



**AFYONKARAHİSAR İLİNDE YEREL MARKETLERDEN TOPLANAN
CORYLUS AVELLANA (FINDIK) ÖRNEKLERİNDEN FUNGUS İZOLASYONU,
AFLATOKSİN VE OKRATOKSİN A MİKTARININ BELİRLENMESİ**

Arzu ÖZKARA*

Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Afyonkarahisar,
Türkiye

Geliş/Received: 02.05.2024; Kabul /Accepted: 16.08.2024; Online baskı /Published online: 03.09.2024

Özkara, A. (2024). Afyonkarahisar ilinde yerel marketlerden toplanan *Corylus avellana* (findık) örneklerinden fungus izolasyonu, aflatoksin ve okratoksin a miktarının belirlenmesi. GIDA (2024) 49 (5) 820-832 doi: 10.15237/gida.GD24048

Özkara, A. (2024). Fungus isolation, determination of aflatoxin and ochratoxin a from *Corylus avellana* (hazelnut) samples collected from local markets in Afyonkarahisar province. GIDA (2024) 49 (5) 820-832 doi: 10.15237/gida.GD24048

ÖZ

Çalışmamızda Afyonkarahisar'da rastgele 20 farklı marketten alınan findık örnekleri aflatoksin B1 (AFB1), aflatoksin B2 (AFB2), aflatoksin G1 (AFG1), aflatoksin G2 (AFG2, toplam aflatoksin (AF) ve okratoksin A (OTA) içerikleri bakımından Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile incelenmiştir. Ayrıca örneklerdeki fungal kontaminasyonu belirlemek amacıyla, fungus izolasyonu yapılarak genus seviyesinde sınıflandırılmaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre iki lokalite dışında kalan tüm bölgelerdeki findık örneklerinden fungus izole edilmiştir. Aflatoksin taramalarında merkez 5. örneklem alanında 1.8070 ng/ml AFG1 en yüksek aflatoksin miktarı olarak bulunmuştur. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde tespit edilen aflatoksin miktarları Türk Gıda Kodeksi sınırlarını aşmamıştır. Dolayısıyla yapılan çalışma ile findık örneklerinde yüksek potansiyel bir risk tespit edilmemiştir. Ancak potansiyel risk değerlendirmesinin yapılabilmesi için; az miktarlarda aflatoksin ve okratoksin varlığının çeşitli gıdalarla vücuda alınarak uzun vadede karaciğerde birikme ihtimali açısından da değerlendirilmesi gerekmekte olup, bu çalışma ileri çalışmalar için bir temel oluşturmaktadır. Ayrıca daha önce bu konuda Afyonkarahisar'da yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin, *Corylus avellana*, fungal kontaminasyon, okratoksin

**FUNGUS ISOLATION, DETERMINATION OF AFLATOXIN AND
OCHRATOXIN A FROM *Corylus avellana* (HAZELNUT) SAMPLES COLLECTED
FROM LOCAL MARKETS IN AFYONKARAHİSAR PROVINCE**

ABSTRACT

In our study, hazelnut samples taken randomly from 20 different markets in Afyonkarahisar were evaluated by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) for their aflatoxin B1 (AFB1), aflatoxin B2 (AFB2), aflatoxin G1 (AFG1), aflatoxin G2 (AFG2), total aflatoxin (AF) and ochratoxin A (OTA) contents. In addition, in order to determine the fungal contamination in the samples, fungus was isolated and classified at the genus level. According to the results obtained, the fungus was

* Sorumlu yazar/ Corresponding author

✉: arzuozkara@gmail.com

☎: (+90) 505 224 8766

Arzu Özkara; ORCID no: 0000-0002-7815-5366

isolated from hazelnut samples in all regions except two localities. 1.8070 ng/ml AFG1 was found to be the highest aflatoxin amount in the central 5th sampling area. When the data obtained was evaluated, the detected aflatoxin amounts did not exceed the Turkish Food Codex limits. Therefore, no high potential risk was detected in the hazelnut samples in the study. However, in order to make a potential risk assessment; even if aflatoxin and ochratoxin are present in small amounts, they should be evaluated for the possibility of being taken into the body with various foods and accumulating in the liver in the long term, and this study will be the basis for future studies. Additionally, there has been no previous study on this subject in Afyonkarahisar.

Keywords: Aflatoxin, *Corylus avellana*, fungal contamination, ochratoxin

GİRİŞ

Günümüzde endüstriyel ilerlemelerle birlikte insanlar ve diğer tüm canlılar çevreden gelen çeşitli kimyasallara daha fazla maruz kalmaktadır. Bu kaynaklardan biri de doğal kimyasal kirleticilerin yüksek oranda olduğu gıdalardır (Wu vd., 2014; Kafouris vd., 2017; Cunha vd., 2018). Gıda maddelerinde oluşabilen küfler ve bunların metabolitleri günümüzde halk sağlığını tehdit etmenin yanı sıra ciddi ekonomik kayıplara da neden olmaktadır. Pek çok gıda maddesi satışa çıkarılmadan küflerle kontamine olarak bozulmakta, gözle görülür bir bozulma göstermeyen ürünler ise içerdikleri sekonder metabolitler nedeniyle halk sağlığını tehdit edebilmektedir.

Funguslar tarafından üretilen mikotoksinler, insan ve hayvan sağlığı açısından ciddi riskler oluşturan düşük molekül ağırlıklı toksik bileşiklerdir (Baquião vd., 2016). Bu kirletici maddeler, dünya çapındaki tüm gıda maddelerinin kalitesine yönelik kritik bir tehdit oluşturdıklarından son yıllarda dikkat çekici bir konu olmaktadır (Borchers vd., 2010; Wu vd., 2014; Tolosa vd., 2013; Kafouris vd., 2017; Yu-jiao vd., 2018). Avrupa Birliği'ne göre (Komisyon Yönetmeliği 2006), gıda ve yemdeki en önemli mikotoksinler; okratoksin A (OTA); aflatoksinler (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2); fumonisinler; trikotesen ve zearalenon (Varga vd., 2013)'dur. AF'ler ve OTA, mikotoksinler arasında en yaygın kirleticilerdir (Asghar vd., 2016, Toptaş ve Erköse, 2023).

Başta *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* olmak üzere farklı *Aspergillus* türleri tarafından doğal olarak üretilen AF'ler, insanlarda hepatik ve ekstrahepatik karsinogeneze neden olan mutajenik, teratojenik ve kanserojen mikotoksinler olarak önem taşımaktadır

(Hontayana vd., 2015). Yapılarına göre 20'den fazla AF türü bulunmaktadır. Aflatoksinlerin en yaygın formları olan B1 (AFB1), B2, G1 ve G2 yüksek toksisiteye sahiptir. AF'ler, Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı (IARC 1993) tarafından grup 1 kanserojen olarak sınıflandırılmakta olup, ayrıca mutajen, kanserojen ve immünotoksiktirler (Moss, 1998). İnsanlar, daha önce bu kimyasallara maruz kalmış hayvanlardan elde edilen hayvansal ürünleri tüketerek veya kontamine olmuş gıdaları doğrudan yiyerek aflatoksinlere maruz kalmaktadır (Hammami vd., 2014). Dünya çapında, başta pirinç, buğday, baharatlar, kurutulmuş meyveler, mısır ve sert kabuklu yemişler olmak üzere çeşitli tarım ürünlerinde AF kontaminasyonu rapor edilmiştir. (Grajewski vd., 2012; Prella vd., 2012; Nguyen ve Ryu, 2014; Hepsağ ve Hayoğlu, 2022; Var ve Tekin, 2023; İnanç, 2024). Bileşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nun bildirdiğine göre dünya tarım ürünlerinin %25'i mikotoksinlerle kontamine olmuştur (Anonymous, 2021). Bu bağlamda önemli besin ürünlerinde bulunabilecek aflatoksinlerin belirlenmesi ve gerekli önlemlerin alınması pek çok risk faktörünü ortadan kaldırabilir.

Ayrıca Okratoksin A (OTA), *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus ochraceus* ve *Aspergillus carbonarius* gibi mantar türleri tarafından üretilen doğal olarak oluşan mikotoksin bileşimidir (Cary ve Ehrlich, 2006). Ayrıca OTA'nın tahıllar, baharatlar, yeşil kahve, bürülce, kuruyemişler, şarap, bira, kurutulmuş meyveler, üzüm ve üzüm suyu gibi çeşitli gıdalarda da kirletici olduğu belirtilmektedir (Belli vd., 2005; Chulze vd., 2006; Gonzalez vd., 2006; Ghali vd., 2020; Afolabi vd., 2020). OTA, IARC tarafından Grup2B kanserojen olarak sınıflandırılmıştır ve hayvanlarda kanserojen potansiyele sahip bir nefrotoksindir (IARC, 1993).

Dolayısıyla okratoksinlerin farklı besin maddelerindeki varlıklarının belirlenmesi ve gerekli önlemleri alınması noktasında önem taşımaktadır. Çünkü olumsuz koşullar altında gıda maddelerinde fungusların çoğalmasıyla mikotoksin gibi istenmeyen sekonder metabolitler gıdalarda birikerek bu gıda maddeleriyle beslenen tüm canlılarda farkında olmadan ciddi riskler oluşturabilmektedirler.

Kuru meyveler ve kuruyemişler esansiyel amino asitler, mineraller, vitaminler ve diyet lifi açısından zengindir ve her yaşta insan tarafından sevilir. Kronik hastalığı olan kişiler için bu ürünler aynı zamanda güç ve enerji sağlayan besin takviyeleri olarak da kullanılmaktadır (Emilio, 2010). Kuruyemişler % 60-70 yağ ve % 17 protein içeriğiyle yüksek besin değerine sahiptir ve önemli miktarda fenolik bileşikler, amino asitler, yağ asitleri ve antioksidanlar içerir. Fındık tüketimi kalp-damar hastalıkları, safra taşları, obezite ve kilo alma gibi sağlık sorunlarının önlenmesinin yanı sıra özellikle kadınlarda diyabet riskinin azaltılması açısından da önemlidir (Blomhoff vd., 2006; Yang, 2009) Fındık genellikle nemli bölgelerde yetişmektedir, bu nedenle fungus kontaminasyonu ile toksijenik aflatoksin (AF) üretimine maruz kalırlar (Elzupir ve Alamer, 2015; Adetunji vd., 2018). Çalışmamızda fındık tercih edilmesinin başlıca sebebi kültürel olarak Türkiye'deki başlıca çerez gruplarının arasında yer alması ve nemli bölgelerde yetişmesi sebebiyle, depolanması sırasında olumsuz koşullarla karşılaşılma potansiyelinin yüksek olması, ayrıca satışa sunulduğu yerlerdeki rafta kalma sürelerinin de potansiyel risk oluşturabileceğinin düşünülmesidir.

Türkiye'de fındıklarda AF'lerin ve OTA kontaminasyonunun varlığına ilişkin çok az veri bulunmaktadır. Afyonkarahisar'da satışa sunulan fındıklarda aflatoksin ve okratoksin varlığına ilişkin ise daha önce yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda Afyonkarahisar ve ilçelerdeki rastgele 20 farklı marketten alınan fındık örnekleri belirlenerek fungus kontaminasyonu, aflatoksin ve okratoksin miktarları açısından incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda AF miktarlarını ölçmek için HPLC kullanılmıştır.

MATERYAL METOT

Örnekler

Afyonkarahisar ve ilçelerindeki rastgele 20 farklı lokal marketten 100'er adet kavrulmuş fındık örneği satın alındı. Laboratuvara getirilen örnekler deney yapılana kadar +4 °C buzdolabında saklandı. Numunelerin tamamı blender kullanılarak homojenize edilecek şekilde öğütüldü ve analize kadar plastik torbalar içerisinde buzdolabında saklandı. Homojenize edilen tüm numuneler, ürünün raf ömrü dikkate alınarak çok fazla bekletilmeden analiz edildi.

Örneklerin Hazırlanması

Fındık örneklerinden AF'lerin ekstraksiyonu ve IAC (immünoafinite kolonu) temizliği AOAC Resmi Yöntemi 999.07'nin (Stroka vd., 2000) değiştirilmiş prosedürüne göre gerçekleştirilmiştir. 50 gr numune, 4 gr sodyum klorür (NaCl), 150 ml metanol ve 100 ml deiyonize H₂O blendera konularak yüksek hızda 1 dakika karıştırılarak numuneler homojen hale getirilmiştir. Daha sonra bu karışım whatman no:4 filtre kâğıdından süzümüştür. Elde edilen süzütüden 5 ml alınmış ve üzerine 15 ml PBS (fosfat tampon solüsyonu) eklenip vortekslenmiştir. İmmünoafinite kolondan sırasıyla oluşan bu karışımın tamamı (20 ml) ve 20 ml deiyonize saf su 3 ml/dk akış hızı ile geçirilmiş ve kolon hava geçirilerek kurutulmuştur. Aflatoksin ve okratoksin elüsyonu için önce immünoafinite kolondan 1 damla/saniye olacak şekilde 1 ml metanol ardından yine aynı hızda 1ml su geçirilerek toplamda 2 ml ekstrakt (HPLC ye verilmeye hazır) elde edilmiştir. Bu ekstraktlar HPLC analizi yapılmaya kadar 4-8 °C'de tutulmuştur. OTA analizleri içinde aynı ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır.

HPLC Koşulları

Numuneler, bir floresans detektörü ile ODS-3 (C/N 4 µm, 3.9 x 150 mm) ters faz kolonuna sahip bir ters faz izokratik modda HPLC (Shimadzu RF-20A / LC20AD / DGU-20A_{3R} / CTO-10AS VP) kullanılarak analiz edilmiştir. AF analizi için mobil faz, 0.12 g/L potasyum bromit

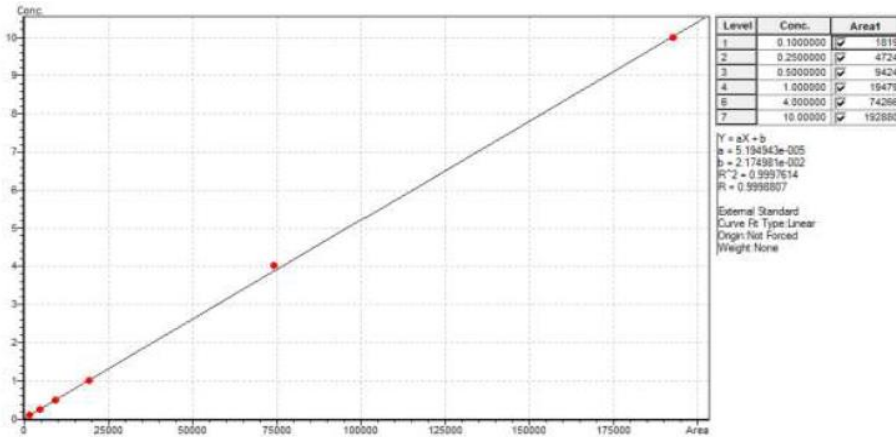
ve 350 µl/L nitrik asit (4 M) içeren su-asetonitril-metanol (6:2:3, v/v/v) karışımı olup ve akış hızı 1 ml dk⁻¹'dir. OTA analizi için mobil faz ise, 0.12 g/L potasyum bromit ve 350 µl/L nitrik asit (4 M) içeren su-asetonitril-metanol (6:2:3, h/h/v) karışımıdır ve akış hızı 1 ml dk⁻¹'dir.

HPLC kolon sıcaklıkları AF analizleri için 30 °C'de ve OTA analizleri için 40 °C'de tutulmuştur. Floresans dedektör, AF analizleri için 365 nm eksitasyon dalga boyuna ve 442 emisyon dalga boyuna, OTA analizleri için 333 nm eksitasyon dalga boyuna ve 460 emisyon dalga boyuna ayarlanmıştır (Hepsag vd., 2014). Her iki analiz için de HPLC enjeksiyon hacmi 25 µl olarak alınmıştır. AF analizlerinde aflatoksinlerin

alınma süreleri (dakika); G2 için 4.982, G1 için 5.994, B2 için 6.710, B1 için 8.189 olarak tespit edilmiştir. OTA analizi için ise alınma süresi 8.549 dk olarak belirlenmiştir.

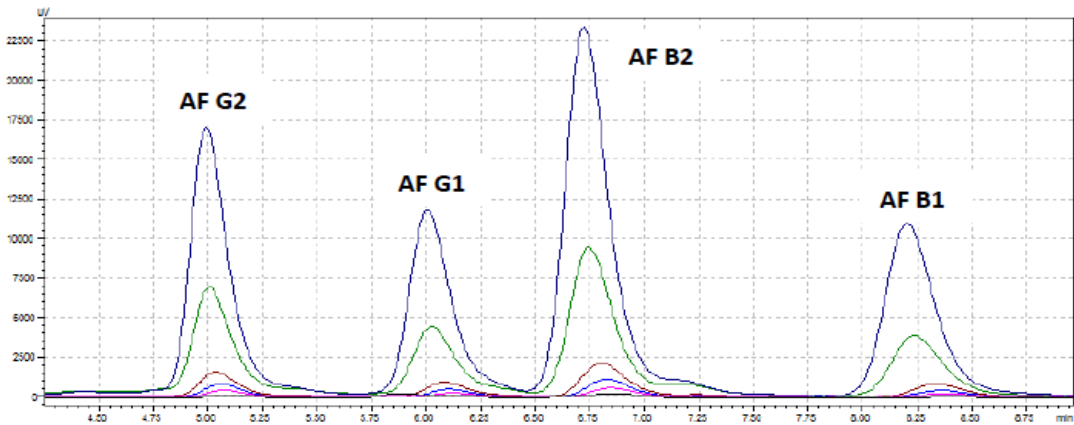
Hem AF analizlerinde hem de OTA analizlerinde hazırlanan örnekler ve standartlar kolon sonrası KOBRA® CELL TAMSON cihazında türevlendirme işlemine tabi tutularak floresans detektöre iletilmiştir.

Aflatoksin ve Okratoksin A miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart çözeltilere ait kalibrasyon eğrileri ve HPLC kromotogramları Şekil 1, 2, 3 ve 4'de verilmiştir.



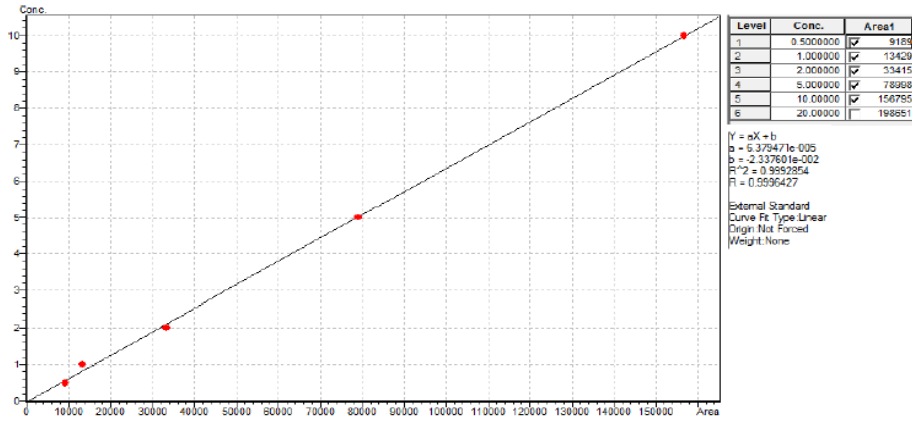
Şekil 1. Aflatoksin miktarlarının belirlenmesinde kullanılan kalibrasyon eğrisi

Figure 1. Calibration curve to determine aflatoxin amounts

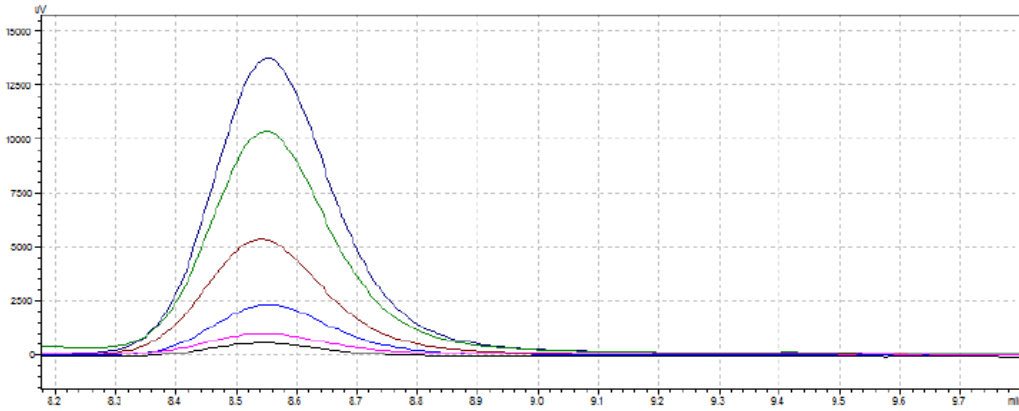


Şekil 2. Aflatoksin miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart çözeltilere ait HPLC kromotogramlarının karşılaştırılması.

Figure 2. Comparison of HPLC chromatograms of standard solutions used in determining aflatoxin amounts



Şekil 3. Okratoksin-A miktarlarının belirlenmesinde kullanılan kalibrasyon eğrisi
Figure 3. Calibration curve used to determine ochratoxin-A amounts



Şekil 4. Okratoksin-A miktarlarının belirlenmesinde kullanılan standart çözeltilere ait HPLC kromatogramlarının karşılaştırılması
Figure 4. Comparison of HPLC chromatograms of standard solutions used in determining ochratoxin-A amounts

Analytik Kalite Parametreleri ve Validasyon Prosedürleri

HPLC'nin tespit ve miktar belirleme limiti (LOD/LOQ) için, AF karışımında 0.1, 0.25, 0.50, 1, 5, 10 ve 20 ng ml⁻¹ ve OTA'da 0.5, 1, 5, 10 ve 20 ng ml⁻¹ standart çözeltileri kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi ve denklemleri hazırlanmıştır. Blank'in herhangi bir sinyal üretmediği göz önüne alınarak

LOD ve LOQ şu şekilde hesaplandı:

$$\text{LOD} = 3 \times \text{Standart sapma} / \text{Eğim.} \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = 3 \times \text{LOD} \quad (2)$$

Yukarıdaki denklemlere dayanarak aflatoksinlere ilişkin LOD ve LOQ değerleri Çizelge 1'de gösterilmektedir.

Fungus İzolasyonu

Laboratuvara getirilen numuneler steril poşetlerinden çıkarıldıktan sonra her numune alanı için 100 gram numune tartılarak yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Numuneler tartıldıktan sonra yüzey sterilizasyonunun sağlanması için % 0.4'lük sodyum hipoklorit solüsyonunda 5 dakika bekletilmiştir. Yüzeyi sterilize edilen numuneler, sodyum hipoklorit çözeltisini uzaklaştırmak için steril distile su ile birkaç kez durulanmış ve kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan numuneler havan tokmağı yardımıyla steril torbalara konularak toz haline getirilmiştir. 1 g toz fındık örneğine 100 ml steril distile su ilave edildi ve bu karışım vortekslenmiştir. Daha sonra bu karışımın 1 ml'si Rose Bengal Chloramphenicol Agar'a

(RBCA) eklenmiştir. Örnekleme, tüm lokasyonlarda en az 5 tekrar ve 3 bağımsız deney ile gerçekleştirilmiştir. Ekim yapılmış petri ler fungus kolonilerinin büyümesi açısından karanlıkta oda sıcaklığında (25 °C) 7-14 gün

süreye inkübe edilmiştir. Her istasyon için alınan örnekler petri kaplarında sayılmış ve mL başına ortalama mantar sayısı CFU (koloni oluşturan birim) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 1. HPLC analizi ile aflatoksin tayininin doğrulanması
Table 1. Confirmation of aflatoxin determination by HPLC analysis

Aflatoksin Okratoksin <i>Aflatoxin Ochratoxin</i>	LOD (µg/kg) ^d	LOQ (µg/kg) ^q	Kalibrasyon Eğrisi ^c <i>Calibration Curve</i>	R ²
AFB1	0.01	0.03	Y=16032x+1390.3	0.9979
AFB2	0.01	0.03	Y=34841x-3982.4	0.9983
AFG1	0.01	0.03	Y=14218x+2200.6	0.9982
AFG2	0.01	0.03	Y=21458x-3884.8	0.9967
OTA	0.05	0.16	Y=14448x+2521.4	0.9970

c:x; aflatoksin ve okratoksin konsantrasyonu (µg/kg)- y: yoğunluk, d: Tespit sınırı (LOD), q: Kantifikasyon sınırı (LOQ)

c:x; aflatoxin and ochratoxin concentration (µg/kg)- y: density, d: limit of detection (LOD), q: limit of quantification (LOQ)

Fungusların İdentifikasyonu

RBCA'da yetiştirilen fungus kolonileri 7-14 günlük inkübasyonun ardından identifikasyon amacıyla farklı besiyerlerine (Patato Dextrose Agar, Sabouraud Glucose Agar, Czapek-dox Agar, Malt Extract Agar) pasajlanmıştır. Türlerin tanımlanması için koloniler makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiştir. İdentifikasyon cins düzeyinde gerçekleştirilmiş ve cinslerin tanımlanması Barnett ve Hunter (1998)'a göre yapılmıştır. Fungusların mikroskobik incelemesinde Butler ve Mann (1959)'ın selüloz bant yöntemi kullanılmış ve boyama laktofenol pamuk mavisi ile yapılmıştır.

SONUÇ

Afyonkarahisar ili ve ilçelerinde bulunan 20 farklı lokal marketten toplanan fındık örneklerinden fungus izolasyonu gerçekleştirilmiş ayrıca aflatoksin B1 (AFB1), aflatoksin B2 (AFB2), aflatoksin G1 (AFG1), aflatoksin G2 (AFG2), toplam aflatoksin (AF) ve okratoksin (OTA) içerikleri Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile incelenmiştir.

Elde edilen veriler incelendiğinde iki lokalite dışında tüm bölgelerden fungus izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Her örneklem alanından ortalama koloni sayıları tespit edilmiştir. Bu sonuçlara bakıldığında merkez 5. örnek alanında tüm lokalitelerden daha fazla koloni sayısı tespit

edilmiştir. Bu lokasyonda tespit edilen kolonilerin ortalama sayısı 14.66±0.26 CFU/ml olmuştur. Ayrıca bu örneklem alanında *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* olmak üzere dört farklı cins fungus tespit edilmiştir. Bunu takip eden ortalama koloni sayısı ise merkez 2. örneklem bölgesi olmuştur ve örneklem bölgesinde *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* olmak üzere üç farklı cins tespit edilmiştir. Tüm örneklem bölgeleri arasında en az ortalama koloni sayısı merkez 8. ve Sultandağı 3. örneklem alanında tespit edilmiştir. Toplanan fındık örneklerinden elde edilen fungus kolonileri bakımından lokaliteler arasında küçük farklılıklar olmasına rağmen tüm bölgelerden izole edilen fungus cinsleri *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* ve *Polystanum* gibi bazı temel fungal türler ile temsil edilmektedir.

Çalışma örneklerinin aflatoksin ve OTA analizi sırasında bazı örneklem bölgeleri tespit sınırının altında kalmıştır. Aflatoksin taramalarında, en yüksek aflatoksin miktarı merkez 5. örneklem alanında 1.8070 ng/ml AFG1 olarak bulunmuştur. İkinci yüksek aflatoksin değeri ise merkez 3. örneklem alanında 1.4575 ng/ml AFG1 ile temsil edilmiştir. En düşük veri ise merkez 4. örneklem alanında 0.1000 ng/ml ile AFB2 olmuştur. Diğer örnek alanlarından farklı olarak merkez 1. ve 7. örneklem alanlarında tüm aflatoksin çeşitleri (AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2) belirlenebilmiştir. Bölgelere göre izole

A. Özkara

edilen mantarların cins ve sayıları ile AF'ler ve OTA düzeyleri Çizelge 2'de verilmiştir. Okratoksin tarama sonuçlarında ise iki bölgesel örnek dışında değerler tespit sınırının altında kalmış merkez 1. örneklem ve Şuhut 1. örneklem bölgesinde 5 ng/ml'nin altında OTA değeri tespit

edilmiştir. TGK'nin belirlediği limitler tüketime yönelik üretilen fındıklarda AFB1 için 5 ng/g ve toplam AF için 10 ng/g'dır. Örnek alanlardan alınan bazı fındıklarda farklı miktarlarda aflatoksin tespit edilmesine rağmen hiçbir örnek alanda TGK limitlerini aşan bir örneğe rastlanmamıştır.

Çizelge 2. Örneklem alanlarındaki fındık örneklerinde bulunan fungus, AF'ler ve OTA düzeyleri

Table 2. Fungi, AFs and OTA levels in hazelnut samples from sampling areas

Örnek Alanı Sample Area	Ortalama Koloni Sayısı (CFU/ml) Colony Forming Unite (CFU/ml)	Fungus Cinsleri Fungal Species	AFB1 (ppb, ng/ml)	AFB2 (ppb, ng/ml)	AFG1 (ppb, ng/ml)	AFG2 (ppb, ng/ml)	Toplam AF (ppb, ng/ml)	OTA (ppb, ng/ml)
M1	2.66±0.02	<i>Aspergillus</i> <i>Cladosporium</i>	0.2601	0.3098	0.2287	0.2449	1.0435	< 5
M2	4.46±0.03	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> <i>Cladosporium</i>	0.1795	0.3843	1.2299	*	1.7937	*
M3	2.33±0.05	<i>Aspergillus</i>	*	0.3732	1.4575	*	1.8307	*
M4	1.33±0.06	<i>Aspergillus</i>	*	0.1000	*	*	0.1000	*
M5	14.66±0.26	<i>Alternaria</i> <i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> <i>Cladosporium</i>	0.1976	0.4273	1.8070	*	2.4319	*
M6	1.33±0.08	<i>Aspergillus</i> <i>Cladosporium</i> <i>Penicillium</i>	*	*	*	*	*	*
M7	2.66±0.03	<i>Aspergillus</i> <i>Cladosporium</i> <i>Penicillium</i>	0.2289	0.1733	0.2108	0.1527	0.7657	*
M8	0.33±0.02	<i>Aspergillus</i>	*	*	*	*	*	*
M9	1.33±0.06	<i>Aspergillus</i> <i>Cladosporium</i>	*	*	*	*	*	*
M10	2.33±0.09	<i>Aspergillus</i>	*	0.1078	*	*	0.1078	*
M11	-	-	*	*	*	*	*	*
E1	1.66±0.05	<i>Aspergillus</i> <i>Cladosporium</i>	*	*	*	*	*	*
E2	0.66±0.02	<i>Cladosporium</i>	*	*	*	*	*	*
E3	-	-	*	*	*	*	*	*
S1	2.66±0.06	<i>Penicillium</i>	*	0.2790	*	*	0.2790	*
S2	2.66±0.02	<i>Cladosporium</i>	*	*	*	*	*	*
S3	0.33±0.02	<i>Cladosporium</i> <i>Polysctanum</i>	*	*	*	*	*	*
Ş1	2.33±0.04	<i>Cladosporium</i> <i>Penicillium</i>	*	*	*	*	*	< 5
Ş2	1.66±0.03	<i>Cladosporium</i>	*	*	*	*	*	*
Ş3	1±0.01	<i>Polysctanum</i>	*	*	*	*	*	*

* Tespit edilmedi (M1-M10:Merkez 1.bölge-10.bölge, E1-E3 Emirdağ 1.bölge-Emirdağ 3.bölge, S1-S3 Sultandağ 1.bölge-Sultandağ 3.bölge, Ş1-Ş3:Şuhut 1. bölge- Şuhut 3. bölge)

* Not detected (M1-M10: Center 1st region-10th region, E1-E3 Emirdağ 1st region-Emirdağ 3rd region, S1-S3 Sultandağ 1st region-Sultandağ 3rd region, Ş1-Ş3: Şuhut 1st region- Şuhut 3rd region)

TARTIŞMA

Mikotoksinler, tarım ürünlerinde ekonomik sorunların yanı sıra sağlık açısından da önemli riskler oluşturmaktadır. Mikotoksinler kurutulmuş meyve ve sebze ürünlerinin yetiştirilmesi, toplanması, taşınması, kurutulması ve depolanması aşamalarından herhangi birinde oluşabilmektedir. Kuruyemişler aflatoksin ve okratoksin açısından en riskli ürünler arasında yer aldığından dolayı bu konuyla ilgili çalışmalar günümüzde de önemini korumaktadır.

Türkiye'de kuruyemişlerde yapılan farklı çalışmalarda elde edilen aflatoksin ve okratoksin miktarları genel olarak Türk Gıda Kodeksi'nin izin verdiği sınırlar dahilindedir (Gürses, 2006; Başaran ve Özcan, 2007; Özay vd., 2008; Şen ve Nas, 2010; Turan ve İslam 2016; Karaosmanoğlu 2023). Yaptığımız çalışma ile de Afyonkarahisar'da satışa sunulan fındıklardaki aflatoksin ve okratoksin miktarlarının Türk Gıda Kodeksi Limitleri arasında olduğu tespit edilmiş ve çalışmamız sonuçlar açısından diğer çalışmalarla paralellik göstermiştir. Mikotoksin miktarı TKG limitleri içerisinde olsa da bu bileşenlerin zamanla vücutta birikme ihtimali de göz ardı edilmemelidir. Dolayısıyla gıdalardaki mikotoksin miktarı TKG'nin izin verdiği sınırlar dahilinde olsa bile uzun vadede sağlık riski bulundurduğu unutulmamalıdır.

Bu çalışmada Afyonkarahisar il merkezi ve ilçelerinde bulunan 20 farklı lokal marketten alınan fındık örneklerinden fungal izolasyon ve aflatoksin analizleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda 2 lokalite dışında 18 farklı marketten alınan fındık örneklerinde fungus kontaminasyonu tespit edilmiştir. Fındık örneklerinden elde edilen fungus kolonileri cins düzeyinde tanımlanmış olup tüm lokasyonlardan elde edilen fungal genuslar benzerlik göstermiştir. Lokaliteler arasında küçük farklılıklar olmasına rağmen tüm bölgelerden izole edilen funguslar; *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* ve *Polystanum* gibi bazı temel fungus cinsleri ile temsil edilmektedir. Fungal kontaminasyon değerlendirildiğinde *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Cladosporium* en sık görülen funguslardır. Benzer şekilde Debes tarafından 2010 yılında Suudi

Arabistan'da çeşitli kuruyemiş örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada da baskın fungus türleri olarak *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Rhizopus spp.* ve *Penicillium spp.* belirlenmiş olup çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Yine Gürses (2006) Erzurum'da yaptığı çalışmada çeşitli fındık örneklerinde *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerini yüksek oranda tespit etmiştir. Bunun yanı sıra Özay ve arkadaşları (2008) Türkiye'deki fındık örneklerini üç yıl boyunca incelemişler ve mikolojik çalışma sonucunda *Aspergillus parasiticus* (%11) ve *Aspergillus flavus* (%89) dahil olmak üzere toplam 5546 adet fungus izole etmişlerdir. Bu çalışmada da *Aspergillus* cinsi baskın fungal kirleticiler arasında yer almıştır. Yine Saffari ve ark. (2021) İsfahan'daki süpermarketlerden rastgele topladıkları 100 fındık örneğini fungal kontaminasyon ve aflatoksin bulaşı açısından değerlendirmişler ve örneklerin %78'inde *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Ulocladium*, *Alternaria*, *Drechselera*, *Trichothecium*, *Scopulariopsis* ve *Mucor* olmak üzere dokuz farklı cinsteki fungus tespit etmişlerdir. *Aspergillus flavus* ile kontamine olmuş örnekler aflatoksin varlığını belirlemek için incelendiğinde %72'sinin AFB1, AFB2 ve AFG2 ile kontamine olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda pek çok lokalitede *Aspergillus* kontaminasyonu olduğu tespit edilmiş olup tüm bu çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Aflatoksin ve okratoksin üretimini etkilediği düşünülen birçok farklı çevresel faktörler bilinmektedir ancak bunlar arasında sıcaklık ve nem oldukça kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada da satışa kadarki geçen sürede alınan fındık numunelerinin sıcaklık, nem ve saklama koşulları birbirinden farklı olduğundan dolayı hem fungus kontaminasyon miktarları hem de funguslar cins bazında bazı farklılıklar göstermiştir. Aflatoksin ve okratoksin analizlerinden elde edilen veriler incelendiğinde birçok fındık örneğinde aflatoksin miktarı tespit sınırının altında olduğundan tespit edilememiştir. Akçin ve Bostan (2019) Giresun ilinde yetiştirilen Tombul fındık çeşidi ile yaptıkları çalışmada, damla sulama yöntemiyle farklı sulama programlarına göre sulanan fındığın depolama süresince su aktivitesi değişimi araştırılmışlar aynı zamanda aflatoksin içeriği de belirlemişler ve bütün örnek gruplarında herhangi

bir aflatoksin oluşumu tespit etmemişlerdir. Karaosmanoğlu (2022) yaptığı çalışmada Tombul fıncığının bazı fiziksel, kalite ve renk özellikleri ile aflatoksin düzeyine geç hasat zamanının etkisini belirlemiştir. Çalışma sonuçlarında geç hasadın fıncıkların biyometrik ve renk özelliklerine olumsuz bir etkisinin olmadığını ve hiçbir dönemde fıncık örneklerinde aflatoksin oluşmadığını tespit etmiş, bu nedenle aflatoksin sorununun hasattan sonraki aşamalardan kaynaklanabileceğini bildirmiştir. Yine Karaosmanoğlu (2023) Tombul ve Karafıncık çeşitleri ile yaptığı bir diğer çalışmada farklı ambalajların depolama süresince geometrik ve renk özelliklerini ve de aflatoksin düzeyi değişikliklerini değerlendirmiş, bir yıllık depolama süresince örneklerdeki aflatoksin oluşumunu takip etmiştir. Depolama süresinin meyve ve iç boyutlarını genellikle etkilemediği ancak sağlam iç oranını düşürdüğü, kusurlu iç oranı ve beyazlama oranını arttırdığı ayrıca renk değerlerini duysal olarak fark edecek düzeyde etkilemediği gözlenmiştir. Ancak depolama süresince hiçbir örnekte aflatoksin oluşumuna rastlanmamıştır. Çalışmamıza benzer şekilde hem ülkemiz hem de farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda aflatoksin ve okratoksin miktarlarının eser miktarda olduğu veya tespit limitinin altında kaldığı görülmüştür (Cheraghali vd., 2007; Fernane vd., 2010; Imperato vd., 2011; Ekici vd., 2011).

Samimi ve ark. (2024) ithal fıncık örneklerindeki AFB1 miktarının belirlenmesi için yürüttükleri çalışmada test ettikleri tüm örneklerde AFB1 tespit etmiştir. Ancak bir örnek hariç tüm örneklerde AFB1 seviyeleri maksimum kabul edilebilir sınırlar arasında bulunmuştur. Araştırmacılar ithal fıncık tüketiminden kaynaklanan AFB1 bulaşının karaciğer kanseri açısından risk oluşturabileceği sonucuna ulaşmışlar ve ülkelerin özellikle küf oluşumuna elverişli iklime sahip ülkelerden ithal edilen kuruyemişlerdeki aflatoksin içeriklerini izlemeleri önermişlerdir. Bu çalışmaya benzer biçimde diğer birçok çalışmada ise aflatoksin ve okratoksin tespit edilmiş ancak bu değerler genel olarak yasal sınırlar içerisinde kalmıştır (Başaran ve Özcan, 2007; Arroyo-Manzanares vd., 2013; Sedefoğlu, 2013; Elzupir, 2018).

Yapılan bu çalışmada fıncık örneklerinde farklı aflatoksin miktarları tespit edilmiş ancak bu verilerin de diğer çalışmalara benzer şekilde yasal limitler arasında olduğu görülmüştür. Taranan tüm numunelerdeki okratoksin miktarı genel olarak tespit sınırları altında kalmış ancak yalnızca iki numunede 5 ng/ml'nin altında olduğu saptanmıştır. En yüksek aflatoksin miktarının merkezi 5. örnek alanda 1.8070 ng/ml AFG1 olduğu belirlenmiştir. Bu oran çalışmamız için en yüksek veri olmasına rağmen AFB1 için Türk Gıda Kodeksi'nin izin verdiği sınır olan 5 ng/g olup, toplam AF için 10 ng/g'in oldukça altındadır. Ancak aflatoksin kontaminasyonu ile uzun süreli beslenmenin canlılar üzerinde olumsuz etkileri olabileceği unutulmamalıdır. Bu nedenle küf kontaminasyonunun önlenmesi ve gıda kontaminasyonunun detoksifikasyonu oldukça önemlidir.

Bu çalışmada aflatoksin ve okratoksin düzeyleri yasal sınırlar içerisinde belirlenmiş olsa da satışa sunulan fıncıklarda fungal kontaminasyon sebebiyle bekleme süreleri, nem ve sıcaklık gibi değişen koşullar göz önüne alındığında aflatoksin düzeylerinin zamana bağlı olarak artabileceği unutulmamalıdır. Çünkü fungal kontaminasyonunun zamana ve değişen iklim koşullarına bağlı olarak mikotoksin salgısını arttırabileceği bir gerçektir. Zamanla biriken bu aflatoksinlerin yasal limitleri aşabileceği unutulmamalıdır. Ya da sınırların üzerinde olmasa bile beslenmenin bir parçası olan fıncığın tüketimiyle zaman içerisinde vücutta birikebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Özetle aflatoksin ve okratoksinler akut etkileri açısından oldukça toksik olabildikleri gibi daha da önemlisi nefrotoksik, immünotoksik, östrojenik ve teratojenik etkileri nedeniyle ciddi kronik yan etkilere neden olabilirler. Tüm çalışmalar AF'lerin en güçlü kanserojenler arasında sayılması gerektiğini göstermiştir (Borchers vd., 2010; Wu vd., 2014; Samimi vd., 2024). Sonuç olarak gıda maddelerinde bulunan aflatoksinler sağlık açısından tehdit oluşturmaktadır. Bu çalışma Afyonkarahisar bölgesinde satışa sunulan fıncıklara yönelik ilk aflatoksin taraması olma özelliğini taşımaktadır. Bazı örneklerde limitlerin

altında da olsa aflatoksin varlığı gözlemlenmiştir. Bu çalışma, Afyonkarahisar'da yerel pazarlarda satılan fındıklarda AF ve OTA tehlikesi hakkında temel yararlı bilgiler vermekte olup, bu bölge için bu konuda yapılan ilk tarama çalışmasıdır. Her iki mikotoksinin de gıdalardaki görülme oranının yüksek olması, gıdalardaki bu kontaminasyonun değerlendirilmesi ve minimum düzeyde tutulması için bu tür tarama çalışmalarının önemini ortaya koymaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından (17.KARİYER.178) desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Adetunji, M.C., Aliko, O.P., Awa, N.P., Atanda, O.O., Mwanza, M. (2018). Microbiological quality and risk assessment for aflatoxins in groundnuts androasted cashew nuts meant for human consumption. *Journal of Toxicology*, <http://dx.doi.org/10.1155/2018/1308748>.

Afolabi, C.G., Ezekiel, C.N., Ogunbiyi, A.E., Oluwadairo, O.J., Sulyok, M. (2020). Fungi and mycotoxins in cowpea (*Vigna unguiculata* L) on Nigerian markets. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 13(1):52-58.

Akçin, Y., Bostan, S.Z. (2019). Farklı Sulama Programlarının 'Tombul' Fındık Çeşidinde Depolama Süresince Su Aktivitesine Etkisi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 5(2):308- 313.

Anonymous (2021). Minimizing risks posed by mycotoxins utilizing the HACCP concept. <https://www.fao.org/3/x2100t/x2100t08.htm> (Erişim Tarihi: 05.11.2021)

Arroyo-Manzanares, N., Huertas-Pérez, J., Gámiz-Gracia, L., García-Campaña, A.M. (2013). A new approach in sample treatment combined with UHPLC-MS/MS for the determination of multiclass mycotoxins in edible nuts and seeds. *Talanta*, 115:61-67.

Asghar, M.A., Ahmed, A., Iqbal, J. (2016). Aflatoxins and ochratoxin A in export quality raisins collected from different areas of Pakistan. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 9(1):51-58. <http://dx.doi.org/10.1080/19393210.2015.1127293>.

Baquião, A.C., Lopes, E.L., Corrêa, B. (2016). Molecular and mycotoxigenic biodiversity of *Aspergillus flavus* isolated from Brazil nuts. *Food Research International*, 89:266-271.

Barnett, H.L., Hunter, B.B. (1998). Illustrated genera of imperfect fungi, 4th Ed. USA. Prentice-Hall, Inc. https://www.academia.edu/35499449/illustrated_genera_of_imperfect_fungi_fourth_edition. Barnett_y_Hunter._pdf.pdf, 19.03.2020.

Basaran, P., Özcan, M. (2008). Occurrence of aflatoxins in various nuts commercialized in Turkey. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1745-4565.2008.00143>.

Belli, N., Ramos, A.J., Coronas, I., Sanchis, V., Marin, S. (2005). *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A production on a synthetic grape medium in relation to environmental factors. *Journal of Applied Microbiology*, 98:839-844.

Blomhoff, R., Carlsen, M.H., Andersen, L.F., Jacobs, D.R. (2006). Health benefits of nuts: potential role of antioxidants. *British Journal of Nutrition*, 96(2):52-60. <http://dx.doi.org/10.1017/BJN20061864>.

Borchers, A., Teuber, S.S., Keen, C.L., Gershwin, M.E. (2010). Food safety. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 9:95-141.

Butler, E.E., Mann, M.P. (1959). Use of cellophane tape for mounting and photographing phytopathogenic fungi. *Phytopathology*, 49:231-232.

Cary, J.W., Ehrlich, K.C. (2006). Aflatoxigenicity in *Aspergillus*: molecular genetics, phylogenetic relationships and evolutionary implications. *Mycopathologia*, 162:167-177.

Cheraghali, A.M., Yazdanpanah, H., Doraki, N., Abouhossain, G., Hassibi, M., Aliabad, S., Aliakbarpoor, M., Amirahmadi, M., Askarian, A., Fallah, N., Hashemi, T., Jalali, M., Kalantari, N., Khodadadi, E., Maddah, B., Mohit, R., Mohseny, M., Phaghihy, Z., Rahmani, A., Setoodeh, L.,

- Soleimany, E., Zamanian, F. (2007). Incidence of aflatoxins in Iran pistachio nuts. *Food and Chemical Toxicology*, 45:812-816.
- Chulze, S.N., Magnoli, C.E., Dalcero, A.M. (2006). Occurrence of ochratoxin A in wine and ochratoxigenic mycoflora in grapes and dried vine fruits in South America. *International Journal of Food Microbiology*, 111:5-9.
- Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs consolidated version 01 Sept (2012). European Community, Brussels. <http://eur-ex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1881:20120901:EN:PDF>. Accessed 31 December 2012.
- Commission Regulation. 2012. (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs consolidated version 01 Sept (2012). European Community, Brussels. <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1881:20120901:EN:PDF>. Accessed 31 December 2012.
- Cunha, S.C., Sá, S.V.M., Fernandes, J.O. (2018). Multiple mycotoxin analysis in nut products: Occurrence and risk characterization. *Food and Chemical Toxicology*, 114:260-269.
- Deabes, M. (2010). Fungi and aflatoxins contamination in nuts imported to Saudi Arabia. National Research Center, Saudi Arabia. P310-008 *Abstracts/Toxicol Letter*, 196S, S37-S351 doi:10.1016/j.toxlet.2010.03.1096.
- Ekinci, R., Otag, M., Kadakal, C. (2014). Patulin & ergosterol: New quality parameters together with aflatoxins in hazelnuts. *Food Chemistry*, 150:17-21.
- Elzupir, A.O., Alamer, A.S. (2015). Quantitative cancer risk of aflatoxin in peanutbutter and vegetable oils: Sudan case study. *Toxin Reviews*, 33:202-205.
- Elzupir, A.O. (2018). Seasonal variation and health implications due to aflatoxins in nuts sold in Riyadh region. *Revue Francaise d'Allergologie*, 59(1):15-21.
- Emilio, R. (2010). Health benefits of nut consumption. *Nutrients*, 2:652-682.
- Fernane, F., Cano-Sancho, G., Sanchis, V., Marín, S., Ramos, A.J. (2010). Aflatoxins and ochratoxin A in pistachios sampled in Spain: occurrence and presence of mycotoxigenic fungi. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*, 3(3):185-192.
- Ghali, R., Hmaissia-Khlifa, K., Ghorbel, H., Maaroufi, K., Hedili, A. (2009). HPLC determination of ochratoxin A in high consumption Tunisian foods. *Food Control*, 20:716-720.
- Gonzalez, L., Juan, C., Soriano, J.M., Molto, J.C., Manes, J. (2006). Occurrence and daily intake of ochratoxin A of organic and nonorganic rice and rice products. *International Journal of Food Microbiology*, 107:223-227.
- Grajewski, J., Blajet-Kosicka, A., Twaruzek, M., Kosicki, R. (2012). Occurrence of mycotoxins in polish animal feed in years 2006–2009. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96:870-877.
- Gürses, M. (2006). Mycoflora and aflatoxin content of hazelnuts, walnuts, peanuts, almonds and roasted chickpeas (leblebi) sold in Turkey. *International Journal of Food Properties*, 9:395-399.
- Hammami, W., Fiori, S., Al Thani, R., Ali Kali, N., Balmes, V., Migheli, Q., Jaoua, S. (2014). Fungal and aflatoxin contamination of marketed spices. *Food Control*, 37:177-181.
- Hepsag, F., Golge, O., Kabak, B. (2014). Quantitation of aflatoxins in pistachios and groundnuts using HPLC-FLD method. *Food Control*, 38:75-81.
- Hepsag, F., Hayoğlu, İ. (2022). Çukurova ve Doğu Akdeniz Bölgesi'nde satışa sunulan kırmızı pul biber ve kuru incirler'de aflatoxin B1 ve toplam aflatoxin (B1,B2,G1,G2) içeriğinin yüksek performans sıvı kromatografi yöntemi ile belirlenmesi. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(3): 1393-1406.
- Hontanaya, C., Meca, G., Luciano, F.B., Manes, J., Font, G. (2015). Inhibition of aflatoxin B1, B2, G1 and G2 production by *Aspergillus parasiticus* in nuts using yellow and oriental mustard flours. *Food Control*, 47:154-160.

- Imperato, R., Campone, L., Piccinelli, A.L., Veneziano, A., Rastrelli, L. (2011). Survey of aflatoxins and ochratoxin a contamination in food products imported in Italy. *Food Control*, 22:1905-1910.
- International Agency for Research on Cancer, IARC. 1993. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 56:257-263.
- İnanç, A.L. (2024). Dökme ve ambalajlı baharatlık kırmızı biberlerin aflatoksin kontaminasyonunun belirlenmesi, *Kabramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 27(3):695-703.
- Kafouris, D., Christofidou, M., Christodoulou, M., Christou, E., Ioannou-Kakouri, E. (2017). A validated UPLC-MS/MS multi-mycotoxin method for nuts and cereals: results of the official control in Cyprus within the EU requirements. *Food and Agricultural Immunology*, 28:90-108.
- Karaosmanoğlu, H. (2022). The effect of late harvest on the biometric and color characteristics and aflatoxin level of Tombul hazelnuts. *Harran Journal of Agricultural and Food Science*, 26(4):549-559.
- Karaosmanoğlu, H. (2023). Farklı Ambalaj Materyallerinin Depolanan Fındıkların Geometrik ve Renk Özellikleriyle Aflatoksin Oluşumuna Etkisi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 38(2):331-352.
- Moss, M.O. (1998). Recent studies of mycotoxins. *Journal of Applied Microbiology*, 84:62-76.
- Nguyen, K.T.N., Ryu, D. (2014). Concentration of ochratoxin A in breakfast cereals and snacks consumed in the United States. *Food Control*, 40:140-144.
- Özay, G., Seyhan, F., Pembeci, C., Saklar, S., Yılmaz, A. (2008). Factors influencing fungal and aflatoxin levels in Turkish hazelnuts (*Corylus avellana* L.) during growth, harvest, drying and storage: A 3-year study. *Food Additives and Contaminants*, 25(2):209-218.
- Pittet, A. (1998). Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds e an updated review. *Revue de Medecine Veterinaire*, 149:479-492.
- Prelle, A., Spadaro, D., Garibaldi, A., Gullino, M. (2012). Aflatoxin monitoring in Italian hazelnut products by LCeMS. *Food Additives and Contaminants Part B*, 5:279-285.
- Saffari, E., Madani, M., Karbasizade, V., Shakib, P. (2021). Detection of Fungal and Bacterial Contamination of Hazelnut and Determination of Aflatoxin B by HPLC Method in Isfahan, Iran. *Current Medical Mycology*, 7(4):1-5.
- Samimi, P., Aslani, R., Molae-Aghae, E., Sadighara, P., Shariatifar, N., Khaniki, G.J., Ozcakmak, S., Reshadat, Z. (2024). Determination and Risk Assessment of Aflatoxin B1 in the Kernel of Imported Raw Hazelnuts from Eastern Azerbaijan Province of Iran. *Scientific Reports*, 14:6864.
- Sedefoğlu, C. (2013). Antep fıstıklarında okratoksin A ve aflatoksin varlığının incelenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Stroka, J., Ankle, E., Jorissen, U., Gilbert, J. (2000). Immunoaffinity column clean up with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste, and paprika powder: collaborative study. *The Journal of AOAC International*, 83:320-340.
- Şen, L., Nas, S. (2010). Fındık ve antep fıstığının mikotoksin problemi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(1):49-56.
- Tolosa, J., Font, G., Mañes, J., Ferrer, E. (2013). Nuts and dried fruits: Natural occurrence of emerging *Fusarium* mycotoxins. *Food Control*, 33:215-220.
- Toptaş, Ö., Erköse, Genç, G. (2023). Yaygın mikotoksinler: aflatoksinler, okratoksin A, fumonisinler, deoksinivalenol ve zearalenon. *Journal of Ankara Health Sciences*, 12(1): 87-98.
- Turan, A., İslam, A. (2016). Çakıldak Fındık Çeşidinde Kurutma Ortamları ve Muhafaza Süresine Bağlı Olarak Meydana Gelen Değişimler. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(2):272-285.
- Varga, E., Glauner, T., Berthiller, F., Krska, R., Schuhmacher, R., Sulyok, M. (2013).

Development and validation of a (semi-)quantitative UHPLC-MS/MS method for the determination of 191 mycotoxins and other fungal metabolites in almonds, hazelnuts, peanuts and pistachios. *Analytical and Bioanalytical Chemistry Research*, 405:5087–5104 DOI 10.1007/s00216-013-6831-3.

Wu, F., Groopman, J.D., Pestka, J.J. (2014). Public health impacts of foodborne mycotoxins. *Annual Review of Food Science and Technology*, 351-372.

Var, I., Tekin, A. (2023). Piyasada tüketime sunulan ayçiçek ve mısırözü yağlarında aflatoksin varlığının araştırılması. *Gıda*, 48(6):1304-1317.

Yang, J. (2009). Brazil nuts and associated health benefits: a review. *LWT - Food Science and Technology*, 42:1573-1580.

Yu-jiao, W., Ji-yun, N., Zhen, Y., Zhi-xia, L., Yang, C., Farooq, S. (2018). Multi-mycotoxin exposure and risk assessments for Chinese consumption of nuts and dried fruits. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(7):1676-1690.