit üretebilme özelliğinin incelendiği çalışmada TLC yöntemi uygulanmıştır. Plakalar %2’lik okzalik asit çözeltisine batırılmış ve 80°C’de 1 saat kurutulmuştur. Çözgen olarak benzen/asetik asit/metanol (90:5:7) kullanılmıştır. Tespit limiti ise 100 ng/mL (ppb) olarak kaydedilmiştir (Trucksess ve ark., 1987).

Lee ve Hagler (1991) tarafından kontamine mısırlarda CPA üretimi, Lansden (1986) yöntemi referans alınarak TLC metodu ile tayin edilmiştir. Çalışmada CPA için tespit limiti 0.25 µg/mL (250 ppb) olarak belirtilmiştir.

Süt ve yumurtada CPA toksinin varlığına ve miktarına yönelik yapılan çalışmada yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (high performance TLC, HPTLC) yöntemi uygulanmıştır. Etil asetat/metanol/amonyum hidroksit (85:15:10) çözgen sisteminin kullanıldığı yöntemin ölçme limiti 20 g’lık örnek için 5 ng/g (5 ppb), geri kazanım oranı ise %68 ve %83 (10 ve 100 ng/g (ppb) seviyesinde CPA ilavesi) olarak belirtilmiştir (Dorner ve ark., 1994).

Arjantin’de yetiştirilen yer fıstıklarında aflatoksinle siklopiazonik asitin birlikte bulunması üzerine yapılan çalışma Pinto ve ark. (2001) tarafından TLC metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada CPA analizi için, metanolde %2 oranında okzalik asit içeren çözeltiye daldırılarak 10 dk bekletilen plakalar, 100°C’de 1 saat bekletilmiş ve ardından soğutulmuştur. Çözgen sistemi olarak etil asetat/2-

porpanol/amonyum hidroksit (40:30:20) kullanılmıştır. Plakaların yürütölme işleminden sonra amonyağın uzaklaştırılması için plakalar 5 dakika boyunca 50°C’de kurutulmuş ve ardından Erlich’s reaktifiyle spreyleneştir. Değerlendirmenin hem görsel olarak hem de densitometrik olarak yapıldığı çalışmada tespit limiti 50 µg/kg (ppb) olarak belirlenmiştir. 100, 200 ve 500 µg/kg (ppb) konsantrasyonunda CPA ilavesi ile yapılan analizler sonunda kaydedilen geri kazanım oranları ise sırasıyla %77.3, 99.3 ve 93.2 olarak rapor edilmiştir (Pinto ve ark., 2001).

Vaamonde ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmada Arjantin’den farklı substratlardan elde edilen *Aspergillus* cinsi ve küflerin aflatoksin ve CPA oluşturabilme özelliğinin araştırıldığı çalışmada TLC metodu kullanılmıştır. CPA için kullanılan plakalar %2’lik okzalikasit/metanol çözeltisine daldırılmış ve kurutulmuştur. Çözgen sistemi olarak etil asetat/2-propanol/amonyum hidroksit (40:30:20) çözgenlerinin kullanıldığı analizde tespit limiti 2.0 ppm (2000 ppb) olarak belirlenmiştir (Vaamonde ve ark., 2003). Aynı yöntem, su aktivitesi ve sıcaklığın yer fıstığındaki *Aspergillus flavus*’un aflatoksin ve CPA üretimine etkisinin araştırıldığı yöntemde de kullanılmıştır (Vaamonde ve ark., 2006).

Misket limonlarından (sour lime) izole edilen *A.flavus* küflerinin CPA üretimi üzerine Bamba ve Sumbali (2005) tarafından yapılan çalışmada da benzen/metanol/asetik asitin (90:16:8) çözgen sisteminin kullanıldığı TLC metodu kullanılmıştır.

TLC metodunun uygulandığı bir başka çalışma ise Fransa’da satılan kuru tütülenmiş et ürünleri üzerine gerçekleştirilmiştir. Çözgen sistemi olarak etil asetat/isoporopropanol/amonyak (20:15:10) kullanılmıştır. Yöntemin ölçme limiti 200 µg/kg (ppb), geri kazanım oranı ise %94 olarak rapor edilmiştir (Bailly ve ark., 2005).

7. SONUÇ

Bu çalışma, dünyada ciddi sağlık ve ekonomik sorunları beraberinde getiren mikotoksin sorunu kapsamında, gıda ve yemlere kontamine olma olasılığı yüksek olan ve farklı küfler tarafından üretilerek farklı gıda ürünlerine bulaşabilen bir mikotoksin olan CPA üzerine gerçekleştirilmiştir. Ülkemizin en önemli ihracat kaynağı olan kuru incirlerde CPA varlığı ile ilgili bir görüş kazanma ve literatüre katkıda bulunma amacıyla çeşitli bölgelerden alınan kuru incir örneklerinde CPA varlığı ve miktarı analiz edilmiştir.

Analiz sonuçlarına göre, Germencik, Erbeyli, İncirliova, Söke, Selçuk, Ortaklar ve Torbalı olmak üzere 7 farklı bölgeden alınan 2003-2004 yıllarına ait toplam 48 adet kuru incir örneğinin 28'inde (%58) miktarı 23,38 ile 187 ppb arasında değişen CPA varlığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışma, yer fıstığı, mısır ve peynirde CPA varlığını araştıran çalışmalardan elde edilen dağılım oranlarını destekleyici niteliktedir. CPA toksininin kuru incir örneklerindeki varlığını tespit eden ilk çalışmadır.

Elde edilen bulgulara göre, 2003 yılında CPA varlığı açısından pozitif çıkan örneklerin oranı (%64), 2004 yılına ait orana (%47) göre daha fazladır. 2003 yılına ait örneklerde ortalama toksin miktarları baz alınarak bir değerlendirme yapıldığında, en yüksek miktarda CPA varlığına Torbalı'da rastlandığı, onu takiben Erbeyli ve İncirliova bölgelerinin geldiği gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, en yüksek toksin içeriği (187 ppb) İncirliova'dan alınan 2003 yılına ait örnekte tespit edilmiştir. 2003 yılı örneklerinde toksin miktarına göre yapılan sınıflandırmada yığılma $iz \leq 50$ ppb arasında toksin içeriğine sahip olan örnek grubunda görülmüştür. 2004 yılına ait örneklerde ortalama toksin miktarları baz alınarak bir değerlendirme yapıldığında ise en çok toksin içeriğine sahip örneğin Torbalı'ya ait olduğu, Torbalı'yı Ortaklar ve Germencik bölgelerinin izlediği görülmüştür. İncirliova, Söke ve Selçuk bölgelerinde 2004 yılına ait örneklerde ise CPA varlığına rastlanmamıştır. Bulgular, toksin miktarlarının yıllara göre nasıl değişim gösterdiği açısından incelendiğinde, Germencik bölgesine ait örneklerin her iki yılda da aynı oranda (%80) ve aynı aralıkta (iz miktar-46,75 ppb) CPA içerdiği, ortalama miktarda ise 2004 yılında az

bir düşüş sergilediği görülmüştür. 2003 yılında pozitif örnek oranı sırasıyla %57, 50 ve 25 olarak kaydedilen İncirliova, Söke, Selçuk bölgelerinde ise 2004 yılında pozitif öreğe rastlanmıştır. Torbalı bölgesinde her iki yılda da alınan tüm örneklerde CPA tespit edilmesi ve toksin aralık ve ortalamalarının diğer bölgelere göre daha yüksek olması, bu bölgede üretilen kuru incirlerin daha riskli olduğunu ortaya koymaktadır.

İhracatımızda önemli yere sahip kuru incirde CPA varlığının bulunması, sağlık sorunlarına yol açabileceği gibi -henüz CPA ile ilgili yasal düzenleme bulunmamasına rağmen- ileriki dönemlerde getirilebilecek limitler ile ekonomik sorunlara da neden olacaktır. Bu kapsamda, bu mikotoksin sorununun önüne geçilmeli, mikotoksin oluşumunu engelleyici, hasat öncesini ve hasat sonrasını kapsayan tedbirler alınmalıdır. Ayrıca, tüm bu tedbirlerin alınması, ilgili sınırlandırmaların getirilmesi için CPA toksini ile ilgili daha çok araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

Aksoy, U., 2001. Kuru incir üretiminde verim ve kaliteyi arttırmaya yönelik uygulamalar, *Ege üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi Çiftçi Dergisi*, 1.

Aksoy, U., Sabır, E., Eltem, R., Kırac, S., Sarıgül, N., Meyvacı, B., Ateş, M. ve Çakır, M., 2003. Kuru incirlerde Okratoksin A'nın potansiyel kontaminasyon riskinin araştırılması, *Ulusal Mikotoksin Sempozyumu*, İstanbul, 18-19 Eylül, 41-46.

Alghalibi, S.M.S.W., and Shater, A.M., 2004. Mycoflora and mycotoxin contamination of some dried fruits in Yemen Republic, *Assiut University Bulletin for Environmental Researches*, 7, 19-27.

Anaç, H., 2003. Kuru incir, Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü Bakış, Sayı:3 Nüsha:10, Ankara.

Anon., 2003. www.tzob.org.tr

Anon., 2006a. www.fao.org

Anon., 2006b. www.mycotoxins.org/

Anon., 2006c. www.erbeyliincir.gov.tr

Anon., 2006d. www.taris.com

Anon., 2006e. www.tarim.gov.tr

Anon., 2006f. www.sciencelab.com/xMSDS-Cyclopiazonic_Acid-9927345

Aresta, A., Cioffi, N., Palmisano, F. , and Zambonin, C.G., 2003. Simultaneous determination of ochratoxin A and cyclopiazonic, mycophenolic, and tenuazonic acids in cornflakes by solid-phase microextraction coupled to hig-performance liquid chromatography, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 5232-5237.

Arıcı, M., 2001. Isolation and determination of mould fungi of figs, peanuts and olives from Turkey, and screening of these mycotoxins, *Ernahrung*, 25, 157-160.

Bailly, J.D., Tabuc, C., Quérin, A. , and Guerre, P., 2005. Production and stability of patulin, ochratoxin A, citrinin, and cyclopiazonic acid on dry cured ham, *Journal of Food Protection*, 68, 1516-1520.

Bamba, R., and Sumbali, G., 2005. Co-occurrence of aflatoxin B₁ and cyclopiazonic acid in sour lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) during post-harvest pathogenesis by *Aspergillus flavus*, *Mycopathologia*, 159, 407-411.

Bamford, R., 1990. Use of figs and fig products in bakery foods, *aib Research Department Technical Bulletin*, 12, 1-6.

- Boyacıoğlu, D. ve Gönül, M.,** 1990. Survey of aflatoxin contamination of dried figs grown in Turkey in 1986, *Food Additives and Contaminants*, **7**, 235-237.
- Buchanan, J.R., Sommer, N.F., and Fortlage, R.J.,** 1975. *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin production in fig fruits, *Applied Microbiology*, **30**, 238-241.
- Calvo, A.M.,** 2005. Mycotoxins, in *Toxins in Food*, Eds. Dabrowski, W.M and Sikorski, Z.E., CRC Press, USA.
- Chang-Yen, I., and Bidasse, K.,** 1990. Improved spectrophotometric determination of cyclopiazonic acid, *Journal of AOAC International*, **73**, 257-259.
- Da Motta, S., and Valente Soares, L.M.,** 2001. Survey of Brazilian tomato products alternariol, alternariol monomethyl ether, tenuazonic acid and cyclopiazonic acid, *Food Additives and Contaminants*, **18**, 630-634.
- de Jesus, A.E., Steyn, P.S., Vleggaar, R., Kirby, G.W., Varley, M.J., and Ferreira, N.P.,** 1981. Biosynthesis of α -cyclopiazonic acid. Steric course of proton removal during the cyclisation of β -cyclopiazonic acid in *Penicillium griseofulvum*., *Journal of Chemical Society Perkin Transactions I*, 3292. Alınmıştır: Dorner, J.W., 2002. Recent advances in analytical methodology for cyclopiazonic acid, in *Mycotoxins and Food Safety*, pp. 107-116, Eds. DeVries, J.W. Trucksess, M.W. and Jackson, L.S., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Deshpande, S.S.,** 2002. Handbook of Food Toxicology, Marcel Dekker, New York
- Dorner, J.W.,** 1983. Production of cyclopiazonic acid by *Aspergillus tamarii* kita, *Applied and Environmental Microbiology*, **46**, 1435-1437.
- Dorner, J.W.,** 2002. Recent advances in analytical methodology for cyclopiazonic acid, in *Mycotoxins and Food Safety*, pp. 107-116, Eds. DeVries, J.W. Trucksess, M.W. and Jackson, L.S., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Dorner, J.W., Cole, R.J., Erlington, D.J., Suksupath, S., McDowell, G.H., and Bryden, W.L.,** 1994. Cyclopiazonic acid residues in milk and eggs, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **42**, 1516-1518.
- Dorner, J.W., Cole, R.J., Lomax, L.G., Gosser, H.S., and Diener, U.L.,** 1983. Cyclopiazonic acid production by *Aspergillus flavus* and its effects on broiler chickens, *Applied and Environmental Microbiology*, **46**, 698-703.
- Dorner, J.W., Sobolev, V.S., Yu, W., and Chu, F.S.,** 2000. Immunochemical method for cyclopiazonic acid, in: *Mycotoxin Protocols*, pp. 71-80, Eds. Trucksess, M.W., and Pohland, A.E., Humana Press, Totowa, N.J.
- Erdoğan, A., Gürses, M. ve Sert, S.,** 2003. Erzurum’da satışa sunulan köme (cevizli pestil sucuğu) ve kuru incirlerin aflatoksin içeriklerinin saptanması, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **34**, 85-88.
- Goto, T., Shinshi, E., Tanaka, K. ve Manabe, M.,** 1987. Analysis of cyclopiazonic acid by normal phase high-performance liquid chromatography, *Agricultural and Biological Chemistry*, **51**, 2581-2582.
- Hayashi, Y., and Yoshizawa, T.,** 2005. Analysis of cyclopiazonic acid in corn and rice by a newly developed method, *Food Chemistry*, **93**, 215-221.
- Heperkan, D.,** 2005. Mikotoksinlerin önemi ve Türkiye’de mikotoksin çalışmaları. II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu, İstanbul, 23-24 Mayıs ss. 3-11.

- Holzappel, C.W.**, 1968. The isolation and structure of cyclopiazonic acid, a toxic metabolite of *Penicillium cyclopium* Westling, *Tetrahedron*, **24**, 2101-2119. Alınmıştır: Dorner, J.W., 2002. Recent advances in analytical methodology for cyclopiazonic acid, in *Mycotoxins and Food Safety*, pp. 107-116, Eds. DeVries, J.W. Trucksess, M.W. and Jackson, L.S., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Hussein, S.H., and Brasel, J.M.**, 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals, *Toxicology*, **167**, 101-134.
- Iamanaka, B.T., Menezes, H.C., Vincente, E., Leite, R.S.F., and Taniwaki, M.H.**, 2006a. Aflatoxigenic fungi and aflatoxins occurrence in sultanas and dried figs commercialized in Brazil, *Food Control*, in press.
- Iamanaka, B.T., Taniwaki, M.H., Vicente, E., and Menezes, H.C.**, 2006b. Fungi producing ochratoxin in dried fruits, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **571**, 181-188.
- Karaca, H. ve Nas, S.**, 2006. Aflatoxins, patulin and ergosterol contents of dried figs in Turkey, *Food Additives and Contaminants*, **23**, 502-508.
- Karapınar, M. ve Gönül, Ş.**, 1989. Kuru incirlerin küf florasında aflatoksjenik küfler. *Gıdalarda Küfler ve Mikotoksinler Sempozyumu*, İstanbul, 12-13 Aralık.
- Karapınar, M. ve Gönül, Ş.**, 1990. Fungal flora of dried figs: The incidence of aflatoxigenic moulds. *Proceedings of the 5th International Working Conference on Stored Product Protection V:1*, Bardeux, France, 9-14 Eylül.
- Lansden, J.A.**, 1984. Liquid chromatographic analysis system for cyclopiazonic acid in peanuts, *Journal of AOAC*, **67**, 728-731.
- Lansden, J.A.**, 1986. Determination of cyclopiazonic acid in peanuts and corn by thin layer chromatography, *Journal of AOAC*, **69**, 964-966.
- Lansden, J.A., and Davidson, J.I.**, 1983. Occurrence of cyclopiazonic acid in peanuts, *Applied and Environmental Microbiology*, **45**, 766-769.
- Le Bars**, 1979. Cyclopiazonic acid production by *Penicillium camemberti* thom and natural occurrence of this mycotoxin in cheese, *Applied and Environmental Microbiology*, **38**, 1052-1055.
- Lee, Y.J., and Hagler, W.M.**, 1991. Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by *Aspergillus flavus* isolated from contaminated maize, *Journal of Food Science*, **56**, 871-872.
- Luk, K.C., Kobbe, B., and Townsend, J.M.**, 1977. Production of cyclopiazonic acid by *Aspergillus flavus* link, *Applied and Environmental Microbiology*, **33**, 211-212.
- Lund, F.**, 1995. Diagnostic characterization of *Penicillium palitans*, *P. commune* and *P. solitum*, *Letters in Applied Microbiology*, **21**, 60-64. Alınmıştır: Dorner, J.W., 2002. Recent advances in analytical methodology for cyclopiazonic acid, in *Mycotoxins and Food Safety*, pp. 107-116, Eds. DeVries, J.W. Trucksess, M.W. and Jackson, L.S., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Malik, R.K., Engel, G., and Teuber, M.**, 1986. Effect of some nutrients on the production of cyclopiazonic acid by *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **24**, 71-74. Alınmıştır: Dorner, J.W., 2002. Recent

advances in analytical methodology for cyclopiazonic acid, in *Mycotoxins and Food Safety*, pp. 107-116, Eds. DeVries, J.W. Trucksess, M.W. and Jackson, L.S., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Matsudo, T., and Sasaki, M., 1995. Simple determination of cyclopiazonic acid, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, **59**, 355-357. Alınmıştır: Dorner, J.W., 2002. Recent advances in analytical methodology for cyclopiazonic acid, in *Mycotoxins and Food Safety*, pp. 107-116, Eds. DeVries, J.W. Trucksess, M.W. and Jackson, L.S., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Morton, S.G. Eadie, T., and Llewellyn, G.C., 1979. Aflatoxigenic potential of dried figs, apricots, pineapples, and raisins, *Journal of AOAC*, **62**, 958-962.

Moss, M.O., 2000. Toxigenic fungi and mycotoxins in *The Microbiological Safety and Quality of Food Volume II*, Eds. B.M. Lund, T.C. Baird-Parker, and G.W. Gould, Aspen Publishers, Maryland, ss.1490-1517

Norred, W.P., Cole, R.J., Dorner, J.W., and Lansden, J.A., 1987. Liquid chromatographic determination of cyclopiazonic acid in poultry meat, *Journal of AOAC*, **70**, 121-123. Alınmıştır: Dorner, J.W., 2002. Recent advances in analytical methodology for cyclopiazonic acid, in *Mycotoxins and Food Safety*, pp. 107-116, Eds. DeVries, J.W. Trucksess, M.W. and Jackson, L.S., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Norred, W.P., Porter, J.K., Dorner, J.W., and Cole, R.J., 1988. Occurrence of the mycotoxin cyclopiazonic acid in meat after oral administration to chickens, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **36**, 113-116.

Ohmomo, S., Sugita, M., and Abe, M., 1973. Isolation of cyclopiazonic acid, cyclopiazonic acid imine and bisecodehydrocyclopiazonic acid from the cultures of *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tiraboschi, *J. Agr. Chem. Soc. Japan* **47**, 83. Alınmıştır: Dorner, J.W., 2002. Recent advances in analytical methodology for cyclopiazonic acid, in *Mycotoxins and Food Safety*, pp. 107-116, Eds. DeVries, J.W. Trucksess, M.W. and Jackson, L.S., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Oliveira, C.A., Rosmaninho, J., and Rosim, R., 2006. Aflatoxin M1 and cyclopiazonic acid in milk traded in São Paulo, Brazil, *Food Additives and Contaminants*, **23**, 196-201.

Orth, R., 1977. Mycotoxins of *Aspergillus oryzae* strains for use in food industry as starters and enzyme producing molds, *Ann. Nutr. Alim.*, **31**, 617-624. Alınmıştır: Dorner, J.W., 2002. Recent advances in analytical methodology for cyclopiazonic acid, in *Mycotoxins and Food Safety*, pp. 107-116, Eds. DeVries, J.W. Trucksess, M.W. and Jackson, L.S., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Özay, G. ve Alperden, I., 1991. Aflatoxin and ochratoxin-A contamination of dried figs (*Ficus carina* L.) from the 1988 crop, *Mycotoxin Research*, **7**, 85-91. Alınmıştır: Heperkan, D., 2005. Mikotoksinlerin önemi ve Türkiye’de mikotoksin çalışmaları. II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu, İstanbul, 23-24 Mayıs ss. 3-11.

Özay, G., 1989. Kuru incirlerde (*Ficus carina* L.) aflatoksin kontaminasyonu, *Gıdalarda Küfler ve Mikotoksinler Sempozyumu*, İstanbul, 12-13 Aralık.

- Özay, G., Aran, N. ve Pala, M.,** 1995. Influence of harvesting and drying techniques on microflora and mycotoxin contamination of figs, *Die Nahrung*, **39**, 156-165.
- Özden, Ç.,** 2005. Kuru incir, T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi, Ankara.
- Pinto, V.F., Patriarca, A., Locani, O., and Vaamonde, G.,** 2001. Natural co-occurrence of aflatoxin and cyclopiazonic acid in peanuts grown in Argentina, *Food Additives and Contaminants*, **18**, 1017-1020.
- Pitt, J.I., and Hocking, A.D.,** 1997. Fungi and Food Spoilage, 2nd Ed., Blackie Academic & Professional, Londra, UK.
- Pitt, J.I., Cruickshank, R.H., and Leistner, L.,** 1986. *Penicillium commune*, *P.camembertii*, the origin of white cheese moulds, and the production of cyclopiazonic acid, *Food Microbiology*, **3**, 363-371. Alınmıştır: Dorner, J.W., 2002. Recent advances in analytical methodology for cyclopiazonic acid, in *Mycotoxins and Food Safety*, pp. 107-116, Eds. DeVries, J.W. Trucksess, M.W. and Jackson, L.S., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Prasongsidh, B.C., Kailasapathy, K., Skurray, G.R., and Bryden, W.L.,** 1997. Stability of cyclopiazonic acid during storage and processing of milk, *Food Research International*, **30**, 793-798.
- Prasongsidh, B.C., Kailasapathy, K., Skurray, G.R., and Bryden, W.L.,** 1998a. Behaviour of cyclopiazonic acid during the manufacture and storage of yogurt, *Australian Journal of Dairy Technology*, **53**, 152-155.
- Prasongsidh, B.C., Kailasapathy, K., Skurray, G.R., and Bryden, W.L.,** 1998b. Analysis of cyclopiazonic acid in milk by capillary electrophoresis, *Food Chemistry*, **61**, 515-519.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C., and Filtenborg, O.,** 2004. Introduction to food- and airborne fungi, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Netherlands.
- Scott, P.M.,** 1990. Natural poisons, in *AOAC Official Methods of Analysis*, pp. 1184-1213, Ed. Helrich, K., The Association, Arlington.
- Shapira, R., and Paster, N.,** 2004. Control of mycotoxins in storage and techniques for their decontamination, in *Mycotoxins in Food Detection and Control*, pp.190-223 Eds. Magan, N. and Olsen, M., Woodhead Publishing, England.
- Smith, J.E.,** 2001. Mycotoxins, in *Food Chemical Safety Volume 1: Contaminants*, Ed. Watson, D.H. Woodhead Publishing, England.
- Şenyuva, H.Z., Gilbert, J., Özcan, S. ve Ülken, U.,** 2005. Survey for co-occurrence of ochratoxin A and aflatoxin B₁ in dried figs in Turkey by using a single laboratory-validated alkaline extraction method for ochratoxin A, *Journal of Food Protection*, **68**, 1512-1515.
- Trucksess, M.W., and Pohland, A.E.,** 2000. Mycotoxin Protocols, Humana Press, Totowa, N.J.
- Trucksess, M.W., Mislivec, P.B., Young, K., Bruce, V.R., and Page, S.W.,** 1987. Cyclopiazonic acid production by cultures of *Aspergillus* and *Penicillium* species

isolated from dried beans, corn meal, macaroni, and pecans, *Journal of AOAC*, **70**, 123-126.

TS-541, 2002. Kuru incir, *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.

Tuğ, Y., 2002. Kuru incir raporu, T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Araştırma Planlama ve Koordinasyon Kurulu Başkanlığı, Ankara.

Tunail, N., 2000. Mikrobiyal enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.

Türk Gıda Kodeksi, 2002. Gıda maddelerinde belirli bulaşanların maksimum seviyelerinin belirlenmesi hakkında tebliğ. *Resmi gazete*, No: 2002/63, 23.09.2002&16.10.2002.

Urano, T., Trucksess, M.W., Beaver, R.W., Wilson, D.M., Dorner, J.W., and Dowell, F.E., 1992a. Co-occurrence of cyclopiazonic acid and aflatoxins in corn and peanuts, *Journal of AOAC International*, **75**, 838-841.

Urano, T., Trucksess, M.W., Matusik, J., and Dorner, J.W., 1992b. Liquid chromatographic determination of cyclopiazonic acid in corn and peanuts, *Journal of AOAC International*, **75**, 319-322.

Vaamonde, G., Patriarca, A., and Pinto, V.F., 2006. Effect of water activity and temperature on production of aflatoxin and cyclopiazonic acid by *Aspergillus flavus* in peanuts, in *Advances in Food Mycology*, pp. 225-35, Eds. Hocking, A.D., Pitt, J.I., Samson, R.A., and Thrane, U., Springer, New York.

Vaamonde, G., Patriarca, A., Pinto, V.F., Comerio, R., and Degrossi, C., 2003. Variability of aflatoxin and cyclopiazonic acid production by *Aspergillus section flavi* from different substrates in Argentina, *International Journal of Food Microbiology*, **88**, 79-84.

Van Egmond, H.P., and Jonker, H.P., 2004. Current regulations governing mycotoxin limits in food in *Mycotoxins in Food Detection and Control*, Eds. N. Magan and M. Olsen, Woodhead Publishing, ss. 49-68.

Van Egmond, H.P., and Jonker, H.P., 2006. Regulations for mycotoxins in food: focus on the European Union and Turkey, *Ari Special Issue*, **54**, 1-17.

Var, I., Evliya, B., Zorlugenç, B. ve Duman, A.D., 2001. Kuru incirlerde küf izolasyonu ve tanımlanması ve aflatoxin belirlenmesi, *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **16**, 61-66.

Vinson, J.A., 1999. The functional food properties of figs, *Cereal Foods World*, **44**, 82-87.

Wilson, M.E., Hagler, W.M., Jr., Ort, J.F., Brake, J.T., Cullen, J.M., and Cole, R.J., 1986. Acute and subacute effects of cyclopiazonic acid in broiler chickens, *Poultry Science*, **65**, 145. Alınmıştır: Dorner, J.W., 2002. Recent advances in analytical methodology for cyclopiazonic acid, in *Mycotoxins and Food Safety*, pp. 107-116, Eds. DeVries, J.W. Trucksess, M.W. and Jackson, L.S., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Wood, G.E., Trucksess, M.W., and Henry, S.H., 2003. Major fungal toxins of regulatory concern, in *International Handbook of Foodborne Pathogens*, Eds. Miliotis, M.D., and Bier, J.W. Marcel Dekker, New York.

Yu, W., and Chu, F.S., 1998. Improved direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay for cyclopiazonic acid in corn, peanuts, and mixed feed, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 1012-1017.

Yu, W., Dorner, J.W., and Chu, F.S., 1998. Immunoaffinity column as cleanup tool for a direct competitive enzyme-linked immunosorbent assay of cyclopiazonic acid in corn, peanuts, and mixed feed, *Journal of AOAC International*, **81**, 1169-1175.

Zambonin, C.G., Monaci, L., and Aresta, A., 2001. Determination of cyclopiazonic acid in cheese samples using solid-phase microextraction and high performance liquid chromatography, *Food Chemistry*, **75**, 249-254.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında İstanbul’da doğdu. 1999 yılında Kabataş Erkek Lisesi’nden mezun oldu. 1999-2004 yılları arasında İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü’nde yüksek öğrenimini başarıyla tamamladı. Aynı yıl Gıda Mühendisliği Bölümü’nde yüksek lisans öğrenimine başladı.