

Erzurum Piyasasında Satılan Yerfıstığı, Antepfıstığı ve Bademlerin Aflatoksin B₁ Kontaminasyonu Bakımından İncelenmesi

Mustafa Gürses

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 25240, Erzurum (mgurses@atauni.edu.tr)

Ahmet Erdoğan

Atatürk Üniversitesi, Hınıs Meslek Yüksekokulu, Erzurum

Geliş Tarihi : 12.08.2003

ÖZET: Bu çalışmada, Erzurum piyasasından temin edilen 22 yerfıstığı, 13 Antepfıstığı ve 9 badem numunesi aflatoksin B₁ kontaminasyonu bakımından analiz edilmiştir. İnce tabaka kromatografisi (ITK) yöntemi ile incelenen yerfıstığı örneklerinin 5'inde (%22,7); Antepfıstığı örneklerinin 3'ünde (%23,1) ve badem örneklerinin 2'sinde (%22,2) aflatoksin B₁'e rastlanmıştır. Tüm örneklerde (44) aflatoksin B₁ miktarı 1,1-11,3 ppb arasında değişmiştir. En yüksek aflatoksin B₁ miktarı 11,3 ppb ile bir yerfıstığı örneğinde belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, kontamine örneklerin genel olarak insan sağlığı açısından risk oluşturmayacak seviyede aflatoksin içerdikleri belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin, Yerfıstığı, Antepfıstığı, İnce tabaka kromatografisi

The Study for Aflatoxin B₁ Contamination of Groundnuts, Pistachios and Almonds Sold in Erzurum

ABSTRACT : In this research, 22 groundnut, 13 pistachio and 9 almond samples collected from retail market in Erzurum were analyzed for aflatoxin B₁ using thin layer chromatography (TLC) method. It was determined that 5 (22.7%) of groundnut samples, 3 (23.1%) of pistachio samples and 2 (22.2%) of almond samples contained aflatoxin B₁. The presence of aflatoxin B₁ was detected in concentrations ranging between 1.1 and 11.3 ppb of dry fruits. The highest-level of aflatoxin B₁ (11.3 ppb) was determined in a sample of groundnuts. It was determined that the aflatoxin is found in low levels in the contaminated samples.

Keywords: Aflatoxin, Groundnut, Pistachio, Thin layer chromatography

GİRİŞ

Küfler üzerlerinde üredikleri gıda maddelerinde kalite düşüklüğüne sebep olmalarının yanı sıra, salgıladıkları bazı toksik metabolitleri de bulaştırmaktadır. Küflerin ürettikleri bu toksik metabolitlere mikotoksin denilmektedir. Mikotoksinler ile bulaşmış olan gıdaların insanlar ve hayvanlar tarafından tüketilmesi sonucu mikotoksikozis denilen hastalıklar ve hatta ölümlerle sonuçlanan zehirlenmeler meydana gelebilmektedir (Çoksöyler ve Çakmakçı, 1988; Richard vd., 1993; Gürses, 1997; Gürses vd., 2001).

Mikotoksinler içerisinde önem bakımından ilk sırayı *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) ve *A. parasiticus* türü küflerin oluşturduğu aflatoksinler almaktadır. Şimdiye kadar izole edilen çok sayıda küf metabolitinden biri olan aflatoksinlerin normal gıda işleme şartlarına dayanıklılık yanında yüksek toksisite ve karsinojeniteye sahip olduğu ifade edilmektedir (El-Nabarawy vd., 1989; Gourama ve Bullerman, 1995).

Esas itibarıyla küflenmiş gıdalarda görülmekle beraber, direkt insan tüketimine sunulan gıdalarda da aflatoksin oluşabilmekte ve çeşitli ayıklama ve işleme yöntemleri bunları tamamen ortadan kaldıramamaktadır. Diğer taraftan, hayvan yemlerine bulaşan aflatoksinler azda olsa et, süt ve yumurta gibi gıdalara geçerek insan sağlığını tehdit edebilmektedir (Çoksöyler, 1984). Bahsedilen bu nedenlerden dolayı bir çok ülke aflatoksin oluşumuna hassas olan bir çok üründe bulunabilecek

aflatoksin seviyesi ile ilgili maksimum sınırlar belirlemiştir. Uluslararası ticaret dahilinde olan yerfıstığı, fındık, antepfıstığı ve badem gibi ürünlerde bu sınır ülkeden ülkeye değişmekle beraber 5-50 ppb arasında değişmektedir (Anon., 1993). Türkiye'de bu sınırlamalar nedeniyle ilk olarak 1967'de Kanada'ya ihraç edilen 10 ton fındık partisinin aflatoksinli olması gerekçesiyle geri çevrilmesi durumu ile karşı karşıya gelmiş ve bu olaydan sonra günümüze kadar çeşitli ürünlerde aflatoksinler üzerinde çalışılmıştır (Gönül ve Boyacıoğlu, 1985).

Aflatoksin oluşumuna hassas olarak kabul edilen yerfıstığı, fındık ve badem gibi kabuklu-kuru meyvelerin *Aspergillus* cinsi küfler tarafından enfeksiyonu zaman zaman bahçede meydana gelmekle beraber, esas itibarıyla işlenmeleri ve depolanmaları sırasında gerçekleşmektedir. Bu nedenle ürüne hasattan sonra küf kontaminasyonunu ve gelişimini engelleyici tedbirlerin alınması büyük önem taşımaktadır (Özkaya ve Çoksöyler, 1988).

Ülkemizde çokça tüketilen ve çerez olarak ifade edilen bu gibi ürünler aflatoksin analizi yapılmadan, çoğunlukla ambalajsız olarak iç piyasaya sunulmakta ve sağlık açısından büyük bir risk olmaktadır. Bu nedenle, çalışmamızda bölgemizde de tüketimi oldukça yaygın olan bazı kuru meyve çeşitleri (yerfıstığı, Antepfıstığı ve badem) aflatoksin içeriği yönünden analiz edilmiştir.

MATEYAL ve METOT

Materyal

Çalışmada, 2001 yılı içerisinde Erzurum piyasasından değişik market ve kuru yemişçilerden temin edilen 22 yerfıstığı ve 13 Antepfıstığı ve 9 badem örneği materyal olarak kullanılmıştır. Aflatoksin standartları B₁ standardı "Food and Drug Administration, Washington, D. C. 2024, USA" adresinden temin edilmiştir. Çalışma iki paralelli olarak yürütülmüş ve sonuçlar paralellerin ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

Metot

Aflatoksin analizinde Majerus ve Zakaria (1992) tarafından önerilen aflatoksin analiz yöntemi kullanılmıştır. Numuneler başlangıçta bir Waring blender içerisinde parçalanıp, analiz için 25'er g örnek alınmıştır. Daha sonra 100 ml metanol/su (85/15) karışımı ile mekanik karıştırıcıda (Elektro-meg M 22) 30 dk kuvvetlice çalkalanan örnekler süzgeç kâğıdından süzülerek 50 ml ekstrakt alınmış ve 250 ml'lik bir ayırma hunisine aktarılmıştır. Üzerine 50 ml %10'luk NaCl çözeltisi ve 25 ml hekzan ilave edilip 1 dk çalkalandıktan sonra alt faz atılmış ve aflatoksinler üst fazdan 25 ml'lik iki kısım halinde metilen diklorid çözücüsü içerisinde alınmıştır. Metilen diklorür fazı, üzerinde yaklaşık 5 g susuz sodyum sülfat bulunan Whatman No 1 filtre kâğıdından 100 ml'lik bir balona süzülerek Heidolph-5111 marka bir evaporatörle kuruyuncaya kadar buharlaştırılmıştır.

Evaporasyon sonucunda elde edilen ekstrakt, içerisine sırasıyla 0,5 g susuz sodyum sülfat, 0,5 g deaktive edilmiş silika jel 60 (Merck, No 7734) ve 0,5 g susuz sodyum sülfat doldurulan 150x10 mm boyutlarındaki cam kolonlardan geçirilerek aflatoksinler iki kısım halinde 3 ml kloroform/aseton (90/10) karışımı ile elüe edilmiştir. Elde edilen elüat döner buharlaştırıcıda evapore edilmiş ve ince tabaka kromatografisi için 1 ml metilen diklorür çözücüsü içerisinde çözdürülmüştür. İnce tabaka kromatografisinde Aldrich (Cat No. Z 12, 277-7) marka, genel amaçlı ve polyester film üzerine silika jel kaplı 20x20 cm ebadında hazır plakalar kullanılmıştır. Ayrıca, Anon. (1975)'da belirtilen yöntemle Shimadzu UV-160 marka bir spektrofotometre kullanılarak aflatoksin B₁'in metilen diklorid içerisinde 1 µg/ml'lik standart çözeltisi hazırlanmıştır.

Aflatoksin B₁ standardı ve örnek ekstraktları Hamilton marka bir mikroripet ile İTK plakasına tatbik edilmiştir. Plakalar, ilk önce bir geliştirme tankı içerisinde dietileter ile birinci yönde ve daha sonra kurutulup 180° döndürülerek kloroform/aseton (90/10) karışımı ile ikinci yönde geliştirme işlemine bırakılmıştır. Geliştirme işlemi sonrasında karanlıkta kurutulan plakalar UV lambası altında incelenmiş,

aflatoksin B₁ standardı ile aynı R_f değerinde, mavi lekeler aranmış ve bu lekelerin aflatoksin olup olmadığı üzerlerine %25'lik sülfirik asit püskürtülerek doğrulanmıştır. Püskürtme işlemi sonucunda sarıya dönen lekelerin aflatoksin pozitif olduğu kabul edilmiştir (Sert, 1984). Aflatoksin B₁ miktarı Anon. (1975)'da belirtildiği gibi (Aflatoksin konsantrasyonu = $SxYxV / WxZ$ (S: Bilinmeyene eşdeğer aflatoksin standardı (µl), Y: Aflatoksin standardının konsantrasyonu (µg/ml), V: Örnek ekstraktının son seyreltildiği hacim (µl), W: Son ekstrakta eşdeğer örnek miktarı (g), Z: Plakada aflatoksin miktarına eşit floresans veren örnek miktarı (µl)) formülü kullanılarak µg/kg cinsinden hesaplanmış ve sonuçlar ppb şeklinde verilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmada, Erzurum ilinde bazı market ve kuru yemişçilerde satışa sunulan 22 yerfıstığı, 13 Antepfıstığı ve 9 badem örneği olmak üzere toplam 44 adet örnek toplanmış ve plastik torbalar içerisinde kısa sürede laboratuvara getirilmiştir. Analize tabi tutulan örneklerde belirlenen aflatoksin B₁ miktarları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1'den de görüleceği gibi 22 yerfıstığı örneğinin 5'inde (%22,7) aflatoksin B₁'e rastlanmıştır. Bu 5 örnekte belirlenen aflatoksin B₁ miktarı ise 1,2-11,3 µg/kg (ppb) arasında değişmiştir. Antepfıstığı örneklerinde aflatoksin B₁ 3 (%23,1) örnekte bulunmuş ve miktarı 1,1-1,5 ppb arasında değişmiştir. 9 badem örneğinin ise 2 (%22,2) tanesinde 2,9 ve 4,7 ppb aflatoksine B₁'e rastlanmıştır. Bir yerfıstığı örneğinde belirlenen 11,3 ppb'lik değer Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen 10 ppb'lik sınır değer üzerinde olduğu saptanmıştır (Anon., 2001). Ülkemizde de özellikle yerfıstıklarında çeşitli yıllarda bir çok sörvey çalışması yapılmıştır. Nitekim, yapılan bir çalışmada 371 yerfıstığı örneğinin %21,30'unda kalitatif olarak aflatoksin saptandığı rapor edilmiştir (Anon., 1978). Başka bir çalışmada, 110 adet yağlı tohumdan izole edilen 450 küf izolatının %42'sini toksijenik küflerin oluşturduğu ve depolamada gerekli kuruluk ve diğer şartlar sağlanmadıkça yağlı tohumların ve bunların küspelerinin mikotoksin riski taşıyabileceği ifade edilmiştir (Topal ve Aran, 1987). Çoksöyler (1987)'de İçel yöresine ait 91 yerfıstığı örneğinden 29 adet *A. flavus* izole etmiş ve aflatoksin analizine tabi tuttuğu 40 örneğin 2'sinde 3 ve 20 ppb seviyesinde aflatoksin belirlenmiştir. 1982-1987 ürünü 85 yerfıstığı örneği üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise 1 adet yerfıstığı örneğinde 21,0 ppb ve 1 adet fıstık ezmesinde 2,0 ppb seviyesinde aflatoksin saptanmıştır (Özay ve Alperden, 1989). Aflatoksinlere rastlama oranı ve seviyesi bakımından karşılaştırılma yapıldığında bu çalışmalarda elde edilen sonuçların bizim bulgularımızla benzerlik gösterdiği söylenebilir.

Tablo 1. Yerfıstığı, Antepfıstığı ve Badem Örneklerinde Belirlenen Aflatoksin B₁ Miktarları (ppb)

Kuru Meyve Tipi	Numune Sayısı			Kontaminasyon (ppb)	
	Test Edilen	Negatif	Pozitif	Miktar ^b	Seviye
Yerfıstığı	22	17	5 (%22,7) ^a	4,2	1,2-11,3
Antepfıstığı	13	10	3 (%23,1)	1,3	1,1-1,5
Badem	9	7	2 (%22,2)	3,8	2,9-4,7
Toplam	44	34	10 (%22,7)		1,1-11,3

^a: Pozitif numunelerin yüzdesi, ^b: Pozitif numunelerin ortalama aflatoksin B₁ değeri

Diğer taraftan bir çok ülkede de kuru meyvelerde aflatoksin oluşumu ilgili çok sayıda çalışmaya rastlanılmaktadır. Stoloff (1980), ABD'de 1967-1968 yılları arasında başta fıstık ürünleri olmak üzere çeşitli gıdalarda aflatoksin kontaminasyonundaki değişimleri incelemiş ve çiğ kabuksuz yerfıstığı, tüketime hazır fıstık ürünleri, badem, ceviz, şanfıstığı ve diğer kabuklu-kuru meyvelerin aflatoksin kontaminasyonu bakımından çok hassas ürünler olduğunu bildirmiştir. Dickens ve Welty (1975), Antepfıstıklarında 6-97 ppb arasında değişen oranlarda; Tholstrup ve Rasmussen (1990) 235 örnekten 9 acıbadem numunesinin 6'sında 9,2 ppb ve 8 Antepfıstığı numunesinin 1'inde 1,2 ppb; Scholten ve Spanjer (1996) 29 Antepfıstığı numunesinin 17'sinde (%58) 2-165 ppb arasında değişen oranlarda ve benzer şekilde Abdulkadar vd.. (2000)'de ithal Antepfıstığı örneklerinin kabuksuz olanlarında 8,3-275 ppb ve kabuklu olanlarında ise 1,2-75 ppb arasında değişen oranlarda aflatoksin B₁ bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bizim araştırmamızda ise aflatoksin kontaminasyonunun gerek oransal ve gerekse miktar olarak daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durum ülkemiz açısından sevindiricidir.

Sonuç olarak, çalışmamızda analiz edilen örneklerden biri hariç diğer aflatoksin pozitif olanların sağlık açısından risk oluşturabilecek seviyede aflatoksin B₁ içermediği görülmüştür. Bu da, satışa sunulan yerfıstığı, Antepfıstığı ve badem örneklerinin genel olarak insan sağlığı açısından risk oluşturabilecek kadar yüksek bir aflatoksin seviyesine sahip olmadığını göstermektedir. Ülkemizde özellikle yerfıstıklarında uygulanan sulamalı tarımın, rastlama sıklığı ve kontaminasyon seviyesinin düşük olmasında etkili olduğu söylenebilir. Nitekim, kuraklığın küflü kontaminasyonu ve aflatoksin oluşumu üzerinde etkili olduğu, kuraklık nedeniyle bozulan ve çatlayan tanelerin küfler için nem ve besin kaynağı oluşturduğu ifade edilmektedir (Hill vd., 1983; Özay ve Alperden, 1989).

Diğer taraftan, az miktarda da olsa bazı örneklerde görülen aflatoksin B₁'in tamamen ortadan kaldırılabilmesi için hasat, üretim ve depolama sırasında ürüne aflatoksijenik küf bulaşmasını engelleyici tedbirlerin alınması büyük önem taşımaktadır. Ayrıca, bu tip ürünlerin piyasaya sunulmadan önce aflatoksin

kontaminasyonu bakımından analiz edilmesi tüketici sağlığı ve ekonomik açıdan yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Abdulkadar, A.H.W., Abdulla, A., Jassim, A., 2000. Aflatoxin contamination in edible nuts imported in Qatar. *Food Control*, 11, 157-160.
- Anonymous, 1975. Natural poisons. *Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemists*, pp.462-482, Washington, DC.
- Anonymous, 1978. Fındık, Antepfıstığı ve yerfıstığı mahsullerinde aflatoksin oluşturan etmenler ve oluşumunu etkileyen faktörler ile buna karşı alınacak koruma tedbirlerinin tespiti üzerine araştırmalar. Ankara Bölge Ziraat Mücadele Enstitüsü Yayınları, Teknik Bülten, 41, 154.
- Anonymous, 1993. Technical profile: the quantitative advantage for mycotesting. *World Grain*, October.
- Anonymous, 2001. Mikrobiyal Toksinler (Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (Ek-14)). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Çoksoyler, N., 1984. İçel Yöresinde Yetiştirilen Yerfıstıklarında Aflatoksin Oluşumu Nedenleri Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi. A. Üniv. Fen Bil. Enst., Ankara, 1-30.
- Çoksoyler, N., 1987. İçel yöresinde yetiştirilen yerfıstıklarında aflatoksin oluşumu nedenleri üzerine araştırmalar. TOKB Ankara İl Kontrol Lab. Müd. Yayını, 6, 28.
- Çoksoyler, N., Çakmakçı, L., 1988. Deneysel depolama koşullarında yerfıstığında fungal gelişim. 9. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-23 Eylül 1988, Kongre Kitabı, Sivas, Cilt 1, 173-177.
- Dickens, J.W., Welty, R.E., 1975. Fluorescence in pistachio nuts contaminated with aflatoxins. *J. AOAC*, 52, 448-450.
- El-Nabarawy, A., Hartman, T., Rosen J.D., Montville, T.J., 1989. *Aspergillus parasiticus* accumulates averufin and versicolorin A in the presence of bicarbonate. *J. Food. Prot.*, 52, 493-495.
- Gourama, H., Bullerman, L.B., 1995. *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*: aflatoxigenic fungi of concern in foods and seeds. *J. Food Prot.*, 58, 1395-1404.
- Gönül, M., Boyacıoğlu, D., 1985. Türkiye'de aflatoksin çalışmaları. *Ege Üniv. Müh. Fak. Derg.*, 3, 127-135.
- Gürses, M., 1997. Farklı depolama şartlarının fındıkta aflatoksin oluşumuna etkileri (Yüksek lisans tezi). Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Gürses, M., Erdoğan, A., Türkoğlu, H., Sert, S., 2001. The effects of storage period and relative humidity on Tombul type hazelnut produced in Turkey. *P. J. Biological Sci.*, 4, 858-860.
- Hill, R.A., Blankenship, P.D., Cole, R.J., Sanders, T.H., 1983. Effects of soil moisture and temperature on preharvest invasion of peanuts by the *Aspergillus flavus* group and subsequent aflatoxin development. *Applied and Environ. Microbiol.*, 45, 628-633.
- Majerus, P., Zakaria, Z., 1992. A rapid, sensitive and economic method for the detection, quantification and confirmation of aflatoxins. *Z. Lebensm. Unters Forsch.*, 195, 316-319.

- Özay, G., Alperden, İ., 1989. Türkiye’de yetiştirilen yerfıstıklarında (*Arachis hypogaea L.*) mikotoksinler. *Gıda*, 14, 267-273.
- Özkaya, Ş., Çoksöyler, N. 1988. Sağlam kabuklu fındıkta *Aspergillus flavus*'un penetrasyonu ve toksin oluşumu. 9. Ulusal Biyoloji Kongresi. 21-23 Eylül 1989. Kongre kitabı, Sivas, Cilt 1, 179,182, 183.
- Richard, J.L., Bennet, G.A., Ross, P.F., Nelson, P.E., 1993. Analysis of naturally occurring mycotoxins in feedstuffs and food. *J. Animal Sci.*, 71, 2563-2574.
- Scholten, J.M., Spanjer, M.C., 1996. Determination of aflatoxin B₁ in Pistachio kernels and shells. *J. AOAC*, 79, 1360-1364.
- Sert, S., 1984. Bazı karma yem ve karma yem hammaddelerinin aflatoksin yönünden araştırılması. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 15, 55-63.
- Stoloff, L., 1980. Aflatoxin control past and present. *J. AOAC*, 63, 1067-1073.
- Tholstrup, B., Rasmussen, G., 1990. Aflatoxins in nuts, seed and similar products, 1986-1990. *FSTA*, 23, 121.
- Topal, Ş., Aran, N., 1987. Bazı yağlı tohumlarda küf florası ve taşıdığı riskler. *Ege Üniv. Müh. Fak. Derg.*, 5, 47-60.