

## ERZURUM PİYASASINDA SATILAN YERFİSTİĞİ, ANTEPFİSTİĞİ VE BADEMLERİN AFLATOKSİN YÖNÜNDEN İNCELENMESİ

### THE STUDY FOR AFLATOXIN CONTAMINATION OF GROUNDNUTS, PISTACHIOS AND ALMONDS SOLD IN ERZURUM MARKET

Mustafa GÜRSES<sup>1</sup>, Ahmet ERDOĞAN<sup>2</sup>, Selahattin SERT<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi Hıncıs Meslek Yüksekokulu Erzurum

**ÖZET:** Bu çalışmada, Erzurum piyasasından temin edilen 22 yerfıstığı, 13 Antepfıstığı ve 9 badem numunesi aflatoksin kontaminasyonu bakımından analiz edilmiştir. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) yöntemi ile incelenen yerfıstığı örneklerinin 5'inde (%22.7), Antepfıstığı örneklerinin 3'ünde (%23.1) ve badem örneklerinin 2'sinde (%22.2) aflatoksin (B+G)'ye rastlanmıştır. Tüm örneklerde (44) aflatoksin miktarı 1.7-18.3 ppb arasında değişmiştir. En yüksek aflatoksine (18.3 ppb) yerfıstığı örneğinde rastlanmıştır.

**ABSTRACT:** In this research, It were analyzed 22 groundnuts, 13 pistachios and 9 almonds samples obtained from Erzurum market. Thin Layer Chromatography technique was used to measure of aflatoxins (B+G). It was determined that 5 (27.7%) of groundnuts, 3 (23.1%) of pistachios and 2 (22.2%) of almonds includes aflatoxins. The amounts of aflatoxins for all samples (44) ranged between 1.7 and 18.3 ppb. The maximum aflatoxin level (18.3 ppb) is determined in 1 groundnuts sample.

#### GİRİŞ

Gıdalar üretimlerinden tüketimlerine kadar geçen süreler içerisinde çeşitli nedenlerle bozulmaktadır. Bu bozulma faktörlerinin önemli bir gurubunu mikroorganizmalar teşkil etmektedir. Mikroorganizmalar içerisinde küfler değişik çevre şartlarına dayanıklılık göstermeleri ve çok düşük su aktivitesi değerlerinde çalışabilmeleri nedeniyle özellikle kurutularak muhafaza edilen gıdalarda en önemli bozulma etmeni olarak görülmektedir.

Küfler üzerlerinde üredikleri gıda maddelerinde kalite düşüklüğüne sebep olmalarının yanısıra, salgıladıkları bazı toksik metabolitleri de bulaştırarak kullanılmalarını sakıncalı hale getirmektedir. 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 gelmektedir (ÇOKSÖYLER ve ÇAKMAKÇI, 1988; RICHARD ve ark., 1993; KEBECİ, 1994).

Mikotoksinler içerisinde önem bakımından ilk sırayı *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* türü küflerin oluşturduğu aflatoxinler almaktadır. Şimdiye kadar izole edilen çok sayıda küf metabolitinden biri olan aflatoxinler normal gıda işleme şartlarına dayanıklılık yanında yüksek toksite ve kanserojeniteye sahiptir (EL-NABARAWY ve ark., 1988; SAMARAJEEWA, 1990; ANON., 1993; GOUARAMA ve ark., 1995). Nitekim, Asya ülkelerinden birinde ortaya çıkan bir hastalıktan 106 kişinin öldüğü, bu hastalığın gıdalarda günde 2-6 mg miktarında alınan aflatoksinden kaynaklandığı bildirilmiştir (SERT, 1983).

Esas olarak küflü gıdalarda görülmesine karşın, direkt insan tüketimine sunulan gıdalarda da aflatoxin görülebildiği, çeşitli ayıklama ve işleme yöntemlerinin bunu tamamen ortadan kaldıramadığı, hayvan yeminde bulunan aflatoksinin çok az bir oranda da olsa et, süt ve yumurta gibi gıdalara geçerek insan sağlığını tehdit edebilmektedir (ÇOKSÖYLER, 1984). Bahsedilen bu nedenlerden dolayı bir çok ülke aflatoxin oluşumuna hassas olan yerfıstığı, fındık, antepfıstığı ve badem gibi ürünler için çeşitli sınırlamalar getirmiştir. Uluslararası ticaret dahilinde olan ürünlerde ülkeden ülkeye değişmekle beraber bu sınır 5-50 ppb arasındadır (ANON., 1993).

Türkiye'de bu sınırlamalar neticesinde aflatoksin sorunuyla ilk olarak 1967'de Kanada'ya ihraç edilen 10 ton fındık partisinin geri iade edilmesiyle karşılaşmış ve bu geri gönderme olayları nedeniyle günümüze kadar çeşitli ürünler üzerinde çalışılmıştır (GÖNÜL ve BOYACIOĞLU, 1985).

STOLOFF (1980), A.B.D'de 1967-1968 yılları arasında özellikle fıstık ürünleri ve çeşitli gıdalarda, aflatoksin kontaminasyonundaki değişimleri incelemiş ve sonuçta çiğ kabuksuz yerfıstığı, tüketime hazır fıstık ürünleri, badem, ceviz, şamfıstığı ve diğer kabuklu-kuru meyvelerin aflatoksin kontaminasyonu bakımından çok hassas ürünler olduğunu bildirmiştir. PANTOVIC ve ADOMOVIC (1980), ithal buğday, mısır, fasulye, pirinç, kahve, badem, fındık, ceviz ve yerfıstığı ihtiva eden toplam 666 numuneyi aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub> bakımından analiz etmişler, numunelerin %26'sının (173) aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub> ihtiva ettiğini ve bunlarında %22.9'unun 5 ppb'den az, %1.5'inin 5-10 ppb arası ve %1.5'inin 10 ppb'den fazla aflatoksin seviyesi gösterdiğini bildirmişlerdir. HILL ve ark. (1983), 145 gün sonra hasat edilen yerfıstıklarında yapmış oldukları incelemelerde, sağlam kabuklu tanelerde *A. flavus* grubu küflerin yoğunluğu ve aflatoksin üretimlerinin nemli şartlarda, sıcak kuru şartlara nazaran daha büyük olduğunu, gerek yüksek sıcaklık ve gerekse kuraklık etkisinin aflatoksin kontaminasyonunda tek başına etkili olamayacağını bildirmişlerdir.

CHIOU ve ark. (1984), kabuklu ve kabuksuz yerfıstıklarının 28°C'de %100 nispi nemde 3 hafta süreyle depolamışlar; 5 günlük depolama sonucunda su absorpsiyonunun 1.2 g/100g ve 1.7g/100g olduğunu, 3 haftalık inkübasyon periyodu sonunda ise aflatoksin miktarının sırasıyla 111.4 ve 159.1 µg/kg olduğunu rapor etmişlerdir. MOLLER ve ark. (1985), 51 kabuklu-kuru meyve ve çeşitli tohumları Yüksek performanslı likit kromatografisi (HPLC) metodu ile aflatoksin kontaminasyonu bakımından incelemişler ve 24 badem numunesinin 3'ünde 0.2-7.4 µg/kg aflatoksine rastlamışlardır. Bulunan değerlerden sadece bir fındık numunesine ait olanın İsveç tolerans sınırı olan 5 µg/kg'lık değeri aştığını bildirmişlerdir. HASEGAWA ve ark. (1987), çeşitli ülkelerden ithal edilen fındık, badem, şamfıstığı, macodoma, nohut ve fıstık numunelerinde aflatoksin üreten *A. flavus* suşlarını izole etmişlerdir. Sonuçta 10 fıstık numunesinin %49.6'sında ve diğer 275 örneğin de 128'inde kontaminasyona rastlamışlardır. *A. flavus*'un 91 izolatını seçerek, aflatoksin üretimine bakmışlar, 44 izolattan 37'sinin aflatoksin ürettiğini bildirmişlerdir.

Ülkemizde tüketimi oldukça yaygın olan ve çerez olarak da ifade edilen badem, yerfıstığı ve Antepfıstığı gibi kuru meyvelerin uygun olmayan işleme ve depolama sonucu küf kontaminasyonu ve dolayısıyla aflatoksin oluşumuna maruz kalabileceği ve bu durumun insan sağlığı açısından risk oluşturabileceği göz önünde bulundurularak böyle bir sorvey çalışmasına gidilmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### 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.

### Metot

Aflatoksin analizinde MAJERUS ve ZAKARIA (1992) tarafından önerilen aflatoksin analiz yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde göre, örnekler Waring blenderde 20 s parçalandıktan sonra, 25 g analiz örneği alınmıştır. Örnekler, 250 ml'lik erlenmayere aktarılmış ve üzerine 100 ml metanol/su (85/15) karışımı ilave edilip, ağzı sıkıca kapatılarak, mekanik karıştırıcıda (Elektro-meg M 22) 30 d kuvvetlice çalkalanmıştır. Karışım süzgeç kâğıdından süzülerek, 100 ml'lik bir ölçü silindirin 50 ml ekstrakt alınmış ve daha sonra 250 ml'lik bir ayırma hunisine aktarılmıştır. Üzerine 50 ml NaCl çözeltisi (%10'luk) ve 25 ml hekzan ilave edilerek, 1 d süreyle çalkalanmıştır. Çalkalanma sonrası alt faz alınmış ve tekrar 250 ml'lik bir ayırma hunisine aktarılmıştır. Aflatoksiner 25 ml'lik iki kısım halinde metilendiklorür çözücüsü ile sulu fazdan ekstrakte edilerek 1 d çalkalanmıştır. Metilendiklorür fazı, üzerinde yaklaşık 5 g susuz sodyumsülfat bulunan bir filtre kâğıdından (Whatman No 1), 100 ml'lik bir balona süzülmüş, elde edilen ekstrakt döner buharlaştırıcıda (Heidolph-5111) kuruyuncaya kadar buharlaştırılmıştır.

Ekstraktın saflaştırılması için, 150x10 mm boyutlarında cam kolonlar kullanılmıştır. Kolonun dip kısmına önce sıkı bir şekilde cam yünü konulmuş, üzerine sırasıyla 0.5 g susuz sodyumsülfat, 0.5 g deaktive edilmiş silika jel 60 (Merck, No 7734) ve 0.5 g susuz sodyumsülfat doldurulmuş ve ucu küt bir cam çubukla iyice sıkıştırılmıştır. Daha sonra numune ekstraktı 3 ml metilendiklorür içerisinde çözündürülerek kolona aktarılmıştır. Örnek şişesi yeniden iki kısım halinde 1'er ml metilendiklorür ile yıkanıp tekrar kolona ilave edilmiştir. Kolon 3 ml hekzan, 3 ml susuz dietileter ve 3 ml metilendiklorür ile yıkanmıştır. Kolonun altına 10 ml'lik erlenmayerler yerleştirilmiş ve aflatoksinler iki kısım halinde 3 ml kloroform/aseton (90/10) karışımı ile elüe edilmiştir. Elde edilen ekstrakt döner buharlaştırıcıda kuruyuncaya kadar evapore edilmiş ve ince tabaka kromatografisi için 1 ml metilendiklorür çözücüsü içerisinde çözündürülmüştür. İnce tabaka kromatografisinde hazır plakalar (Aldrich, Cat No. Z 12, 277-7, general purpose, silica gel on polyester, 20x20 cm) kullanılmıştır.

İnce tabaka kromatografisi için kullanılan aflatoksin standartları ANONYMUS (1975)'e göre spektrofotometre (Shimadzu UV-160) kullanılarak hazırlanmıştır. Küçük şişelerde 2 ml olarak hazırlanan standartlar, alüminyum folyoya sarılarak buzlukta muhafaza edilmiştir.

Standart ve ekstraktları ihtiva eden küçük şişeler, buzdolabından çıkarılıp oda sıcaklığına gelinceye kadar beklenmiştir. Daha sonra homojen hale gelinceye kadar 1-2 d çalkalandıktan sonra, mikroşırınga (Hamilton) ile İTK plakasına tatbik edilmiştir. 40 µl numune ekstraktı, 10, 20 ve 40 µl aflatoksin standardı ile yanyana olacak şekilde, plakanın alt ucundan 130 mm mesafede, 1.5 cm aralıkla damlatılmıştır. Hazırlanan plakalar ilk olarak, içerisinde dietileter bulunan bir geliştirme tankına alınıp birinci yönde geliştirilmiş ve bunu müteakiben tanktan çıkarılıp, karanlık bir odada dietileter uçurularak uzun dalga (UV) lambası (Camag 29200) altında (365 nm) incelenmiştir. Daha sonra plaka 180° döndürülerek, kloroform/aseton (90/10) karışımı içerisinde geliştirme işlemine bırakılmıştır. Yaklaşık olarak 1 saatlik bir geliştirme işleminden sonra, çıkarılıp karanlıkta kurutularak UV lambası altında tekrar incelenmiştir. Standart ile aynı R<sub>f</sub> değerinde, mavi-yeşil lekeler aranmış, bu lekelerin aflatoksin olup olmadığını anlamak için üzerlerine %25'lik sülfirik asit püskürtülmüştür. Püskürtme ile rengin sarıya dönüp dönmediği kontrol edilmiştir. Rengin sarıya dönmesi aflatoksin pozitif, dönüşüm yoksa aflatoksin negatif olarak kabul edilmiştir (SERT, 1984). Aflatoksin miktarları (ANON., 1975)'e göre hesaplanmıştır.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışma süresince Erzurum piyasasından bazı market ve kuru yemişçilerden toplanan 28 adet fındık 24 ceviz ve 11 leblebi örneği temin edilmiştir. Aflatoksin analizine tabi tutulan örneklerde belirlenen aflatoksin (B+G) miktarları Çizelge 1, Çizelge 2 ve Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 1'den de görüleceği gibi 22 yerfıstığı örneğinin 5'inde (%22.7) aflatoksine rastlanmıştır. Bu 5 örnekte belirlenen aflatoksin (B+G) miktarları ise 2.7-18.3 µg/kg (ppb) arasında değişmiştir. Antepfıstığı örneklerinde aflatoksin (B+G) 3 (%23.1) örnekte bulunmuştur (Çizelge 2). Saptanan miktarlar ise 1.7-4.1 ppb arasında değişmiştir. 9 badem örneğinden ise 2 (%22.2) tanesinde 2.9 ve 16.8 ppb aflatoksin (B+G)'ye rastlanmıştır. Elde edilen değerlerin Tarım Bakanlığı tarafından belirlenen 20 ppb'lik (ANON, 1990) sınır değerinin altında olduğu saptanmıştır.

Genel olarak analizi tabi tutulan bütün örneklerinden sağlık açısından risk oluşturabilecek seviyede aflatoksin içermediği görülmüştür. Bu da, iç piyasada satılan yerfıstığı, Antepfıstığı ve badem tüketiminin aflatoksinlerin sebep olduğu aflatoksiko-

Çizelge 1. Yerfıstığı Örneklerine Ait Aflatoksin (B+G) Miktarları

Örnek No	Aflatoksin (B+G) Miktarı (µg/kg)
1	-
2	-
3	-
4	-
5	-
6	-
7	-
8	-
9	7.5
10	-
11	-
12	-
13	-
14	-
15	2.7
16	9.6
17	8.4
18	-
19	-
20	-
21	-
22	18.3

zis vakalarına yol açmayacağını göstermektedir. Ancak, az miktarda da olsa bazı örneklerde görülen aflatoksin oluşumunun tamamen ortadan kaldırılabilmesi için depolama sırasında küf kontaminasyonunun önlenmesi büyük önem taşımaktadır. Tür-

**Çizelge 3. Badem Örneklerine Ait Aflatoksin (B+G) Miktarları**

Örnek No	Aflatoksin (B+G) Miktarı (µg/kg)
1	-
2	-
3	-
4	2.9
5	-
6	-
7	16.8
8	-
9	-

**Çizelge 2. Antepfıstığı Örneklerine Ait Aflatoksin (B+G) Miktarları**

Örnek No	Aflatoksin (B+G) Miktarı (µg/kg)
1	4.1
2	2.2
3	-
4	-
5	-
6	-
7	-
8	-
9	1.7
10	-
11	-
12	-
13	-

kiye'de kuruyemiş olarak bol miktarda tüketilen bu tip kuru meyvelerin vakum ambalajlı olarak depolanması sağlık ve ekonomi açısından faydalı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- ANONİM, 1996. Gıdalarda Mikotoksin Tayini (ICS 67.220.20). Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Cad. No: 112, Bakanlıklar, Ankara.
- ANONİM, 1990. Tarım ve Köyleri Bakanlığından: Aflatoksin Kontrolüne Dair Tebliğ (KKGM 90/1), Resmi Gazete (02.05.1990), Sayı No: 20506, Ankara.
- ANONYMOUS, 1975. Natural poisons. Official Methods of Analysis. of The Association of Analytical Chemistst, pp. 462-482, Washington, DC.
- ANONYMOUS, 1993. Technical profile: the quantitative advantage for mycotesting. World Grain, October.
- CHIOU, Y.R. Y., KOEHLER P.E., BULLERMAN L., B., 1984. Hyroscopic charesteristics of peanutcomponents and their influence on growth and aflatoxin poduction by *Aspergillus parasiticus*. J. Food Prot., 48 (10), 791-794.
- ÇOKSÖYLER, N., 1984. İçel Yöresinde Yetiştirilen Yerfıstıklarında Aflatoksin Oluşumu Nedenleri Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi. A. Üniv. Fen Bil. Enst., Ankara, 1-30.
- ÇOKSÖYLER, N., ÇAKMAKÇI, L., 1988. Deneysel depolama koşullarında yerfıstığında fungal gelişim 9. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-23 Eylül 1988, Kongre Kitabı, Sivas, Cilt 1, 173-177.
- EL-NABARAWY, A., HARTMAN T., ROSEN and J.D., MONTVILLE T.J., 1989. *Aspergillus parasiticus* accumulates averufin and versicolorin A in the presence of bicarbonate. J. Food Prot., 52 (7), 493-495.
- GOURAMA, H., and BULLERMAN L.B., 1995. *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*: aflatoxigenic fungi of concern in foods an seeds. J. Food Prot., 58 (12), 1395-1404.
- GÖNÜL, M., D. BOYACIOĞLU, 1985. Türkiye'de aflatoksin çalışmaları. Ege Üniv. Müh. Fak. Der., 3 (1): 127-135.
- HASEGAWA, A., T., TANAKA, N. AOIKI, S. YOMOMOTO, N. TOYAZAKI, Y. MATSUDA, and S. UDAGAWA, 1987. İsolation and identification of *Aspergillus flavus* from imported nuts and their aflatoxin producing ability. Proc. Japonese Ass. Mycotoxicology, 25: 21-27.
- HILL, R.A., BLANKENSHIP P.D., COLE R. J. and SANDERS T.H., 1983. Effects of soil moisture and temperature on preharvest invasion of peanuts by the *Aspergillus flavus* group and subsequent aflatoxin development. Appl. and Environ. Microbiol., 45 (2): 628-633.
- KEBECİ, T., 1995. Aflatoksin. Gıda San. Derg., 40, 12-15.
- 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.
- MÖLLER, T., P. MATTSOON, A. THOREN, 1985. Aflatoxins in seeds and nuts. FSTA, 18 (6): 95.
- PANTOVIC, D., V.M. ADOMOVIC, 1980. Mycotoxin contamination of foods with reference to maximum tolerances. Hirana-i Ishrana, 21 (7/8): 177-180.
- RICHARD, J.L., BENNET G.A., ROSS P.F., NELSON P.E., 1993. Analysis of naturally occurring mycotoxins in feedstuffs and food. J. Anim. Sci., 71: 2563-2574.
- SERT, S., 1984. Bazı karma yem ve karma yem hammadelerinin aflatoksin yönünden araştırılması. Atütürk Üniv. Ziraat Fak. Ziraat Der., 15 (3-4): 55-63.
- STOLOF, L., 1980. Aflatoxin control past and present. J. AOAC., 63 (5): 1067-1073.
- TOPAL, Ş., 1993. Gıdalarda küf kontaminasyon riskleri ve önlemleri. Tübitak-Mam. Yay., Kocaeli 124: 174-187.