

TAHİL ve KURUBAKLAGİLLERİN PİŞİRİLME YÖNTEMLERİNİN AFLATOKSİN B₁ ve OKRATOKSİN A'nın DAYANIKLILIĞI ÜZERİNE ETKİSİ*

Yrd.Doç.Dr. Muhittin TAYFUR** / Dyt. Eda EREL*** /
Dyt. Gülderen KARABÜK***

Tahıl ve kurubaklagillere 19.1 µg aflatoksin B₁, 38.2 µg okratoksin A eklenmiş, değişik şekillerde pişirilmişlerdir. Pişirme sonucu besinlerde kalan toksin miktarları İTK ile belirlenmiştir. Buna göre aflatoksin B₁ en fazla kayba % 38.7 ile patlamış mısırdaki, % 30.4 ile de kurufasulyenin pişirilmesi sırasında uğuramıştır. Buna karşın en az aflatoksin B₁ kaybı % 4.7 ile kısırdaki bulunmuştur. Okratoksin A'nın en fazla kaybı kurufasulyenin pişirilmesi sırasında % 41.9 olmuş, bunu kavru olarak yapılmış pirinç pilavındaki % 38.5'lik kayıp izlemiştir. Okratoksin A'nın en az kaybı ise kısır yapımı sırasında % 8.4 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre besinlere uygulanan pişirme işlemleriyle risk etkenleri olan aflatoksin B₁ ve okratoksin A'nın önemli bir miktarı parçalanmadan kalabilmektedir.

GİRİŞ

Mikotoksinler küflerin toksik metabolitleridir. Aflatoksin B₁, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*un karsinojenik metabolitleridir. Aflatoksin B₁ 1960 yılında küf kaynaklı toksik metabolit ve karaciğer kanser etkeni olarak dikkat çekmiş ve çeşitli besinlerde gelişebildiği belirlenmiştir (1-3).

* 1994 Ayşe Baysal ödülünü almıştır.

** H.Ü. Beslenme ve Diyetetik Bölümü Öğretim Üyesi

*** Diyetisyen

Okratoksin A, 1965 yılında *Aspergillus ochraceus* türü küfün ikincil toksik metaboliti olarak keşfedilmiştir (4). Daha sonraları *A. ochraceus* grubu diğer türlerin ve bazı *Penicillium* türlerinde okratoksin A ürettikleri belirlenmiştir (5). Okratoksin A'nın karaciğer, lenf dokusu ve böbrek bozukluklarına neden olduğu gösterilmiştir (6). Balkan ülkelerinde görülen Balkan Endemik Nefropatisinden okratoksin A'nın sorumlu olabileceği düşünülmektedir (7). Çeşitli araştırma sonuçları Okratoksin A'nın tahıllar, kurufasulye ve diğer besinlerde üreyebildiğini ortaya koymuştur (8-10).

ARAŞTIRMA YÖNTEMİ ve ARAÇLARI

Bu çalışma bulgur pilavı, pirinç pilavı, kısır, kurufasulye, kuru nohut, mercimek ve patlamış mısırdaki pişirme ısısının aflatoksin B₁ ve okratoksin A'nın dayanıklılığı üzerine etkisini deneysel olarak saptamak amacıyla yapılmıştır.

Besin örnekleri 50 g olarak alınmış hazırlama aşamasında toksinler eklenmiş, pişirme ısıları besinlerin pişirildiği alüminyum tencere içine spor yardımı ile yerleştirilen termometre ile belirlenmiştir. Her uygulama için pişirme süresi ayrı ayrı belirlenmiştir. Besin örnekleri pişirildikten sonra soğumaları beklenmiş, örnekler homojenize edildikten sonra aflatoksin B₁ ve okratoksin A miktarları AOAC'ın (11) yöntemi ile belirlenmiştir.

Bulgur ve pirinç örnekleri bir yemek kaşığı margarin ile sararana kadar kavrulduktan sonra pişirilmiştir. Kurubaklagil örneklerine 150 ml su ile toksinler eklenerek bir gece 14 saat süre ile bekletilmişler, sonra taneler iyice yumuşayana kadar pişirilmişlerdir. Kurubaklagillerin pişirilmeleri sırasında 50-300 mL ısı 50°C olan sıcak su eklenmiştir. Mısır örnekleri ise bir yemek kaşığı bitkisel sıvı yağda taneler patlayana kadar pişirilmiştir.

Örneklerin hazırlanması ve pişirilmesi sırasında aflatoksin B₁ 19.1 µg, okratoksin A ise 38.2 µg olarak çözelti halinde eklenmişlerdir. Pişirilen besin örnekleri ve yapılan işlemler Tablo 1'de özetlenmiştir.

Çalışmada kullanılan aflatoksin B₁ standardı 0.5 µg/mL benzenasetonitril (98+2, v/v) de hazırlanmıştır. Okratoksin A standardı ise 10 µg/mL konsantrasyonda benzenasetik asit (99+1 v/v) de çözülerek hazırlanmıştır.

Tablo 1: Tahıl ve Kurubaklagillere Uygulanan İşlemler

Besin	Besin Miktarı (g)	Piştirme Suyu (ml)	Suyun Kaynama Isısı (°C)	Suyun Kaynama Süresi (dk)	Piştirme Sırasında Eklenen Su miktarı(ml)	Piştirme Süresi (dk)
A) Aflatoksin B1 için:						
Bulgur	50	150	60	3	-	13
Bulgur (kavrularak)	50	150	-	-	-	7
Kısrır	50	75	76	-	-	5
Pirinç	50	100	-	-	-	9
Pirinç (kavrularak)	50	100	-	-	-	5
K.Fasulye	50	150	81	3	300	22
K.Nohut	50	150	86	3	200	23
Mercimek	50	150	65	1	50	10
Patlamış Mısır	50	-	-	-	-	6
B) Okratoksin A İçin:						
Bulgur	50	150	60	3	-	13
Bulgur(kavrularak)	50	150	63	2.5	-	7
Kısrır	50	75	84	0.5	-	9
Pirinç	50	100	74	3	-	9
Pirinç (kavrularak)	50	100	75	1	-	8
K.Fasulye	50	150	75	2	300	33
K.Nohut	50	150	59	2	200	33
Mercimek	50	150	74	2	65	9
Patlamış Mısır	50	-	-	-	-	4

Piştirme işlemlerinden sonra örnekler kolon kromatografisi ile temizlenmiş, ince tabaka kromatografisi (İTK) ile toksin miktarları belirlenmiştir. Aflatoksin B₁ ve okratoksin A miktarları aşağıdaki hesaplama ile bulunmuştur (12).

$$\mu\text{g} = \frac{\text{Ps} \times \text{Vs} \times \text{V}_2 \times \text{V}_4}{\text{V}_1 \times \text{V}_3 \times \text{M}}$$

Burada:

Ps : Standart toksin konsantrasyonu (µg/mL)

Vs : Örnekle çakışan standart hacmi (µL)

V₂ : Örnek ekstraktının son seyreltilen hacmi (µL)

- V_4 : Ekstraksiyonda kullanılan kloroform (mL)
 V_1 : Standart floresanına uyan örnek miktarı (μ L)
 V_3 : Kolona verilen kloroform ekstraktı (mL)
 M : Örnek ağırlık (g)

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada besinlere 19.1 μ g aflatoksin B₁, 38.2 μ g okratoksin A eklenerek pişirilmiş, besinler pişirildikten sonra belirlenen toksin miktarları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2: Tahıllar ve Kurubaklagillerde Pişirmeden Sonra Belirlenen Toksin Miktarları

Besinler	Aflatoksin B ₁ (μ g)			OkratoksinA(μ g)		
	Eklene	Belirlene	% Kayıp	Eklene	Belirlene	% Kayıp
Bulgur	19.1	14.2	25.7	38.2	26.3	31.2
Bulgur (kavurma)	19.1	18	5.8	38.2	29.4	23
Kısır	19.1	18.2	4.7	38.2	35	8.4
Pirinç	19.1	15	21.5	38.2	30	21.5
Pirinç (kavurma)	19.1	16.7	12.6	38.2	23.5	38.5
K.Fasulye	19.1	13.3	30.4	38.2	22.2	41.9
K.Nohut	19.1	16	16.2	38.2	25	34.6
Mercimek	19.1	18	5.8	38.2	28.6	25.1
Patlamış Mısır	19.1	11.7	38.7	38.2	26.7	30.1

Bu sonuçlara göre aflatoksin B₁ eklenerek pişirme sonucu en fazla kayıp patlamış mısırdadır. Eklene 19.1 μ g dan 11.7 μ g aflatoksin B₁ kaldığı belirlenmiştir. Kayıp oranı % 38.7'dir. Patlamış mısırı % 30.2'lik kayıp ile kurufasulye izlemiştir. En az aflatoksin B₁ kaybı ise % 4.7 ile kısırdadır bulunmuştur. Aynı uygulamalar 38.2 μ g okratoksin A eklenerek tekrarlandığında ise en fazla okratoksin A kaybı % 41.9 ile kurufasulyenin pişirilmesi sırasında olurken, pirinç pilavı yapımı sırasında pirinç sararana kadar kavrulup pişirme suyu çektirilip pirinç pilavı yapıldığında okratoksin A kaybı % 38.5 olmuştur. En az okratoksin A kaybı ise % 8.4 ile kısırdadır olmuştur. Kısır kaynar sıcak suyun bulgura eklenmesi ile

bulgurun yarı çiğ halde tüketim şeklidir ve ülkemizde yaygın olarak kullanılmaktadır. Aflatoksin B₁ ve okratoksin A'nın en az kayba uğradığı bir besin hazırlama şekli olması ile dikkat çekmektedir.

Kahve taneleri 200°C'de 12 dakika kavrulduğu zaman eklenen aflatoksin B₁'in % 79'u, kavurma süresi 15 dakikaya çıkarıldığında ise % 94'ü parçalanmıştır (13). Bu sonuçlar bizim bir yemek kaşığı sıvı yağda kavru olarak patlatılan mısır örneğine uymaktadır. Bir başka çalışmada ise mısır 145-165°C'de kavrulduğu zaman aflatoksin B₁ miktarında % 40-80 kayıp gözlenmiştir (14).

Su ile pişirmede aflatoksinin parçalanması artmaktadır (15). Pişirme suyunun artması ile aflatoksin B₁ kaybının % 34-53 arttığı belirlenmiştir (16). Bizim uygulamamızda kurufasulye ve nohuta sırası ile 300 ve 200 ml su eklenerek pişirilmişler, aflatoksin B₁ miktarında da kurufasulyede % 30.4, nohutta ise % 16.2'lik bir kayıp belirlenmiştir. Bu kayıp miktarının artmasında pişirme süresi de büyük bir etkidir.

Çalışmamızda okratoksin A kaybı, aflatoksin B₁'e göre daha fazla olmuştur. Okratoksin A kaybı en fazla % 41.9 ile fasulyede, sonra % 38.5 ile nohutta gerçekleşmiştir. En az okratoksin A kaybı ise % 8.4 ile kısırda bulunmuştur. Okratoksin A, aflatoksin B₁ gibi kuru ısıya dayanıklı değildir (15). Bu özelliğine bağlı olarak kayıp oranı da artmaktadır. El-Banna ve Scott (17), fasulye ve buğdaya 125 ng/g kristal toksin eklemiş ve suda pişirmişler, fasulyede eklenen okratoksin A'nın % 16-20'si, buğdayda ise ortalama % 6'sının pişirmeden sonra parçalandığını belirlemiştir.

Trenk ve arkadaşları (18) yulaf unu ve pirince okratoksin A eklemişler otoklavda susuz olarak 3 saat pişirmişler, eklenen okratoksinin sırası ile % 87.5 ve % 86 oranında kayba uğradığını belirlemiştir. Aynı işlem % 50 su varlığında tekrarlanınca toksin kaybı % 74 ve % 68.5 olarak gerçekleşmiştir. Su miktarında artışla birlikte besinlerdeki okratoksin A'nın daha dayanıklı olabileceği düşünülmektedir (15, 18).

Mikotoksinlerin besinlerin işlenmesi ve pişirilmesi sırasında parçalanma ürünleri üzerinde çok az bilgi vardır. Besinlerin işlenmesi ve pişirilmesinin mikotoksinler üzerindeki etkileri belirlenebilirse diyetle mikotoksinlerin alımı da ölçülebilir. Besinleri hazırlama ve pişirme alışkanlıklarımıza göre, bu çalışmada uygulanan model pişirme yöntemiyle toksinlerin parçalanma miktarı çok düşüktür. Çünkü deneysel koşullarımızda toksinler çözelti halinde eklenerek dayanıklılık durumları incelenmiştir. Kristal

haldeki toksinler daha dayanıklı olup daha yüksek ısılarda parçalanmaya başlamaktadır (19).

Mikotoksinlerin üremesi bölgeden bölgeye, yıldan yıla, hasat koşullarına ve ekolojik etkenlerin yönlendirmesine göre değişmektedir (20). Ülkemizde tahıllar beslenmemiz açısından önemli bir yer tutarlar. Mikotoksin üreten küflerden gerektiği gibi korunamazlarsa kontaminasyon kaçınılmazdır. Aflatoxin B₁'in karsinojenik, okratoksin A'nın nefrotoksik etkili ve yüksek ısılara dayanıklı olduğu, bulgur ve pirinç pilavını sık tüketme durumumuz, hele kısır gibi yarı çığ besinde hiç parçalanmadıkları dikkate alınırsa kişi ve toplum sağlığı açısından karşılaşılabileceğimiz sorunun ne kadar önemli olduğu ortadadır. Bu çalışmada göstermiştir ki besinlere uygulanan pişirme işlemleri ile kontamine ürünler risk etkenlerini koruyabilmektedirler. Bu durumda en iyi korunma yöntemi toksin oluşumu önlemektir.

SUMMARY

EFFECTS OF COOKING METHODS OF WHEAT AND LEGUMES ON AFLATOXIN B₁ AND OCHRATOXIN A STABILITY

Tayfur, M., Erel, E., Karabük, G.

Aflatoxin B₁ 19.1 µg and ochratoxin A 38.2 µg were added before cooking raw wheat and dry legumes. Determinations were made thin layer chromatography (TLC). Destruction of aflatoxin B₁ are found during cooking roasted corn 38.7%, and during cooking dry bean 30.4, whereas only 4.7% of the toxin added was destroyed after preparing of kısır. Destruction of ochratoxin A are found during cooking dry bean, roasted rice pilav 41.9% and 38.5% respectively. Whereas only 8.4 of the ochratoxin A added was destroyed after preparing of kısır. This would indicate that destruction of aflatoxin B₁ and ochratoxin A by processing into such food products is not possible and the best protection would be to prevent toxin formation.

KAYNAKLAR

1. Allcroft, R., Carnaghan, RBA.: A Toxic Factor in Brazillian Roundrunt Meal. Vet. Rec. 73:428-429, 1961.
2. Shotwell, O.L., Hesseltine, C.W., Burmeister, H.R. Kwolek, W.F., Shannon, M., Hall, H.H.: Survey of Cereal Grains and Soybeans for the Presence of Aflatoxin. I. Wheat, Grain Sorghum and Oats. Cereal Chem. 46:446-454, 1969.

3. Mislivec, P.B., Dieter, C.T., Bruce, V.R.: Effect of Temperature and Relative Humidity on Spore Germination of Mycotoxic Species of *Aspergillus* and *Penicillium*. *Mycologia*, 67:1187-1189, 1975.
4. Van der Merwe, K.J., Steyn, P.S., Fourie, L.: Mycotoxins, Part II. The Constitution of Ochratoxins A, B and C Metabolites of *Aspergillus ochraceus* wilh. *J. Chem. Soc.* pp. 7083-7088, 1965.
5. Krogh, P.: Ochratoxins In Mycotoxins in Human and Animal Health, Rodricks, V.J., Hesseltine, C.W., and Mehلمان, A.M. (eds). Pathotox Publishers Inc., Park Forest, South Illinois, pp.489-498, 1977.
6. Harwig, J., Kuiper-Goodman, T., Scott, P.M.: Microbial Food Toxicants: Ochratoxins, pp.193-238. In M. Rechcigl Jr (ed.) CRC Handbook of Foodborne Diseases of Biological Origin. CRC Press. Inc., Boca Raton, FL, 1983.
7. Bocharova, T.P., Chernozemsky, I.N., Castegnaro, M.: Ochratoxin A in Human Blood in Relation to Balkan Endemic Nephropathy and Urinary System Tumours in Bulgaria. *Food Addit and Contam.* 5:299-301. 1988.
8. Chelkowski, J., Golinski, P., Szebiotko, K.: Mycotoxins in Cereal Grain Part II. The Fate of Ochratoxin A After Processing of Wheat and Barley Grain. *Nahrung* 25: 423-426, 1981.
9. Scott, P.M., Walbeek, W., Kennedy, B., Anyeti, D.:Mycotoxins (Ochratoxin A, Citrinin and Sterigmatocystin) and Toxicogenic Fungi in Grains and Other Agricultural Products. *J. Agr. Food Chem* 20:1103-1109, 1972.
10. Levi, C.P., Trenk, H.L., Mohr, H.K.: Study of the Occurrence of Ochratoxin A in Green Coffee Beans. *J. Assoc. Off. Anal. Chem* 57:866-870, 1974.
11. Anon.: Natural Poisons, Chapter 26. In: Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, Williams, S., (ed), Fourteenth edition, Virginia, 1984.
12. Mehdevi, R.: Tüketim Aşamasında Pirinçte Küflenme ve Okratoksin A Oluşumu Üzerine Bir Araştırma. Hacettepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Programı Bilim Uzmanlığı Tezi, Ankara, 1986.
13. Levi, C: Mycotoxins in Coffee. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 63:1282-1285, 1980.
14. Conway, H.F., Anderson, R.A., Bagiey, E.B.: Detoxification of Aflatoxin-Contaminated Corn by Roasting. *Cereal Chem.* 55:115-117, 1978.
15. Scott, P.M.: Effects of Food Processing on Mycotoxins. *J. Food Protection* 47 (6):489-499, 1984.
16. Stoloff, L., Trucksess, M.W.: Effect of Boiling, Frying and Baking on Recovery of Aflatoxin From Naturally Contaminated Corn Grits or Cornmeal. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 64:678-680, 1981.
17. El Banna, A.A., Scott, P.M.: Fate of Mycotoxins During Processing of Foodstuffs III. Ochratoxin A During Cooking of Faba Beans (*Vicia faba*) and Polished Wheat. *J. Food Protection* 47(3): 189-192, 1984.
18. Trenk, H.L., Butz, M.E., Chu, F.S.: Production of Ochratoxins in Different Cereal Products by *Aspergillus ochraceus*. *Appl. Microbiol.* 21:1032-1035, 1971.
19. Anon.: WHO-Environmental Health Criteria. II Mycotoxins, World Health Organisation, Geneva, 1979.

20. Sinha, R.N., Abramson, D., Mills, J.L.: Interrelations Among Ecological Variables in Stored Cereals and Associations with Mycotoxin Production in the Climatic Zones of Western Canada. *J. Food Protection*, 49:608-614, 1986.