

**FINDIK VE FINDIK ÜRÜNLERİNDE DOĞAL OLARAK
OLUŞAN MİKOFLORA İLE AFLATOKSİN
OLUŞUMLARININ ARAŞTIRILMASI**

ZEHRA SEBA KESKİN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**

2012

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FINDIK VE FINDIK ÜRÜNLERİNDE DOĞAL OLARAK
OLUŞAN MİKOFLORA İLE AFLATOKSİN
OLUŞUMLARININ ARAŞTIRILMASI

ZEHRA SEBA KESKİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

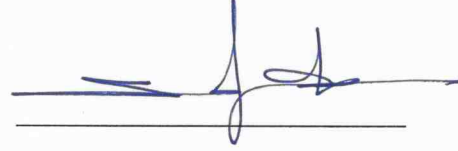
TEZ DANIŞMANI
YRD. DOÇ. DR. NEVCİHAN GÜRSOY

SİVAS
2012

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Doç. Dr. Uğur SALGIN



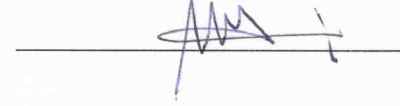
Üye

Yrd. Doç. Dr. Nevcihan Gürsoy



Üye

Yrd. Doç. Dr. N. Meltem Keklik



ONAY

Bu tez çalışması, 16/02/2012 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa DEĞİRMENCİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 009 sayılı toplantısında kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

ÖZET

FINDIK VE FINDIK ÜRÜNLERİNDE DOĞAL OLARAK OLUŞAN MİKOFLORA İLE AFLATOKSİN OLUŞUMLARININ ARAŞTIRILMASI

Zehra Seba KESKİN

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nevcihan GÜRSOY

2012, 59 sayfa

Fındık (*Corylus avellana*), insan ve hayvan diyeti için değerli bir besindir. Gıda sanayinde pasta, bisküvi, şekerleme, fındık ezmesi, çikolata yapımında kullanılmakla birlikte Türkiye’de genellikle çerezlik olarak tüketilmektedir.

Bu çalışmada, 30 çiğ, 50 kavrulmuş fındık, 20 ezme ve 50 iç zar örneğinde oluşan doğal mikoflora belirlenmiştir. Yapılan mikolojik izolasyonlarda çiğ fındıkta %1,8-2,56 *Aspergillus flavus*, %42,7-65,44 *A. niger*; kavrulmuş fındıkta %2,2-12,2 *A. flavus*, %33,3-74,5 *A. niger*; ezme örneklerinde %0-13,1 *A. flavus*, %43,5-100 *A. niger*; iç zarda ise %2,6-16,2 *A. flavus*, %44,6-89,4 *A. niger* belirlenmiştir. Örneklerin nem içerikleri sırasıyla çiğ örnekler için %3,8–4,56, kavrulmuş fındıklar için %2,44–2,9, ezme için %1,2–4,5 ve iç zarlar için %8,04–14,76 olarak tespit edilmiştir. Aflatoksin analizlerinde çiğ fındıkta 2.11–10.03 ppb, kavrulmuş fındıkta 0,1–4,04 ppb, ezme örneklerinde 0,2-6,02 ppb ve iç zar örneklerinde ise 0,7-38,2 ppb seviyelerinde aflatoksin içerikleri saptanmıştır. Çiğ, kavrulmuş fındık ve ezme örneklerinin sadece birinde yasal sınırın üzerinde toksin içeriği bulunurken, iç zar örneklerinin %100’ünde değişik seviyelerde aflatoksin bulaşıklığı bulunmuştur. Fındık iç zarı ile ilgili Türk Gıda Kodeksinde bir sınırlama olmamasına karşın örneklerin yirmibeşinde 10 ppb’nin üzerindeki aflatoksin içerikleri yüksek olarak değerlendirilmiştir.

Çalışılan örneklerin istatistiki değerlendirmelerinde Kruskal Wallis ve Mann Whitney U analizleri kullanılmıştır. Farklı gruplardaki örnekler arasında aflatoksin oluşumu ve nem içerikleri bakımından fark anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Anahtar kelimeler: Fındık, fındık iç zarı, fındık ezmesi, mikoflora, aflatoksin.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF AFLATOXIN FORMATION WITH NATURALLY OCCURRING MYCOFLORA IN HAZELNUT AND HAZELNUT PRODUCTS

Zehra Seba KESKİN

Master of Science Thesis, Department of Food Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY

2012, 59 pages

Hazelnut (*Corylus avellana*) is a valuable food for human and animal diets. It has been used as cake, biscuits, candy, peanut butter, chocolate in the construction but it has been usually used as confectionary in Turkey.

In this study, natural mycoflora was determined in samples of 30 raw nuts, 50 roasted nuts, 50 inner membrane and 20 hazelnut butter. In a result of the mycological isolates, 1,8-2,3 % *Aspergillus flavus* in raw nuts, 42,7-65,44 % *A. niger*; 2,2-12,2 % *A. flavus*, 33,3-74,5 % *A. niger* in roasted nuts; 0-13,1 % *A. flavus*, 43,5-100 % *A. niger* in hazelnut butter samples, 2,6-16,2 % *A. flavus*, 44,6-89,4 % *A. niger* in inner membrane; were determined. Moisture ranges in the samples were found as 3,88-4,56 % in for raw nuts, 2,44-2,9 % in roasted nuts, 1,2-4,5 % in hazelnut butter and 8,04-14,76 % in inner membrane, respectively. Aflatoxin contents were determined in the levels of 2,11-10,03 ppb in raw nuts, 0,1-4,04 ppb in roasted nuts, 0,2-6,02 ppb in hazelnut butter samples and 0,7-38,2 ppb in inner membrane in aflatoxin analysis.

While content of toxin was found over the legal limit in the 1% of raw nuts, roasted nuts and hazelnut butter samples, aflatoxin was found in the 100 % of inner membrane samples. Although there is no limitation of Turkish Food Codex for inner membrane, the level of higher than 10 ppb in 25 samples were evaluated as high infestation.

In the statistical evaluation of the studying samples analysis of Kruskal Wallis and Mann Whitney U were been used. Difference between the different samples with respect to aflatoxin occurrence and moisture content was found meaningly ($p < 0.05$).

Key words: Hazelnut, inner membran, hazelnut paste, mycoflora, aflatoxin.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam sırasında bana her konuda destek olan, bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren çok değerli danışmanım Yrd. Doç. Dr. Nevcihan GÜRSOY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuar çalışmalarım sırasında benden yardımlarını esirgemeyen yüksek lisans arkadaşlarım; Servet KARAÇINAR, H. Aybüke KARAOĞLAN ve Tuğba KÖSEAHMETOĞLU'na teşekkür ederim.

Numunelerimin temininde bana yardımcı olan yüce gönüllü Karadeniz insanına müteşekkirim.

Çalışmam süresince sevgi ve sabırlarıyla hep yanımda olan sevgili eşim Yrd. Doç. Dr. Baki KESKİN'e, canım oğlum Enes KESKİN'e ve annem Sevim DURMUŐ'a sonsuz teşekkürler. İyi ki varsınız.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| ÖZET..... | III |
| ABSTRACT..... | IV |
| TEŞEKKÜR..... | V |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | VII |
| ÇİZELGELER DİZİNİ..... | VIII |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 1.1 Fındığın Genel Özellikleri..... | 3 |
| 1.2 Türkiye’de Yetiştirilen Fındık Çeşitleri..... | 3 |
| 1.3 Fındığın Türkiye Ekonomisindeki Yeri..... | 4 |
| 1.4 Fındığın Kullanım Alanları..... | 5 |
| 1.5 Fındığın Bileşimi ve İnsan Diyetindeki Önemi..... | 8 |
| 1.6 Fındıkta Oluşan Doğal Mikoflora | 9 |
| 1.7 Mikotoksinler..... | 10 |
| 1.7.1 Mikotoksinlerin Canlılar Üzerindeki Etkileri..... | 12 |
| 1.7.2 Aflatoksinler..... | 12 |
| 1.8 Aflatoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri..... | 14 |
| 2. LİTERATÜR ÖZETİ..... | 18 |
| 3. MATERYAL VE METOT..... | 22 |
| 3.1 Materyal..... | 22 |
| 3.1.1 Örnekleme..... | 22 |
| 3.1.2 Örneklerin Nem İçeriklerinin Belirlenmesi..... | 23 |
| 3.1.3 Mikolojik İzolasyonlarda Kullanılan Materyaller..... | 23 |
| 3.1.3.1 Tek Spor İzolasyonunda Kullanılan Materyaller..... | 23 |
| 3.1.4 Fungal Tür Tanımlamalarında Kullanılan Materyaller..... | 23 |
| 3.1.5 Aflatoksin Analiz Metodunda Kullanılan Materyaller..... | 23 |
| 3.2 Metot..... | 24 |
| 3.2.1 Örneklerin Nem İçeriklerinin Belirlenmesi..... | 24 |
| 3.2.2 Mikolojik İzolasyonlar..... | 24 |
| 3.2.2.1 Örneklerinin Yüzey Sterilizasyonu..... | 24 |
| 3.2.2.2 Mikrobiyolojik Ekim..... | 24 |
| 3.2.2.3 Tek Spor İzolasyonu..... | 25 |
| 3.2.3 Fungal Tür Tanımlamaları | 25 |
| 3.2.4 Aflatoksin Analiz Metodu..... | 26 |
| 3.2.4.1 Numune Hazırlama ve Ekstraksiyon..... | 26 |
| 3.2.4.2 CD-ELISA Analizi..... | 26 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA..... | 28 |
| 4.1. Örneklerin Nem İçerikleri..... | 28 |
| 4.2. Örneklerdeki Doğal Mikofloranın Belirlenmesi..... | 30 |
| 4.3. CD-ELISA Yöntemi ile Toplam Aflatoksinlerin Belirlenmesi..... | 37 |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 45 |
| 6. KAYNAKLAR..... | 49 |
| 7. ÖZGEÇMİŞ..... | 60 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Şekil 1.1 Aflatoksin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ 'nin kimyasal yapıları..... | 14 |
| Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan örnek çeşitleri..... | 22 |
| Şekil 4.1 Çalışılan örneklerin nem içerikleri..... | 28 |
| Şekil 4.2 Tek spor izolasyonu..... | 30 |
| Şekil 4.3 Örnek gruplarından izole edilmiş fungal türler..... | 33 |
| Şekil 4.4 Çiğ fındık örneklerinde tanımlanan fungal türler..... | 34 |
| Şekil 4.5 Kavrulmuş fındık örneklerinde tanımlanan fungal türler..... | 35 |
| Şekil 4.6 Fındık ezmelerinde tanımlanan fungal türler..... | 36 |
| Şekil 4.7 Fındık iç zar örneğinde tanımlanan fungus cinsleri..... | 37 |
| Şekil 4.8 CD-ELISA testinde kuyucuklardaki renk oluşumu..... | 38 |
| Şekil 4.9 Çalışılan örneklerin nem içerikleri ve aflatoksin oluşumları..... | 40 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Çizelge 1.1 2004-2010 yılları arasında dünya fındık üretimi..... | 5 |
| Çizelge 1.2 2005- 2009 yılları arasında fındık üretim miktarları..... | 6 |
| Çizelge 1.3 2005- 2009 yılları arasında üretilen fındık ezmesi miktarları..... | 7 |
| Çizelge 1.4 Gıdalarda bulunan önemli mikotoksinler ve bu toksinleri üreten türler. | 11 |
| Çizelge 1.5 Türkiye’de gıdalarda bulunmasına izin verilen aflatoksin düzeyleri (ppb). | 17 |
| Çizelge 4.1 Bölgelerdeki bağıl nem, yağış ve sıcaklık değerleri..... | 29 |
| Çizelge 4.2 Örneklerden izole edilen fungus cinsleri..... | 32 |
| Çizelge 4.3 Örneklerde belirlenen toksin içerikleri ve bulaşıklık..... | 36 |

1.GİRİŞ

Fındık (*Corylus avellana*) *Betulaceae* familyası *Corylus* cinsi içerisinde *Corylus avellana* türü olarak yer alan sert kabuklu bir meyvedir. Türkiye yıllara göre değişmekle birlikte yaklaşık 600 bin ton üretim ile dünya fındık üretiminde birinci sırada yer almaktadır. Fındık, ülkemizde Karadeniz bölgesinde yoğun olarak da Trabzon, Ordu Giresun ve Akçakoca bölgelerinde yetiştirilmektedir.

Dünyada ticari olarak üretilen yaklaşık 4 milyon ton/yıl sert kabuklu meyvenin 700 bin tonu fındıktan oluşmaktadır. Türkiye, dünya üretiminde %75-80'lik payla en önemli ülke konumundadır. Türkiye ekonomisinde önemli bir yeri olan ve bitkisel ürünler içinde en yüksek döviz getiren ürün fındıktır (Dölekoğlu, 2002).

Fındık ekonomiye olan katkıları dışında, insan ve hayvan diyetinde beslenme yönünden, içerdiği yağ, protein, vitamin ve mineral maddeler bakımından oldukça önemli bir gıda maddesidir. İç fındık; kıyılmış, dilinmiş ve öğütülmüş olarak %80'i çikolata sanayiinde, bisküvi, şekerleme, tatlı, pasta ve dondurma yapımında kullanılır. İç piyasa ve ihracatta değerlendirilmeyen fındıklar yağ üretimine ayrılır. Türkiye'de ise genellikle çerezlik olarak tüketilmektedir (Pala, 1996; Özdemir vd., 1998; Akgün, 2005).

Hemen her gıda maddesinde karşılaşılabileceği gibi fındık üretimini de sınırlayan biyolojik, kimyasal, mikrobiyolojik faktörler bulunmaktadır. Mikrobiyolojik faktörler arasında; fungal bulaşmalar ve funguslar tarafından üretilen aflatoksinler önem arz etmektedir.

Fındıkta raf ömrünü kısaltan en önemli etkenlerden biri funguslardır. Fındık doğal mikoflorasında yaygın olarak *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsleri görülmektedir. *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. fumigatus*, *A. candidus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. tamarii*, *A. terreus*, *A. wentii*, *P. brevicompactum*, *P. verrucosum*, *P. jensenii*, *P. griseofulvu* ve *P. rugulosum*, fındıkta daha çok hasat sırası ve sonrasında üründe gelişerek uygun nem ve sıcaklık bulduğunda ikincil metabolizma faaliyetleri sonucunda mikotoksin üretme yeteneğindedirler.

Başlıca *A. flavus*, *A. parasiticus* ve *A. nomius* tarafından üretilen aflatoksinler ise bilinen en toksik etkiye sahip mikotoksinlerdir. Aflatoksinlerin B₁, B₂, G₁, G₂ ve sadece sütlerde bulunan M₁ ve M₂ formları bulunmaktadır. Aflatoksinler insan ve hayvan sağlığı üzerinde mutajenik, kanserojenik, teratojenik (embriyonal zararlanmalar),

tremorjenik (titreme ve refleks kayıpları sorunları), hemoraljik (doku ve organlarda kanama sorunları), dermatitik (deride lezyonlar), hepatoksik (karaciğer zararlanmaları), nefrotoksik (böbrek sisteminde zararlanmalar), nörotoksik (sinir sistemi zararlanmaları) vb. etkilere sahip olabilmektedir (Barnes, 1970; Eaton ve Gallagher, 1994; Henry vd., 1999).

Aflatoksinler birçok hayvan türünde en etkili hepatokarsinojen olarak bilinmektedir. Birçok ülkede aflatoksinle kontamine olmuş yiyeceklerin tüketimi ile karaciğer kanserinin görülme riskindeki artış arasında pozitif bir ilişki bulunması nedeniyle, aflatoksinler Uluslararası Kanser Araştırma Örgütü (IARC) tarafından canlı kanserojeni olarak kategorize edilmiş ve 1A grup karsinojeni olarak sınıflandırılmıştır (IARC, 1993).

Başta Avrupa Birliği (AB) ve tüm dünyada özellikle, ithalatçı ülkeler halk sağlığını korumak amacıyla, aflatoksinlerle ilgili yasal sınırlama değerlerini belirlemişlerdir. Dünya genelinde riskli ürünlerde aflatoksin limitinin mümkün olan en düşük seviyeye ya da sıfıra indirilmesinin gerekliliği tüm ülkeler tarafından hedeflenmektedir. Bu hedef doğrultusunda birçok ülkede Aflatoksin B₁ (AFB₁) limiti 5 ppb'den 2 ppb'ye; fındıkta toplam aflatoksin 10 ppb'den, 4 ppb'ye indirilmiş (Commission Regulation EC No 194/97), Türk Gıda Kodeksi'nde (TGK) ise fındık ve ürünlerinde toplam aflatoksin 10 ppb, AFB₁ ise maximum 5 ppb olarak belirlenmiştir.

Türkiye'nin ihraç ettiği fındıklardaki aflatoksin değerlerinin bu limitler üzerinde çıkması nedeniyle, ihraç ettiğimiz ülkelere geri çevrilmesi büyük ekonomik kayıplara yol açmakta, üretici ve sanayiciyi zor durumda bırakmakta, ülkemizin dış ticaretteki itibarını zedelemekte ve pazarlama problemlerine neden olmaktadır. Zaman zaman basında fındıktaki aflatoksin bulaşıklıkları nedeniyle yaşanan ekonomik ve sağlık sorunları gündeme gelmektedir. Fındık üretiminde yaşanan bu problemler ise gazete manşetlerine **“ZEHİRLİ TEK ÜRÜN BİBER DEĞİL”, “TÜRK FINDIĞINA AB'DEN AFLATOKSİN DARBESİ”, “FINDIĞA CENAZE NAMAZI”, “800 MİLYONLUK İHRACAT TEHLİKEDE”** olarak yansıtılmıştır (Anonim, 2012). AB Gıda ve Hayvan Sağlığı Ajansı, Türkiye'nin Almanya ve Fransa'ya ihraç ettiği fındık Antep ve Siirt fıstığı ve kuru incirlerin, kanserojen bir madde olan aflatoksin türlerini, AB'nin sağlık standartlarının öngördüğünden 4–7 kat fazla içerdiğini açıklamıştır. Bunun üzerine Türkiye'ye gelen uzmanlar heyeti bir rapor yazarak, 11 örneğin 5'inde çok yüksek miktarda aflatoksin bulunduğu, 6 örnekte ise oranın AB yönetmeliğinin üst sınırında olduğunu belirtmiştir (TÜBİTAK MAM, 2005). Raporla, bu ürünlerin

tüketildiği anda kısa vadede, başta karaciğer olmak üzere çeşitli kanserlere neden olabileceği vurgulanmış ve AB, bu ürünlerin ithalatının izlemeye alınmasına karar vermiştir. 4 Şubat 2002'de AB Resmi Gazetesi'nde yayımlanan karara göre Gıda Sağlığı ve Tarım İşleri Genel Müdürlüğü'nün laboratuvar analizi ile sertifikası olmadan söz konusu ürünlerin AB sınırlarından içeri girmemesine karar verilmiştir (DG SANCO, 2000).

Aflatoksin oluşumları meydana geldikten sonra kontrol altına alınmaları mümkün olamamaktadır. Bu nedenle funguslar tarafından üretilen aflatoksinlerin oluşumu için alınacak en etkin önlem, gıdaların hem kontaminasyon riskini azaltan hem de fungus gelişimini sınırlayan koşullar altında hasat edilmesi, kurutulması, depolanması ve işlenmesidir. Bu koşulların sağlanması ise ancak üründe oluşan ve toksin oluşumuna neden olabilecek doğal mikofloranın belirlenmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada; çiğ ve kavrulmuş fındık ve hakkında yeterince literatür bilgisi bulunmayan ezme ve iç zarda doğal olarak oluşan mikofloranın belirlenmesi ve aflatoksin oluşumlarının araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca çalışmamızdan elde edilen bilimsel verilerin, yurt içi ve yurt dışı yayınlara katkı sağlaması, üzerinde nadir çalışmalar bulunan iç zardaki aflatoksin bulaşımının belirlenerek üreticiler ve ürün işleyen firmalar için yol gösterici olması hedeflenmiştir.

1.1 Fındığın genel özellikleri

Dünya'da 36°-41° kuzey enlemlerinde yetişebilen ve kendine özgü bir iklime ihtiyaç gösteren, uzun ömürlü, çalı formunda olan fındık, kuzey yarım kürenin ılıman iklim kuşağından, Japonya, Çin, Mançurya, Kafkasya, Türkiye, Avrupa ve Kuzey Amerika'ya kadar geniş alanlarda ve farklı iklim koşullarında üretilmektedir.

Fındık, meyve olarak yıllık toplam yağış miktarı en az 700 mm'de, sıcaklığı 13–16 °C'de, ılıman ve nemli iklim koşullarında, genellikle derin, tınlı, humuslu ve pH'ı 6 olan, besin maddelerince zengin topraklarda iyi gelişme göstermektedir (Sobutay, 2006).

1.2 Türkiye'de Yetiştirilen Fındık Çeşitleri

Türkiye'de yetiştirilen başlıca fındık türleri; Adi fındık (*Corylus avellana*), Lambert fındığı (*Corylus maxima*) ve Türk fındığı (*Corylus colurna*)'dır. Bu çeşitler içerisinde en çok Adi fındık ile Lambert fındığının çaprazlanması ile elde edilmiş melez türler yetiştirilmektedir (Palme ve Vendramin, 2002).

Sayıları 20'yi bulan bu fındık türleri ticaret ve standartlarda meyve şekil ve özelliklerine göre üç ana çeşide ayrılmaktadır.

Yuvarlak Fındık: Uzunluğunun genişliğine oranı $1,00 \pm 0,19$ olup, en yüksek tada ve kaliteye sahip fındık çeşididir. Tombul, palaz, kalınkara, çakıldak, foşa, mincane, kargalak, boyhane ve uzunmusa, yuvarlak fındık çeşitleridir. Ülkemizde üretimi en çok yapılan fındık çeşidi Tombul fındık olup, özellikle Giresun ve Ordu Bölgesi'nde yaygın olarak üretimi yapılmaktadır (Özdemir, 1997; Sarıyar, 1998).

Sivri Fındık: Uzunluğunun genişliğine oranı $1,3 \pm 0,1$ olan fındık çeşididir. Sivri, badem, ince kara, kuş fındığı, acı fındık, değirmendere ve kanfındığı olarak bilinen fındıklar sivri fındık çeşidine girmektedir. Kırılma esnasında daha fazla zayıat verdiğinden marketlerde kabuklu ve iç fındık olarak pazarlanmaktadır.

Uzun Fındık: Uzunluğunun genişliğine oranı 1,4 üzerinde olan fındık çeşididir. Yuvarlak badem ve yassı badem, uzun fındık çeşidine örnektirler. Yapı, tat ve kalite faktörleri orta değer olan bu fındıklar, uluslararası ticarete şekillerinden ve sert-kuru yapılarından dolayı tercih edilmezler. Bundan dolayı yerel marketlerde taze olarak tüketilmektedirler (Özdemir, 1997). Türkiye'de yetiştirilen fındıklar kalite yönünden Giresun ve Levant olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

Giresun kalite fındık, Giresun ilinin tamamında yetiştirilen tombul fındıklar ile az çok Giresun kalitesi özelliği taşıyan Trabzon ilinin Beşikdüzü, Vakfıkebir, Çarşıbaşı ve Akçaabat ilçelerinde yetiştirilen tombul fındıklardır. Giresun kalite fındık, dünyadaki fındık çeşitleri içinde en yüksek oranda zar bırakan, en üstün özellikli fındıkları olarak tanımlanmaktadır.

Levant kalite fındık, Giresun kalite fındığın üretim bölgesi dışında kalan bölgelerde üretilen tüm fındıklara verilen ortak isimdir. Yetiştirildiği bölgeye göre Levant Akçakoca, Levant Ordu, Levant Trabzon ve Levant Samsun olarak isimlendirilen bu fındıklar Giresun kalite fındıklardan daha az yağ oranı içermesine karşın, diğer ülkelerde yetiştirilen fındıklardan genellikle daha yüksek yağ oranına sahip olup, tat bakımından da üstün niteliktedirler (Anonim, 2009a).

1.3. Fındığın Türkiye Ekonomisindeki Önemi

Dünyanın sınırlı bölgelerinde yetiştirilebilen fındık, sert kabuklu meyveler içerisinde önemli bir konuma sahip olup gerek üretim gerekse tüketim bakımından bademden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Dünyada fındık ekim alanı, üretimi ve ticareti bakımından en önemli ülkelerinin başında gelen Türkiye, baskın ülke olma özelliği

taşımaktadır (Anonim, 2010b). Dünya fındık üretiminin ortalama %75-80'ini gerçekleştiren Türkiye'yi sırasıyla İtalya, İspanya, ABD, Gürcistan, Azerbaycan izlemektedir. Yıllara göre ülkelerin fındık üretim değerleri Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1 2004-2010 yılları arasında dünya fındık üretimi (Anonim, 2010b).

| Dünya Fındık Üretimi (Ton) | | | | | | | |
|-----------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|
| Ülkeler | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 |
| Türkiye | 350.000 | 530.000 | 661.000 | 530.000 | 800.791 | 500.000 | 600.000 |
| İtalya | 133.500 | 65.000 | 138.000 | 95.000 | 125.000 | 85.000 | 105.000 |
| İspanya | 25.000 | 20.000 | 28.000 | 18.000 | 26.000 | 18.000 | 24.000 |
| A.B.D. | 33.500 | 25.400 | 39.010 | 33.570 | 36.280 | 32.000 | 34.000 |
| Gürcistan | 8.327 | 16.393 | 14.000 | 25.000 | 35.000 | 27.000 | 40.000 |
| Azerbaycan | 5.491 | 27.986 | 25.000 | 30.800 | 40.000 | 30.000 | 45.000 |
| Diğer | 47.606 | 47.876 | 52.244 | 48.880 | 50.900 | 20.000 | 27.000 |
| Toplam | 603.424 | 732.655 | 957.254 | 781.250 | 1.113.971 | 712.000 | 925.000 |

Türkiye ekonomisinde bitkisel ürünler içinde en yüksek döviz getiren ürün olan fındık, 80 ülkeye ihraç edilmekte ve yıllık yaklaşık 700 milyon dolar gelir elde etmektedir. Eylül başından itibaren fındık sezonunun 29 haftalık bölümünden yaklaşık 1 milyar doları aşkın gelir sağlanmaktadır. Yılın bu döneminde toplam fındık ihraç miktarı 156.3 bin ton olup, ihracatın 131.9 bin tonu (%83,89'u) AB ülkelerine gerçekleştirilmektedir (Dölekoğlu, 2002; Anonim, 2006).

1.4. Fındığın Kullanım Alanları

Ülkemizde ilk olarak Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yapılmaya başlanan fındık yetiştiriciliği, devletin fındığa 1964 yılından bu yana maliyetlerin üstünde fiyatlardan alım garantisi vermesi, fındığın diğer ürünlere göre daha az emekle yetiştirilen bir ürün olması, bölgeden yapılan göçler vb. etkenlerden dolayı önce Batı Karadeniz Bölgesi'nde, daha sonra ise diğer bölgelerde ekonomik olarak yetiştirilmeye başlanmıştır. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın Çiftçi Kayıt Sistemine göre Türkiye'de 38 ilde fındık yetiştiriciliği yapılmasına karşın, ticari olarak yetiştiriciliğin tamamına yakını Ordu, Giresun, Samsun, Trabzon, Düzce, Sakarya, Zonguldak, Artvin, Bartın, Kocaeli, Kastamonu ve Rize illerinde yapılmaktadır. 2005-2009 yılları arasında Türkiye'de üretilen çiğ ve kavrulmuş fındık üretim miktarları Çizelge 1.2'de verilmiştir.

Çizelge 1.2 2005- 2009 yılları arasında fındık üretim miktarları (TÜİK, 2010)

| Yıl | Çiğ Fındık (Kg) | Kavrulmuş Fındık (Kg) |
|------|-----------------|------------------------|
| 2005 | 308 327261 | 50 490 707 |
| 2006 | 303 063 523 | 59 481 172 |
| 2007 | 324 962 134 | 77 688 723 |
| 2008 | 281 692 330 | 73 940 530 |
| 2009 | 285 242 897 | 73 248 177 |

Aynı sisteme göre 395 bin aile, 642 bin hektarlık bir alanda ekonomik olarak fındık yetiştiriciliği yapmaktadır. Türkiye’de fındık dikim alanlarının %60,2’ sinin asıl üretim bölgesi olan Doğu Karadeniz Bölgesinde bulunduğu belirtilmektedir (Anonim, 2010a).

Çiğ iç fındık, dış kabuğundan ayrılıp herhangi bir işlemde geçirilmeden çerezlik olarak, çikolata sanayinde, lokum, krokan, cezerye, yağ ve şekerleme sanayinde kullanılmaktadır (Anonim, 2009b).

Kavrulmuş fındık ise çiğ fındığın iç zarından ayrılarak ya da zarlı olarak kavrulmasıyla hazırlanmış bir üründür. Genellikle 100-150°C’ arasında isteğe bağlı olarak hafif, orta veya çok kavrulmuş olarak hazırlanabilmektedir (Anonim, 2011a).

Kavrulmuş fındık içeren fındıklı dondurma ve kahve halk tarafından severek tüketilen ürünlerden bir kaçıdır.

Fındık ezmesi, iç fındığın kavurma işlemi ile kısmen veya tamamen zar kısmından ayrıldıktan sonra içerisine çeşitli lezzet ve çeşni verici maddeler, gerektiğinde katkı maddelerinden bir veya birkaçının ilave edilmesiyle küçük parçacıklar halinde veya tamamen ezilerek homojen hale getirilerek elde edilen bir fındık mamulüdür. Doğrudan tüketildiği gibi çikolata ve ürünleri, lokum, sert-yumuşak krokan (nugat), yağ sanayii ve pastacılıkta da kullanılmaktadır (Anonim, 2009b). Türkiye’de yıllara göre fındık ezmesi üretim miktarı Çizelge 1.3’te verilmiştir.

Çizelge 1.3 2005- 2009 yılları arasında Türkiye’de üretilen fındık ezmesi üretim miktarı (TÜİK, 2010)

| Türkiye Fındık Ezmesi Üretimi | |
|--------------------------------------|--------------------|
| Yıl | Miktar (Kg) |
| 2005 | 23 367 183 |
| 2006 | 8 644 990 |
| 2007 | 8 645 594 |
| 2008 | 9 922 318 |
| 2009 | 11 342 026 |

Fındık iç zarı çoğunlukla çiğ ya da kavru olarak üretilen tüm fındık ürünlerinde işlenerek veya doğrudan çerezlik olarak tüketilmektedir. İç zar %64,72 lif, %9,13 yağ, %11,8 , %7,57 protein içeriğine sahip bir üründür (Anil, 2007). Gıda ve yağ sanayinde kullanılan fındıkların tamamına yakını iç zarlı olarak işlenmektedir. Fındık üretilen bölgelerde iç zar, toprak gübresi, yakacak, hayvan yemi ve ahırlarda kuruluk gibi çeşitli şekillerde kullanılmaktadır.

İç piyasada ve ihracatta değerlendirilemeyen üretim fazlası fındıklar, yağ olarak işlenmektedirler. Rafine fındık yağı, yemeklik olarak ve pasta-bisküvi sanayiinde, fındık ham yağı ise boya, kozmetik, sabun sanayii gibi diğer endüstriyel dallarda kullanılmaktadır (Anonim, 2011a).

Yağı çıkarılan fındıklardan sonra arta kalan küspe, hayvan yemlerinin katkı maddesini oluşturduğu gibi, içerisindeki %38–45 oranındaki proteinden dolayı bisküvi ve ekmek yapımında da kullanılmaktadır. Ayrıca bu fındıklar gıda endüstrisinin dışında farklı alanlarda da değerlendirilmektedir.

Fındık, kırma fabrikalarında işlenip iç haline getirildikten sonra, bıraktığı sert kabuk ülkemizde, özellikle fındık üretilen yörelerde çok değerli ve yüksek kalorili bir yakacak olarak tercih edilmektedir. Fındık, çeşidine göre ağırlığının %50-57’si oranında sert kabuk bırakmaktadır. Gelişmiş ülkelerde fındık kabuklarından kontralit ve yer muşambaları imal edilmekte, plastik ve kauçuk sanayilerinde boyama ve parlatma işlerinde kullanılan çeşitli maddeler yapılmakta, toz kömür ve linyitle karıştırılarak briket sanayinde, zehirli gazların üretiminde değerlendirilmektedir (Kulaç, 1997; Karakuş, 2006).

Ayrıca Amerikan Kimya Derneği'nin 219. ulusal toplantısında, fındık ağacının ve fındığın kanser tedavisinde kullanılan Taxol adlı ilacın hammaddesini içerdiği bildirilmiştir. Fındık ağacında 60–70 µg/g ve fındıkta 6–7 µg/g kadar bulunan Paclitaxel adlı bu kimyasalın laboratuarlarda yapay olarak üretilmesinin çok pahalıya mal olduğu belirtilmektedir. Bu bilgi ışığında gelecekte fındık ve fındık ağaçlarının antikanser ilacı olarak alternatif bir kaynak olabileceği bildirilmektedir (Liu, 2000).

1.5 Fındığın Bileşimi ve İnsan Diyetindeki Önemi

Fındığın önemli besin öğeleri yağ, protein, karbonhidrat, vitaminler ve minerallerdir. Bileşiminde %61,2 yağ, %15,3 protein, %3,9 su, %2,2 kül, %17,3 karbonhidrat, %12,9 lif ile fosfor, kalsiyum, magnezyum, mangan, çinko, demir ve sodyum gibi madensel maddeler ayrıca; aminoasitler ile B₁, B₂, B₆ ve E vitaminleri bulunmaktadır (Alasavar, 2003).

100 gramı 600–650 kcal enerji içeren fındık, metabolizmayı düzenleyen B grubu vitaminler yönünden oldukça zengin bir besindir (Richardson, 1997).

Ayrıca fındığın, E vitamini (α - tokoferol) yönünden de iyi bir kaynak olduğu bildirilmiştir (Bada vd., 2004). Antioksidan özelliğe sahip olan E vitamini, hücre zarında oksidasyonu önlemekte ve hücrede serbest radikal oluşumuna neden olan serbest oksijeni, çoklu doymamış yağ asitlerini okside ederek enzimatik olmayan bir yoldan parçalamasını durdurmaktadır. Her gün yenen 25-30 g fındık, günlük E vitamini ihtiyacının tamamını karşıladığı bildirilmiştir (Anonim, 2009c).

Sağlık yönünden de çeşitli faydaları olan mineral maddeleri içeren fındık; kemik, diş, yumuşak dokular, hemoglobin, kas, kan ve sinir hücreleri üzerine olumlu etkiler göstermektedir. Kalsiyum; kemiklerin ve dişlerin yapımında, demir; kan yapımında, çinko; büyüme ve cinsel hormonların gelişmesinde, potasyum; hücrede ozmatik basıncın düzenlenmesinde, magnezyumun ise kas ve sinir iletiminde etkili olduğu vurgulanmaktadır (Saldamlı ve Sağlam, 1998).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda fındığın sağlıklı beslenme yönünden uygun niteliklere sahip ve yüksek enerji sağlayan bir besin kaynağı olmasının yanında içerdiği çok yüksek düzeylerdeki tekli doymamış yağ asidi olan oleik asidin (%82 oleik asit, %12 linoleik asit, %15 palmitik asit ve %1 stearik asit) kanda kolesterolün yükselmesini engelleyerek kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucu olduğu belirlenmiştir (Pehlivanoğlu, 2006; Yağmur ve Özer, 2006; Açkurt, 2006).

1.6 Fındıkta Oluşan Doğal Mikoflora

Karadeniz Bölgesi sahip olduğu iklimik koşullar, fındık üretim aşamalarında kullanılan geleneksel yöntemler ve uygun olmayan koşullar nedeniyle fungal gelişimi teşvik edici özelliktedir. Fungal gelişim, ağırlıklı olarak tohum ve kabukta görülmekte ve ürünün dış tabakasında leke şeklinde gelişimine devam etmektedir (Moss, 2002; Leong vd., 2009).

Fındığın doğal mikroflorasında *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsleri daha fazla görülmekte ve ülkelere göre baskın fungus cinsleri ve türleri farklılıklar gösterebilmektedir.

Yapılan bir çalışmada, fındıklarda *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsine ek olarak *Eurotium*, *Fusarium* ve *Cladosporium* cinsleri de yer almaktadır (Abdel-Hafez ve Saber, 1993).

Türkiye genelinde gıdalarda fungus florasının saptanması ve fungusların oluşturdukları mikotoksinlerin varlığının belirlenmesi amacıyla TÜBİTAK MAM tarafından yürütülen bir çalışmada 60 gıda örneği analiz edilmiştir. Bu çalışmadaki fındık örneklerinde; *P. chrysogenum*, *P. vermicosum*, *P. brevicompactum*, *P. notatum*, *A. versicolor*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. oryzae*, *Rhizopus nigricans*, *Trichothecium roseum*, *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Helminthosporium* spp., *Geotrichum* spp. gözlemlenmiştir (Demirer vd., 1989).

Türkiye kabuklu fındıklarında yapılan bir araştırmada ise Karadeniz ve Marmara bölgesinde fındık üreten illerden toplanan 61 numunede başta *A. niger* olmak üzere *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. candidus* türleri ile *Penicillium*, *Trichothecium*, *Rhizopus* ve *Fusarium* cinsleri izole edildiği bildirilmiştir (Çoksöyler vd., 1993).

1994 yılında Türkiye’de yapılan bir araştırmada fındıktaki mikoflora baskın olarak *Penicillium* ve *Aspergillus* cinsleri gözlemlenmişken, *Rhizopus stolonifer*, *Absidia corymbifera* ve *Syncephalastrum racemosum* türleri de bulunmuştur (Şahin ve Kalyoncuoğlu, 1994).

Yapılan bir çalışmada fındığın kurutma aşamasındaki hakim mikofloranın *Penicillium*, *Trichothecium*, *Eurotium*, *Trichoderma*, *Cladosporium* cinslerinden meydana geldiği bildirilmiştir. Ayrıca *Rhizopus* spp., *Acremonium* spp., *Paecilomyces* spp., *Mucor* spp., *Alternaria* spp., *Verticillium* spp. ve *Pestalotiopsis* spp. daha az sıklıkla rastlandığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada sık rastlanan türlerin ise *A. flavus*, *A. parviticus*, *A. niger*, *A. carbonarius*, *P. commune*, *P. brevicompactum*, *P. crustosum*, *P. fellutanum*, *P. janzewskii*, *P. aurantiogriseum*, *Trichothecium roseum* olduğu ifade edilmektedir (Heperkan, 2003).

1.7 Mikotoksinler

Mikotoksinler, fungusların ikincil metabolizmaları içerisinde birikmiş bulunan polipeptid, aminoasit fenol ve terpenoidler gibi kimyasal yapılardan türetilmektedir. Birçok mikotoksin kimyasal olarak stabildir ve üretici fungus canlılığını kaybettikten sonra bile uzun bir süre varlıklarını sürdürebilmektedir. (Pasteiner, 1997; Gravesen vd., 1999; Abarca vd., 2000; Cast, 2003).

Tarımsal ürünlerdeki fungal etmenlerin varlığı önceleri ürünlerdeki bozulmalara, besin değerindeki kayıplara, tohumların çimlenme kabiliyetinde düşümlere, verim kayıplarına neden olmaları ile ön plana çıkmaktaydı. Ancak gıda ve yemlerde gelişen fungusların gelişme sürecini tamamladıktan sonra miselleri içerisinde oluşturdukları ve üzerinde buldukları ürüne salgıladıkları toksik metabolitler, insan ve hayvan sağlığını tehdit ettiği belirlenmiştir. Daha sonrasında yapılan çalışmalarda fungal bulaşmaların ekonomik boyutun ötesinde sağlık açısından ciddi bir tehlike olduğu ortaya çıkmıştır (Temiz ve Özkaya, 2003).

Gıda ve yemler çok çeşitli fungusların saldırısına hedef olmakla beraber mikotoksin sentezleme yeteneğinde olan 100'den fazla fungusun yaklaşık 400 civarında mikotoksin ürettiği bildirilmektedir (Sharma, 1991). Başlıca mikotoksinler ve bu toksinleri üreten fungal türler Çizelge 1.4'de özetlenmiştir.

Çizelge 1.4 Gıdalarda bulunan önemli mikotoksinler ve bu toksinleri üreten türler (Anonim, 2000)

| Mikotoksinler | Toksin Üreten Türler |
|---|--|
| Aflatoksin | <i>A. flavus, A. parasiticus, A. nomius</i> |
| Alternaria toksinleri: - Alternariol - Alertoksin - Tenuazonikasit | <i>A. alternata, A. tenuissima</i> |
| Fusarium toksinleri: - Trikotesen - Zearalenon - Fusarin C - Fumonisin | <i>F. culmorum, F. equiseti, F. graminearum, F. moniliforme, F. poae, F. sambucinum, F. sporotrichioides, F. verticillioides</i> |
| Sitrinin | <i>A. terreus, P. expansum, P. citrinum, P. citreonigrum, P. verricosum</i> |
| Patulin | <i>A. clavatus, A. terreus, B. fulva, B. nivea, P. variotii, P. griseofulvum, P. expansum, P. roquefortii Chemotyp II</i> |
| Penisilikasit | <i>A. alutaceus, P. auratiogriseum, P. roquefortii Chemotyp II, P. simplicissimum, P. raistrickii, P. viridicatum</i> |
| Siklopiazonikasit | <i>A. flavus, A. tamarii, P. camambertii, P. griseofulvum, P. Puberulum</i> |
| Okratoksin A | <i>A. ochraceus Gr., A. alutaceus, A. fresenii, E. herbariorum, P. verrucosum Chemotyp I ve II</i> |
| Sterigmatosistin | <i>A. versicolor, E. nidulans, Eurotium spp. (iz miktarda)</i> |

Mikotoksinlerin sentezlerini gerçekleştiren fungusları cins veya türlerine göre sınıflandırmak çoğu zaman mümkün olamamaktadır. Bunun nedeni bir mikotoksinin çeşitli fungus türleri tarafından sentezlenebildiği gibi tek bir fungus türünün de farklı mikotoksinler oluşturabilme kapasitesine sahip olabilmesidir.

Mikotoksinlerin kimyasal yapıları incelendiğinde çoğunun aromatik yapıda olduğu, belli bir kısmının da alifatik bileşiklerden oluştuğu görülmektedir (Heathcote ve Hibbert, 1978). Genellikle yüksek sıcaklıklara dirençli olup (termostabil), mikotoksin çeşidine, sıcaklık derecelerine ve uygulama sürelerine göre farklı stabilite göstermektedirler. Mikotoksinlerin belli bir kısmı ise sentezledikleri toksinlerden olumsuz etkilenmez. Bazı mikotoksinler endotoksin olarak misel içinde birikirken,

birçoğunun miselden substrata doğru salgılandığı ve yayıldığı görülmektedir. Bu sebeple fungal olarak bulaşık gıda ve yemlerden miseller uzaklaştırılsa bile ürünün mikotoksin tehlikesi ortadan kalkmamaktadır. Fungal etmenler kontrol altına alınsa da mikotoksin oluşumu meydana geldikten sonra tamamen yok edilmesi mümkün olmamaktadır (Anonim, 2000).

1.7.1 Mikotoksinlerin Canlılar Üzerindeki Etkileri

Mikotoksinli gıdaların ve yemlerin tüketimi sonucu insan ve hayvan gibi yüksek yapıları canlılarda görülen toksik etki sonucu meydana gelen hastalık oluşumlarına “mikotoksikozis” adı verilmektedir (EC Report, 1999).

Mikotoksinlerin vücutta etkili oldukları organ ve dokulara göre veya etki mekanizmalarına bağlı olarak çeşitli etkilerinden söz edilmektedir. Mikotoksinler; canlı sağlığı üzerinde kanserojenik, teratojenik, tremorjenik, hemoraljik, dermatitik, hepatoksik, nefrotoksik, nörotoksik, etkilere neden olabilmektedir (Beuchat, 1992).

İnsanlarda ve hayvanlarda mikotoksin tüketiminin toksik etkileri, bireyin duyarlılığı, genetik ve fizyolojik özellikleri, toksin türü, alınan toksin miktarı, etki mekanizması gibi birçok etkene bağlıdır (Hussein ve Brasel, 2001; Galvano vd., 2001).

İnsan ve hayvanların mikotoksinlerin neden olduğu toksik etkilerden korunma amacıyla ısı, ışınlama, adsorbsiyon, ozon uygulaması gibi fiziksel, kimyasal ve biyolojik kontrol yöntemleri tek veya kombine olarak kullanılmaktadır. Fakat en etkin yöntemi ise gıda ve yemlerdeki fungal bulaşmanın önüne geçilmesi veya fungal olarak bulaşık gıdaların tüketimlerinin engellenmesidir (Ciegler vd., 1966; Dollear vd., 1968; Mann ve Rehm, 1976; Price ve Jorgensen, 1985; Arriola vd., 1988; Williams ve Dutton, 1988; Shantha, 2000; Prudente ve King, 2002;).

1.7.2 Aflatoksinler

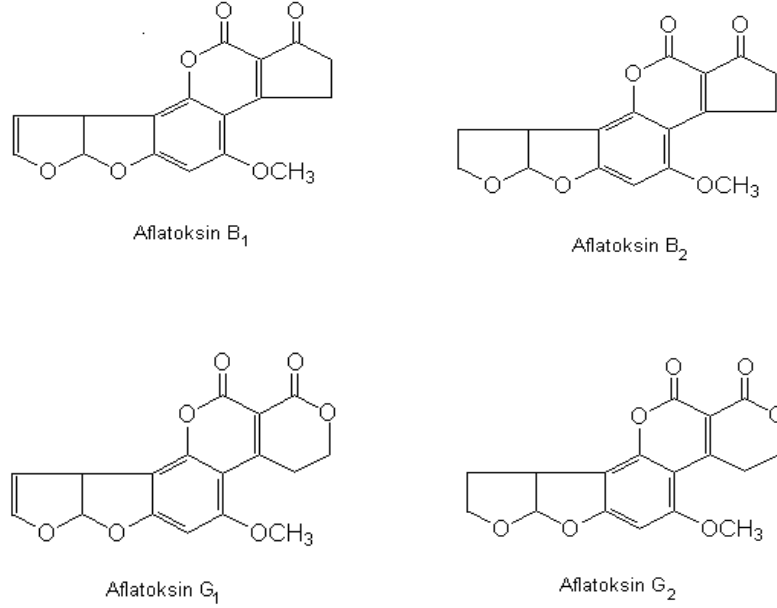
Mikotoksinler arasında en kuvvetli toksik etkiye sahip olan aflatoksinler, ilk defa 1960 yılında İngiltere'nin güney bölgesinde 100.000 hindi ve ördek yavrusunun ölümüne sebep olan “Hindi X” hastalığı ile ortaya çıkmıştır. Yapılan yoğun incelemeler sonucunda, ölümlerin Brezilya'dan ithal edilen ve yeme katılan yer fıstığı küspesinden izole edilen *A. flavus* türü ilişkili olduğu belirlenmiştir. *Aspergillus* türleri içerisinde aflatoksin ilk defa *Aspergillus flavus*'ta saptandığından bu küfün adının ilk harfleri kullanılmış ve bu mikotoksine aflatoksin adı verilmiştir (Stolof, 1980).

Aflatoksinlerin, ince tabaka kromatografisi (TLC) ile yapılan ayırımında 360 nm’ de UV ışığı altında biri mavi (blue), diğeri yeşil (green) iki komponent içerdiği saptanmış ve bu iki form; aflatoksin B ve aflatoksin G olarak adlandırılmıştır. Daha sonra her iki fraksiyonun da ikişer bileşen içerdiği görülerek fraksiyonlar aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ (AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂) olarak isimlendirilmiştir (Detroy vd., 1971). Günümüze kadar 20’nin üzerinde aflatoksin oluşumlarının varlığı bildirilmektedir (Quillien, 2002). Ancak, doğal olarak oluşan 4 ana formunun B₁, B₂, G₁, G₂ formları olduğu bildirilmiştir. *A. flavus* sadece AFB₁, B₂ üretirken, *A. parasiticus* türü AFB₁, B₂, G₁ ve G₂ üretmektedir (Stubblefield ve Shannon, 1974). Ayrıca 1987 yılında *A. flavus*’a fenotipik olarak benzeyen *A. nomius* (Betina, 1989) ve son yıllarda yapılan çalışmalarla ise *A. ochraceoroseus* (Klich vd., 2000), *A. pseudotamarii* (Ito vd., 2001), *A. bombycis*’in de (Peterson vd., 2001) aflatoksin sentezledikleri bildirilmektedir (Yu vd., 2004).

Tarla koşullarında, taşıma, işleme ve depolama aşamalarında gelişebilme özelliğine sahip *Aspergillus* türleri tarafından üretilen aflatoksinler, üzerinde en çok çalışılan, doğada en yaygın rastlanılan ve özellikle tropikal, semi-tropikal bölgelerde görülen önemli bir toksindir (Bullerman, 1984).

Aspergillus türleri farklı ürünlerde ve farklı koşullarda gelişebilme özelliğine sahiptirler. *Aspergillus*’ların aflatoksin üretimleri, ortamın bağıl nemine, sıcaklığına, pH’na, ürünlerin yapısına, tanelerin zedelenme durumuna, küf miktarına, ortamda bulunan diğerk mikroorganizmaların varlığına, ürünün nem içeriğine, iklim şartlarına, fiziksel ve biyolojik pek çok faktöre bağlıdır. Örneğin karbon ve azot varlığı aflatoksin üretiminde önemli rol oynarken glikoz, sukroz, maltoz ve galaktoz gibi basit şekerler aflatoksin üretimini artırmaktadır. Bununla birlikte nişasta ve pepton gibi kompleks karbonhidratların varlığı aflatoksin üretimini etkilememektedir (Sweeney ve Dobson, 1998; Özdemir vd., 1998; Yu vd., 2003; Gürses vd., 2003).

Aflatoksinler çoğunlukla fındık, antepfıstığı, yerfıstığı, badem, ayçiçeği gibi yağlı tohumlarda, mısır, buğday, yulaf, çavdar gibi tahıl ve tahıl ürünlerinde, mercimek, fasulye, nohut gibi bakliyatlarda, kırmızıbiber, karabiber, nane, kimyon gibi baharatlarda, süt, süt ürünleri, et, et ürünleri, yumurta gibi hayvansal ürünlerde bulunabilmektedir (Ayres, 1977; Fuller, 1977).



Şekil 1.1 Aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂'nin kimyasal yapıları (Kos ve Krska,2006)

Aflatoxinler suda çözünmezler. Bu nedenle kloroform, metanol, asetonitril, aseton, diklorometan gibi polar organik çözücülerle ekstrakte edilirler (Stroka vd., 2000; Blesa vd., 2003). Aflatoxinlerin erime sıcaklığı 237-289 °C arası olup sıcaklığa karşı dayanıklıdırlar (Cole ve Milbra, 2003).

1.8 Aflatoxinlerin Sağlık Üzerine Etkileri

Aflatoxinler, mikotoksinler içinde en toksijenik metabolitler olarak kabul edilmekte ve insan ve hayvan sağlığı açısından birçok risk taşımaktadır (IARC,1993). İnsan ve hayvanlarda aflatoxinlerin toksisitesi; alınan toksin miktarı, çeşidi, alım süresi, cinsiyet, yaş, ırk gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Ayrıca karoten, vitamin B₁₂ ve protein eksiklikleri ile riboflavin ve ışığa maruz kalma ile toksisiteleri artmaktadır (Whitlow ve Hagler, 2002; Agag, 2004).

Vücuda alınan aflatoxinin neden olduğu akut, subakut ve kronik olarak seyreden mikotoksikosis aflatoksikosis denir (FAO,1979).

Akut aflatoksikozis: Aflatoxinlerle akut zehirlenmede hayvanlarda ani ölüm veya iştahsızlık, solunum güçlüğü, burun akıntısı, durgunluk, anemi, öksürük, kanlı ishal, çırpınmalar, bitkinlik, akut karaciğer hasarı, kapillar damar dayanıklılığında azalma,

organlarda kanama ve hızlı ölümler görülmektedir (Çelik, 2001). Yüksek miktarda aflatoksin alınımı sonucu oluşan akut aflatoksikozisin hedef organı karaciğerdir. Aflatoksinlerin karaciğere maruziyetinden sonra lipid infiltrasyonu, hepatositlerde nekroza ya da ölüme neden olmaktadır (Bommakanti ve Waliyar, 1999).

Subakut aflatoksikozis: Subakut olgular da karaciğer hasarı, iştahsızlık, diare, immun sistemde baskılanma, sarılık, hematoma, kanamalı bağırsak yangısı ve trombosit sayısında azalma dikkati çekmektedir. Kanın pıhtılaşma yeteneğinin bozulması ve kapillar damarların kolayca çatlayabilmeleri neticesinde vücudun mukoz zarları ve boşluklarında yaygın kanamalar görülmektedir (Cardwell, 1999, Kaya vd., 2002).

Kronik aflatoksikozis: En sık rastlanan belirtileri, besini reddetme, büyüme oranında azalma, yemin değerlendirilmesinde azalma, halsizlik, ağırlık kaybı ve hafif diaredir. Anemi, subkutaneoz hemoraji kronik aflatoksikozisin semptomlarından (Cassel vd.,1989). Ayrıca burun derisinde kuruma ve soyulma, rektum prolapsı, karaciğer hasarı, serum indikatör enzimler ile bilirubin, kolestrol gibi kan bileşenlerinin seviyesinde yükselme ve abdominal boşlukta ödem ile karakterizedir. Aflatoksinle kontamine gıdaları tüketen süt ineklerinde, süt üretiminde azalma görülebilmektedir (Harris ve Staples, 1992).

Aflatoksinlerin kanserojen etkisinin yanı sıra insan ve hayvanlarda karsinojenik, mutajenik, teratojenik, nefrotoksik, immun sistemde zayıflama ve verim düşüklüğü gibi olumsuz etkilere sebep olmaktadır (FAO, 1979; Castegnaro,1998)

Ayrıca AB Gıda Bilimsel Komitesi, aflatoksinin düşük seviyelerde bile karaciğer kanserine ve mutasyona yol açtığını bildirmiştir. Asya ve Afrika'nın çeşitli bölgelerinde de karaciğer kanserine rastlama sıklığı ile aflatoksinle kontamine olmuş gıdaların tüketim düzeyi arasında sıkı bir ilişki gözlemlenmiştir (Anonim, 2007b).

Bazı araştırma sonuçlarına göre; Çin'in güneyinde ve Afrika'nın Sahara bölgesinin güneyinde, yüksek düzeyde aflatoksin içeren gıdalarla beslenen, hepatit B ve C virüsü taşımayan, karaciğer kanserine yakalanmış insanların karaciğerlerinden alınan örneklerde yapılan incelemeye göre, aflatoksinin P53 kanser baskılayıcı genin 249'uncu kodonundaki (AGG AGT) Guanin yerine Timin geçmesine neden olarak karaciğerde primer kanser oluşumuna neden olduğu belirtilmektedir. "Hot Spot Mutasyon" hastalık oluşumuna yüksek aflatoksin bulaşımının olduğu alanlarda yaşayan ve karaciğer kanserine yakalanmış hastaların %50'sinde rastlandığı bildirilmiştir. (WHO, 1979; Hsu vd., 1991).

Aflatoksinin önemli bir kanserojen olduğunun anlaşılmasından sonra birçok ülke bu konu üzerine eğilmiş, gıda maddelerinde aflatoksinler için kısıtlamalar koymuşlardır. Aflatoksin sorunu, insan sağlığı için büyük bir tehlike oluşturmasının yanı sıra, aynı zamanda ekonomik yönden de büyük önem taşımaktadır. Aflatoksinle bulaşık gıdaları ihraç etmek mümkün olmamakta, çoğu kez ürün imha edilmek zorunda kalınmakta veya denetim mekanizması yetersiz olan ülkelerde iç pazarda tüketime sunulmaktadır. Dünyada bu nedenle meydana gelen ekonomik kayıpların milyarlarca dolara ulaştığı belirtilmektedir (Temiz ve Özkaya, 2003).

Ülkemizde aflatoksin sorunu, 1967 yılında Kanada'ya gönderilen 10 ton iç fındığın aflatoksin içerdiği gerekçesiyle geri çevrilmesi sonucu ortaya çıkmıştır (Güray ve Vural, 1968).

AB gümrükleri hızlı gıda uyarı sisteminden 2001 yılında 10 üye devlet tarafından Türkiye'den ithal edilen fındıklar için 4 kez ve incirler için 16 aflatoksin limitini aştığını gösteren uyarı yapılmıştır. 2002 yılında ise 11 üye devletten fındık için 62 ve incir için 23 uyarı mesajı alınmıştır (Karaman ve Acar, 2006). Hemen sonrasında 1 Mart 2002 tarihinden itibaren Türkiye'den Avrupa ülkelerine ihraç edilen her fındık partisinden numune alınarak aflatoksin analizi yapılması zorunlu hale getirilmiştir. Yaşanan sorunlardan dolayı ülkemizde de TGK'nde gıdalar için aflatoksin limitleri belirlenmiştir. Türkiye'de gıdalarda bulunmasına izin verilen aflatoksin düzeyleri ppb Çizelge 1.5'te verilmiştir (TGK, 2009).

Çizelge 1.5 Türkiye’de Gıdalarda Bulunmasına İzin Verilen Aflatoksin Düzeyleri (ppb)
(TGK, 2009)

| No | GIDA MADDELERİ | B ₁ | Toplam (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂) | M ₁ |
|----|--|----------------|---|----------------|
| 1 | Yerfıstığı (Doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) | 8 | 15 | - |
| 2 | Fındık, Antep fıstığı gibi sert kabuklu meyveler, yerfıstığı, yağlı tohumlar, kuru meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar | 5 | 10 | - |
| 3 | Tahıllar (Karabuğday (<i>Fagopyrum sp.</i>) dahil ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar (Doğrudan tüketilen veya gıda bileşeni olarak kullanılan) | 2 | 4 | - |
| 4 | Mısır (Doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) | 5 | 10 | - |
| 5 | Çiğ süt, ısıl işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt | - | - | 0.050 |
| 6 | Baharatların aşağıdaki türleri için ; - Kırmızıbiber (<i>Capsicum spp.</i>) (Bunların kurutulmuş meyveleri, kırmızı biberin bütün ve toz hali dahil) - Karabiber (<i>Piper spp.</i>) (Bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) - Hindistan cevizi / Muskat (<i>Myristica fragrans</i>) - Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>) - Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i>) | 5 | 10 | - |
| 7 | Tahıl bazlı işlenmiş gıdalar, bebek ve küçük çocuk gıdaları | 0.1 | - | - |
| 8 | Bebekler formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dahil) | - | - | 0.025 |
| 9 | Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar | 0.1 | - | 0.025 |
| 10 | Diğer gıda maddeleri (bulunması muhtemel riskli gıdalar) | 5 | 10 | 0.5 |

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Fındıkta fungal gelişme dolayısıyla aflatoksin oluşumu, başta üretici ve tüketici ülke konumundaki Türkiye olmak üzere diğer ülkeler için de önem arzettiği için çok sayıda araştırmaya konu olmuştur.

Fındıkta aflatoksin oluşumları hasat sırası ve sonrasında, işleme esnasında, kurutma, ayıklama ve depolama aşamasında yapılan hatalardan kaynaklanmaktadır. Bitkinin tam büyümemesi, hasat şekli, özellikle ürünün hasat sırasında yaralanması veya zarar görmesi, kabuklu ürünlerin kabuklarının tahrip olması ve hasat ile kurutma arasındaki gecikme toksin oluşumunu teşvik etmektedir (Aluç ve Aluç, 2003).

Fındıktaki aflatoksin içeriklerinin belirlenmesi için ülkemizde yapılan ilk çalışmalar 1968 yılında başlamıştır. Ankara’da piyasadan temin edilen 27 fındık örneğinin 6’sında aflatoksin belirlenmiş, toksin miktarının 50 ppb’nin altında olduğu bildirilmiştir (Güray ve Vural, 1968).

1969 yılında ise yapılan bir çalışmada Kanada’dan iade edilen fındıklar piyasadan temin edilmiş ve çalışmadaki 42 örneğin ikisinde mavi floresans veren metabolitlerin aflatoksin olduğunu bildirmişlerdir (Akşehirli ve Bozkurt, 1969).

Yine 1972 yılında yapılan başka bir çalışmada ise 37 fındık örneğinden izole edilen 9 *A. flavus* izolatının toksin ürettiği belirlenmiştir (Denizel ve Köşker, 1972).

1974’de 13 fındık, 20 yer fıstığı, 4 pamuk tohumu ve 1 zeytin örneği üzerinde yapılan bir çalışmada hiçbir örnekte aflatoksine rastlanmamıştır (Çolakoğlu ve Ünal, 1974).

Mısır’da yetişen fındıklarda yapılan araştırmada, çalışılan örneklerin %90’ında 25–175 ppb düzeylerinde değişen aflatoksin miktarları tespit edilmiştir (Abdel-Hafez ve Saber, 1993).

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’nın “Gıda ve yemlerde katkı-kalıntı ve bulaşanların izlenmesi” projesi kapsamında 1990–1994 yılları arasında ülkemizde üretilen veya ithal edilen bazı gıda maddeleri aflatoksin yönünden araştırılmıştır. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’nın “Gıda ve yemlerde katkı-kalıntı ve bulaşanların izlenmesi” projesi kapsamında 1990–1994 yılları arasında ülkemizde üretilen veya ithal edilen bazı gıda maddeleri aflatoksin yönünden araştırılmıştır. Bu araştırma sonucunda 334 fındık ve fındık ürünü örneğinin %0,3’ünde Türkiye için belirlenen aflatoksin limitlerinin üzerinde toplam aflatoksin bulaşıklığı saptanmıştır (Anonim, 1996).

Başka bir çalışmada ise Giresun yöresinde yetiştirilen ve ticareti yapılan, 1994 yılına ait normal depo şartlarında muhafaza edilmiş çiğ fındık örneklerinde aflatoksin içerikleri, mikoflora oluşumları araştırılmıştır. Örneklerin nem içerikleri %3,4-6,59 seviyelerinde bulunmuştur. Çalışmanın depolama bölümünde fındıkta aflatoksin oluşumuna etkili olan faktörler belirlenmeye çalışılmış, artan rutubet ve sıcaklığa bağlı olarak aflatoksin oluşumunun arttığı belirlenmiştir. 15 °C sıcaklıkta %85, %90, %98 nisbi nem ortamlarında aflatoksin tespit edilmemiştir. 28 °C sıcaklıkta her 3 nem ortamlarında da aflatoksin oluşumu meydana gelmiştir. En yüksek aflatoksin miktarı 28 °C'de %98 bağıl nemde belirlenmiştir. 45 gün depolama sonunda toplam aflatoksin miktarı 5021,7 ppb olarak bulunmuştur. Depolama denemesinde rutubet miktarının tek başına aflatoksin oluşumuna etkili olmadığı, sıcaklığın artması ile nemin etkili olduğu belirlenmiştir (Demir, 1996; Demir vd., 2002).

Bir diğer çalışmada, iki farklı sıcaklık (20-30 °C) ve bağıl nem (%85-95) ortamında depolama süresine bağlı olarak aflatoksin varlığı araştırılmıştır. 30 günlük depolama süresince 0., 10., 20., 30. günlerde *A. parasiticus* ile aşılınmış grup ve kontrol grubu olarak hazırlanan örneklerde aflatoksin analizi yapılmıştır. Kontrol grubu olarak kullanılan örnekte her iki sıcaklık ve nispi nem ortamında aflatoksin tespit edilememiş iken, aşıllı olarak hazırlanan örnekte her iki sıcaklık ve bağıl nem ortamında da aflatoksin belirlenmiştir. Fındık örneğindeki toplam aflatoksin miktarının 0-13092 ppb arasında değiştiği tespit edilmiştir. Otuz günlük depolama sonucunda, toplam aflatoksin miktarı, 20 °C sıcaklıkta ve %85 ve %95 nispi nemde sırasıyla 325 ppb ve 13092 ppb olarak bulunmuştur. 30 °C sıcaklıkta ise sırasıyla; 6246 ppb ve 12980 ppb olarak belirlenmiştir. Araştırmada, fungal bulaşıklık ile birlikte sıcaklık ve bağıl nem miktarının aflatoksin oluşumunda etkili olduğu, süreye bağlı olarak sıcaklığın ve bağıl nem arasındaki ilişkininde önemli olduğu belirlenmiştir (Gürses 1997).

30 fındık örneğiyle yapılan bir çalışmada, fındığın mikofloraları ve aflatoksin oluşum değerleri belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan örneklerin %96'sında *Aspergillus* en hakim fungus cinsi olarak belirlenirken, izolatların %30'u ise *A. flavus* olarak sınıflandırılmıştır (Şimşek vd., 2002).

2002 yılında İspanya'nın Valensiya şehrindeki süpermarketlerden ve bölgesel marketlerden toplanan sert kabuklu meyveler, tahıl, kuru meyve ve baharat olmak üzere 58 örnekte aflatoksin varlığı araştırılmıştır. Sert kabuklu meyvelerden sadece 3 örnekte aflatoksin teşhis edilmiş, fındıktaki aflatoksin seviyesi 0,42-0,52 ppb olarak

belirlenmiştir. Bu değerin ise AB'nin belirlediği maksimum aflatoksin değerlerinin altında olduğu bildirilmiştir (Blesa vd., 2004).

2000–2003 yılları arasında Fındık Tanıtım Grubu desteği ile Tübitak Marmara Araştırma Merkezi Gıda Enstitüsü tarafından yapılan bir çalışmada dalından yeni koparılmış fındık örneklerindeki aflatoksin bulaşıklığının yasal sınırların altında olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber, çiftçi ve harman yerlerinden alınan örneklerin toplam aflatoksin miktarları 4 ppb üzerinde (4–24 ppb: toplam örneklerin %6'sı) bildirilmiştir (TÜBİTAK MAM, 2005).

Erzurum piyasasından bazı market ve kuru yemişçilerden toplanan 28 fındık, 24 ceviz, 18 yerfıstığı, 13 badem ve 11 nohut, ince tabaka kromatografisi kullanılarak aflatoksin analizi yapılmış, 96 örneğin 26'sında 1–113 ppb değerlerinde aflatoksin bulunmuştur. Aflatoksinin belirlenebilir seviyeleri fındıkta 33,4 ppb, cevizde 22,1 ppb, yerfıstığında 43,0 ppb, bademde 7,4 ppb ve nohutta 1,7 ppb olarak bildirilmiştir. Aflatoksinin en yüksek seviyesi ise tek bir fındıkta bulunan 113 ppb olarak bildirilmiştir (Gürses, 2006).

Yapılan başka bir çalışmada Isparta, Antalya, İzmir, Burdur ve Ankara olmak üzere beş farklı bölgenin süpermarketlerinden, pazarlarından alınan 72 fındık, 73 yerfıstığı, 75 Antep fıstığının aflatoksin düzeyleri araştırılmıştır. Analizlenen fındıkların %15,27 sinin, Antep fıstıklarının %9,7'sinin, yerfıstıklarının %17,8'inin aflatoksin ile bulaşık olduğu gözlemlenmiştir. 6 fındık örneğinde aflatoksin seviyesi 1,17-1,80 ppb olarak belirlenmiştir (Başaran ve Özcan, 2007).

Türkiye tarafından ihraç edilen ürünlerdeki aflatoksin seviyelerinin belirlenmesi üzerine yapılan bir çalışmada ise 80 fındık örneğinin 2'sinin 5,46-6,55 ppb düzeyinde aflatoksin ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. (Bircan vd., 2008).

Yapılan bir çalışmada Samsun çevresinde tüketime sunulan 50 adet fındık örneğinde aflatoksin seviyeleri ELISA testi kullanılarak belirlenmiştir. Fındık örneklerinin %86'sında (<1 ile 11,3 ppb) arasında aflatoksin tespit edilmiştir. 2 fındık örneğinde aflatoksin miktarının TGK ve AB tarafından belirlenen en yüksek tolere edilebilir limitlerden yüksek olduğu görülmüştür (Aksoy vd., 2010).

Almanya'da 2009 yılında perakende olarak temin edilen toplam 500 sert kabuklu meyve, tahıl ve kuru meyve örneklerinde aflatoksin analizi yapılmıştır. Analizler sonucunda fındık numunelerinin %50'sinden fazlasında toplam aflatoksin (maksimum 23,2 ppb) belirlenirken, örneklerin %20'sinde toplam aflatoksin (4 ppb) için maksimum değerlerin aşıldığı bildirilmiştir (Reinhold ve Reinhardt, 2011).

İtalya'da mikotoksin bulaşma riski yüksek ithal gıda ürünlerinde yapılan bir çalışmada, aflatoksin seviyeleri gözlenmiştir. Aralarında Türkiye'ninde bulunduğu 26 ülkeden İtalya'ya ihraç edilen 345 örneğin (fındık, fındık ürünleri, üzüm, tahıl, tahıl ürünleri, bakliyat, kahve) 15'inde aflatoksin gözlenmiştir (Imperato vd., 2011).

3.MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1 Örnekleme

Çalışmada kullanılan örnekler Karadeniz bölgesinde yoğun olarak fındık üretiminin yapıldığı Trabzon, Ordu, Giresun ve Akçakoca bölgelerindeki çeşitli fabrika ve perakende satış yerlerinden temin edilmiştir. Örneklemede 2010 üretim yılına ait çiğ fındık (n=30), kavrulmuş fındık (n=50), ezme örneği (n=20), ve iç zar (n=50) örnekleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan örnek çeşitleri Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan örnek çeşitleri

Fındık örnekleri, hasattan hemen sonra, iç zar örnekleri kurutma döneminde ve ezme örnekleri ise ürünün işleme aşamalarında temin edilmiştir. Örnekler uygun

koşullarda laboratuvara getirilerek testlenme aşamasına kadar etiketli bez torbalar içerisinde, 4 °C sıcaklıkta buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.1.2 Örneklerin Nem İçeriklerinin Belirlenmesi

Çiğ, kavrulmuş fındık, ezme ve iç zar örneklerinin nem içerikleri, hassas terazili, halojen lambalı AND marka MX-50 model nem tayin cihazıyla yapılmıştır.

3.1.3 Mikolojik İzolasyonlarda Kullanılan Materyaller

Çalışmada kullanılan örneklerin yüzeyden sterilizasyonları, mikrobiyolojik ekimleri ve izolasyonları Thermo Scientific marka Herasafe KS model laminer kabin içerisinde yapılmıştır. Yüzey sterilizasyonlarında %2 (v/v)'lik sodyum hipoklorit (NaOCl), distile su ve steril kurutma kağıtları kullanılmıştır. Materyallerin ekimi steril petrilerde hazırlanmış Lab098 marka Patates Dekstroz Agar (PDA) üzerine yapılmıştır. Kolonilerin gelişimi için inkübasyon ortamı Memmert marka inkübatörde sağlanmıştır.

3.1.3.1 Tek Spor İzolasyonunda Kullanılan Materyaller

Spor süspansiyonlarının hazırlanmasında Stuart marka SA7 model vorteks karıştırıcı kullanılmıştır.

Tek spor izolasyonlarında gelişen türlerin saflaştırılması için laboratuvar ortamında hazırlanmış su agarı ve izolatların tek spor çizimleri için Himedia marka Czapek Dox Agar kullanılmıştır.

3.1.4 Fungal Tür Tanımlamalarında Kullanılan Materyaller

Tek spor izolatlarının morfolojik tanımlamaları için Olympus marka CX21 model ışık mikroskobu kullanılmıştır. Mikolojik izolasyonlar sonucunda yoğun olarak belirlenen fungus türlerinin tanımlanmasında için Raper ve Fennel (1977), Samson ve Pitt (1990), Samson vd. (1976), Pitt (2000) ve Barnett ve Hunter (1997) tarafından geliştirilmiş spesifik tür teşhis anahtarlarından faydalanılmıştır.

3.1.5 Aflatoksin Analiz Metodunda Kullanılan Materyaller

Toplam aflatoksin oluşumlarının belirlenmesi için CD-ELISA (Competitive Direct Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemi uygulanmıştır. CD-ELISA da kullanılan Neogen Veratox®Aflatoksin kiti; 0, 1, 2, 4, 8 ppb seviyelerinde 5 farklı

seviyede aflatoksin standart kullanılmıştır. Örneklerin hazırlanması ve ekstrasyonları, Neogen Veratox®'un prosedürüne göre yapılmıştır.

Örneklerin ekstraksiyon aşamalarında ise Waring marka 8011S model blender, methanol ve Whatman no: 1 filtre kağıdı kullanılmıştır.

CD-ELISA sonuçları, Awareness Technology marka Stat Fax-3500 model microwell okuyucusunda 650 nm'de okunarak elde edilmiştir. Toksin değerlerinin ppb olarak hesaplanmasında Veratox Software for Windows; Log/Logit and Single Test Format versiyon 3.02 paket programından faydalanılmıştır.

3.2 Metot

3.2.1 Örneklerin Nem İçeriklerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan fındık, ezme ve zar örneklerinin nem içerikleri, hassas terazili nem tayin cihazında Bakker (1992)'ın bildirdiği yöntemine göre yapılmıştır. Çiğ ve kavrulmuş fındık örneklerinden $5 \pm 0,1$ g alınarak, el blendırında parçalanmış ve $140 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de nem içerikleri belirlenmiştir. Fındık zarı ve ezme örneklerinde ise herhangi bir işlem yapılmadan 1'er g alınarak nem içerikleri Özkaya (1988)' e göre Eşitlik 1 yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Nem İçeriği: } \frac{M_1 - M}{M_1 - M_0} \quad (1)$$

M_0 : Tartım kabının ağırlığı (g)

M_1 : Tartım kabı ile örneğin ağırlığı

M_2 : Kurutma sonrası tartım kabının ve örneğin ağırlığı

3.2.2 Mikolojik İzolasyonlar

3.2.2.1 Örneklerinin Yüzey Sterilizasyonu

Çiğ, kavrulmuş fındık ve iç zar örneği %2 (v/v) NaOCl çözeltisi içeren 250 ml'lik steril erlenmayere alınmıştır. Erlenmayer alüminyum folyo ile kapatılarak fındıkların yüzeyinin NaOCl çözeltisi ile tamamen ıslanabilmesi için 2 dakika şiddetle çalkalanmış daha sonra boşaltılarak kimyasalların uzaklaştırılması amacıyla distile su ile yıkanmıştır. Distile su içerisinde 2 kez çalkalanıp steril kurutma kağıtları üzerinde, steril kabinde, kurumaya bırakılmıştır.

3.2.2.2. Mikrobiyolojik Ekim

Yüzeiden sterilize edilen çiğ, kavrulmuş fındık ve iç zar örnekleri kurutulduktan sonra, ezme örnekleri ise direkt PDA ortamına ekilmiştir. Her örnek için 10 petri kullanılarak toplam 100'er ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler parafinle kaplanarak 24 °C'de 4-5 gün inkübe edilerek koloni gelişimi sağlanmıştır. İnkübasyon sonunda; fungal kolonilerin büyüklüğü, rengi, yüzeysel veya havai gelişimi gibi makroskobik kriterlere bağlı ayrımları yapılmış, farklı gelişme gösteren koloniler *Fusarium* (F₁, F₂,...), *Aspergillus* (A₁, A₂,...) ve *Penicillium* (P₁, P₂,...) gibi sınıflandırılarak saflaştırılmıştır.

Saflaştırılan fungal koloniler 7 gün süre ile 25 °C'de inkübe edildikten sonra mikroskopta incelenerek genel morfolojik tanımlamaları yapılmış, koloni sayısı ve özellikleri kayıt altına alınmıştır.

3.2.2.3. Tek Spor İzolasyonu

Tanımlaması yapılan fungal koloniler su agarı ortamında saflaştırıldıktan sonra tek spor izolasyonları yapılmıştır. Tek spor izolasyonu için steril petrilere %2 (w/v)'lik su agarından yaklaşık 12'şer mL dökülerek soğutulmaya bırakılmıştır. Saflaştırılmış kolonilerden alınan spor süspansiyonu, 10 mL'lik saf su içerisine alınarak vortekste karıştırılmıştır.

Elde edilen bu karışıma 90 mL distile su eklenip 10⁻¹ lik dilüsyon elde edildikten sonra bu işleme 10⁻⁵'lik dilüsyon elde edilinceye kadar devam edilmiştir. Daha sonra son seyreltme yapılmış spor süspansiyonundan öze ucu ile alınarak çizim yapılmıştır.

Yaklaşık 12-24 saat sonra çimlenen tek sporlar mikroskopta belirlendikten sonra disk alınarak Czapek Dox agar ortamına yerleştirilmiştir. Ekimi yapılan petriler 25 °C'de inkübe edildikten sonra elde edilen tek spor izolatları mikroskobik olarak incelenmiş ve özellikleri kayıt altına alınmıştır.

3.2.3 Fungal tür tanımlamaları

Mikolojik izolasyonlar sonucunda yoğun olarak belirlenen fungus türleri için spesifik teşhis anahtarları kullanılmıştır. *Aspergillus* türlerinin tanımlanmasında Raper ve Fennel (1977), Samson ve Pitt (1990), *Penicillium* türlerin tanımlanmasında Samson vd. (1976), Pitt (2000) ve *Fusarium* ve diğer türlerin tanımlanmasında ise Barnett ve Hunter (1997) tarafından geliştirilmiş tanı anahtarlarından yararlanılmıştır.

İzolatların tamamı, 25 °C'da Czapek Dox üzerinde 10-12 gün süreyle inkübe edilmiştir. 4. günden başlanarak 12. güne kadar koloni gelişimini belirlemek amacıyla; koloni çapı, kültürel ve morfolojik gelişimler kayıt edilmiştir. Fungusların tür tanımlamalarında belirli sıcaklıklardaki büyüme oranları (koloni çapı ve özellikleri), havai miselyum oluşumu (rengi ve yapısı), klamidosporelerin varlığı veya yokluğu, sporodoşiyum gelişimi, fiyalitik özellikler, konidiyal başlık (rengi ve şekli), konidiyal sıralanma, koloni renkleri, sklerotların varlığı ya da yokluğu, makro ve mikro konidi varlığı gibi özellikleri değerlendirmeye alınmıştır.

3.2.4 Aflatoksin Analiz Metodu

Çiğ, kavrulmuş fındık, zar ve ezme örneklerindeki toplam aflatoksin oluşumlarının araştırılmasında CD-ELISA yöntemi kullanılmıştır. Mikotoksin analizlerinde sık kullanılan ELISA yöntemi, antijen-antikor kompleksine, enzim ile işaretli konjugat ve kromojen substrat eklenmesi ile örnekteki antijen varlığına bağlı olarak şekillenecek renk değişiminin gözlenmesi esasına dayanmaktadır. Kimyasal bir olay olan renk değişimi, enzim aktivitesine bağlı olarak değişmektedir (Burrels ve Dawson, 1982).

3.2.4.1 Numune Hazırlama ve Ekstraksiyon

Numuneler 20 mesh elekten geçecek şekilde el blendırında homojen olana kadar öğütülmüştür. Öğütülen numuneden 25 g alınarak blendera konulmuştur. Blender içine 125mL %70 (v/v) methanol çözeltisine konularak yüksek devirde 3 dk blendırdan geçirilmiştir. Blenderdan çıkan karışım, Whatman no: 1 filtre kağıdından süzölmüştür. Filtrasyon yapılan bütün örnekler etiketlenmiş steril, ağzı kapalı plastik tüplere konulmuştur.

3.2.4.2 CD-ELISA Analizi

Tüm çalışmalar normal şartlarda oda koşullarında yapılmıştır. Çalışmada kullanılmak üzere 4 °C de korunan test kitleri uygulamada 1 saat önce normal oda sıcaklığı koşullarına alınmıştır. ELISA yöntemi aşağıda bildirildiği şekilde uygulanmıştır.

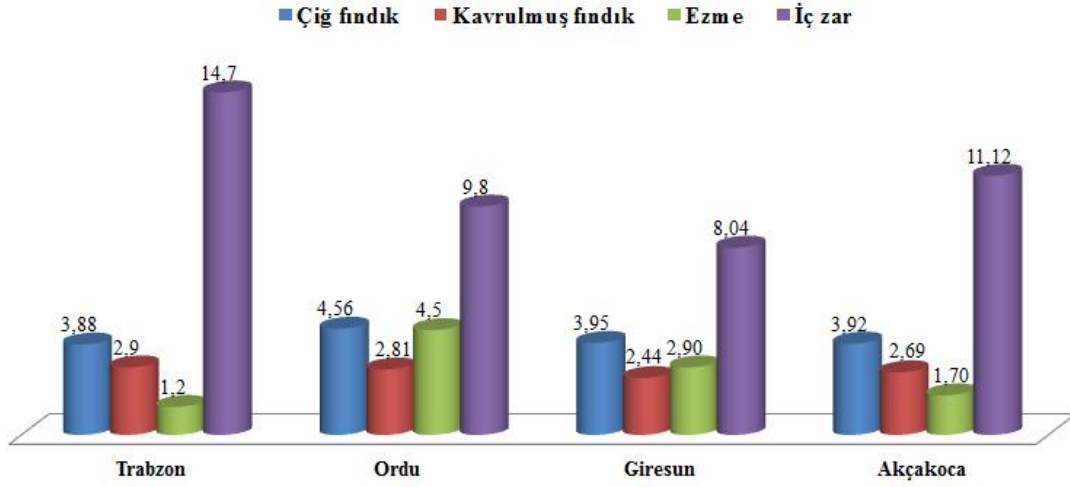
1. Teste başlamadan 1 saat önce konjugat hazırlanmış ve test aşamasına kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir.
2. Test karışım çukurları içerisine 100 µL konjugat eklenmiştir.

3. Her defasında yeni bir pipet ucu kullanılarak örnek süzüntülerinden ve 0, 1, 2, 4, 8 ppb toksin standartlarından 100'er μL alınmış ve konjugata eklenmiştir.
4. Bu karışım 12 kanallı pipetör kullanılarak 3 kez çekilip bırakılmıştır.
5. Örnek ve kontrollerden 100 μL alınmış ve daha önce antibady ile kaplanmış çukurlara eklenmiş ve 2 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
6. İnkübasyondan sonra çukurlar boşalmış ve 5 defa distile su ile yıkanmıştır.
7. Çoklu pipet kullanılarak her çukura 100 μL substrat eklenmiş ve 3 dk inkübe edilmiştir.
8. Renk oluşumu oluştuktan sonra, 100 μL stop solüsyonu eklenmiş ve 20 dk içerisinde 650 nm' de Microwell okuyucusunda okuma yapılmıştır. Okunan değerler Veratox Software for Windows; Log/Logit and Single Test Format versiyon 3.02 paket programı tarafından ppb cinsine dönüştürülmüştür.

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Örneklerin Nem İçerikleri

Yoğun olarak fındık yetiştiriciliği yapılan Trabzon, Ordu, Giresun ve Akçakoca, bölgelerinden çiğ (n=30), kavrulmuş fındık (n=50), fındık ezmesi (n=20) ve iç zar (n=50) temin edilmiştir. Çalışılan örneklerin nem içerikleri Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1 Çalışılan örneklerin % nem içerikleri

Şekil 4.1’den görülebileceği gibi çiğ fındıkta nem içerikleri %3,88-4,56 olarak belirlenmiştir. Çiğ fındıkta nem içeriklerinin en yüksek %4,5 olması önerilmektedir (Çetin vd., 2000). Örneklerimizin nem içeriklerinin, önerilen en yüksek değere yakın olduğu gözlenmiştir.

Aluç ve Aluç (2003), 186 adet Akçakoca, 177 adet Ordu, 160 adet Giresun’dan temin edilmiş çiğ fındık örneklerinde nem içeriklerinin %4,2-6,8 arasında tespit etmişlerdir.

Demir (1996), Giresun yöresinde yetiştirilen ve ticareti yapılan normal depo şartlarında muhafaza edilmiş 1994 yılına ait çiğ fındık örneklerindeki nem içeriklerini araştırmıştır. Örneklerdeki nem içeriklerini, %3,4-6,59 arasında değiştiğini saptamıştır.

Fındık tane nem içeriklerinin yüksek değerlerde olmasının, hasat esnasında ve sonrasında kurutma işlemlerinin yetersiz olması, geleneksel olarak güneşte kurutulması, işleme koşullarının uygun olmaması ve bölgesel iklim koşullarının nemli olması gibi çeşitli nedenleri olabilmektedir. Çalışılan örneklerde nem içeriklerin önerilen sınırlar

içerisinde olması çiğ fındıkların uygun koşullarda hasat edildiği ve kurutma işleminin olması gerektiği gibi yapıldığının kanıtıdır.

Fındığın yetiştiği çevre koşulları doğrudan ürünlerin nem içeriklerini belirleyici faktörlerin başında gelmektedir. Bu nedenle, fındık üretim dönemleri baz alınarak temin edilen meteorolojik veriler Çizelge 4.1'de sunulmuştur. Meteorolojik verilere bakıldığında, 4 bölgenin yağış miktarı 61,6-75,9 mm olarak gözlemlenmiştir. En yüksek nem içeriğine sahip çiğ fındık örnekleri Ordu bölgesinden alınmıştır. Bunun nedeninin 2010 yılında Ordu bölgesinde görülen yıllık yağış ortalamasının 81,64 mm ile diğer üç bölgeye göre daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.1 Bölgelerdeki bağıl nem, yağış ve sıcaklık değerleri (TÜİK, 2010)

| Bölgeler | Ortalama | | Minimum | | Maksimum | |
|-----------------|---------------------|---------------|---------------------|------------------|---------------------|------------------|
| | (%) Bağıl Nem | Yağış (mm) | (%) Bağıl Nem | Sıcaklık (°C) | (%) Bağıl Nem | Sıcaklık (°C) |
| Giresun | 65,3 | 75,9 | 46,3 | -3,4 | 74,2 | 33,6 |
| Akçakoca | 76,6 | 73,4 | 66,6 | -13,9 | 87,0 | 38,0 |
| Ordu | 70,5 | 81,6 | 54,5 | -4,4 | 76,7 | 36,3 |
| Trabzon | 69,6 | 61,6 | 55,1 | -4,0 | 76,0 | 32,0 |

Kavrulmuş fındıklarda nem içeriklerinin en yüksek %3 olması tavsiye edilmektedir (Anonim, 2011b). Bu bağlamda çalışılan kavrulmuş fındıkların nem içerikleri en yüksek %2,9 ile Trabzon, en düşük %2,44 ile Giresun bölgesinde bulunmuştur. Kavrulmuş örneklerdeki nem seviyesi önerilen sınırlar içerisindedir. Elde edilen nem içeriklerinden fındığın kavurma işlemi sırasında ısıl işlemin uygun derecede yapıldığı ve depolama koşullarının yeterli olduğu sonucuna varılmaktadır.

Çalışılan ezme örneklerinde ise nem içeriği en düşük %1,2 ile Trabzon, en yüksek %4,5 ile Ordu bölgesinde tespit edilmiştir. Fındık ezmesinde standart bir nem içeriği olması gerektiği yönünde bilgiye ulaşılamamıştır. Fiskobirlik yetkilileri ile yapılan karşılıklı görüşmelerde ezme yapımında kullanılan fındığın nem içeriklerinin dikkate alındığı bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada gıdalara katılan şekerin ortamdaki serbest formdaki suyu bağıl forma dönüştürmesi ile nem içeriğinde daha düşük değerlerin elde edildiği rapor edilmiştir (Artık, 2011). Çalışılan ezme örneklerindeki düşük nem içeriklerine bu durumun neden olabileceği kanısına varılmıştır.

İç zar örneklerinde görülen en yüksek nem içeriği %14,76 ile Trabzon bölgesinden temin edilen örnekte saptanırken, en düşük nem içeriği %8,04 ile Giresun bölgesinde belirlenmiştir. İç zarda normal nem içeriği konusunda yapılmış bir çalışma ve standart bir değere rastlanılmamıştır. Bununla birlikte çiğ ve kavrulmuş fındıklarda belirlenmiş standart düzeylerin çok üzerinde olması nedeniyle yüksek olarak değerlendirilmiştir.

Gıdalarda yüksek nem içerikleri; fungal gelişimi, enzim aktivitelerini ve acılaşmayı artırmaktadır. Böyle istenmeyen durumların önlenmesi için fındıkların depolanmadan önce belli bir nem düzeyine kadar doğal ya da ısı olarak kurutulmaları gerekmektedir. Doğal yöntemle yapılan kurutma işleminin uzun sürmesi, kontrolsüz koşullarda güneş ışığı altında yapılması ve bölgesel iklim koşullar diğer tüm tarım ürünlerinde olduğu gibi fındıkta da yüksek nem içeriğine neden olabilmektedir. Bu bilgiler ışığında fındık üretiminin tüm aşamalarında kontrollü koşullar sağlanarak üretim ve işleme yapılması daha sağlıklı olacaktır.

4.2. Örneklerdeki Doğal Mikofloranın Belirlenmesi

Mikolojik izolasyonlar yapılarak tüm örneklerde doğal olarak oluşan mikoflora belirlenmiştir. Genel izolasyon işlemlerini yapılarak fungal koloni gelişimleri sağlanmıştır. Daha sonra tür tanımlamalarında tek spor izolasyonları yapılarak elde edilen saf kolonilerin kültürel ve morfolojik özellikleri belirlenmiştir. Tek spor izolasyon çizimi Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2 Tek spor izolasyonu

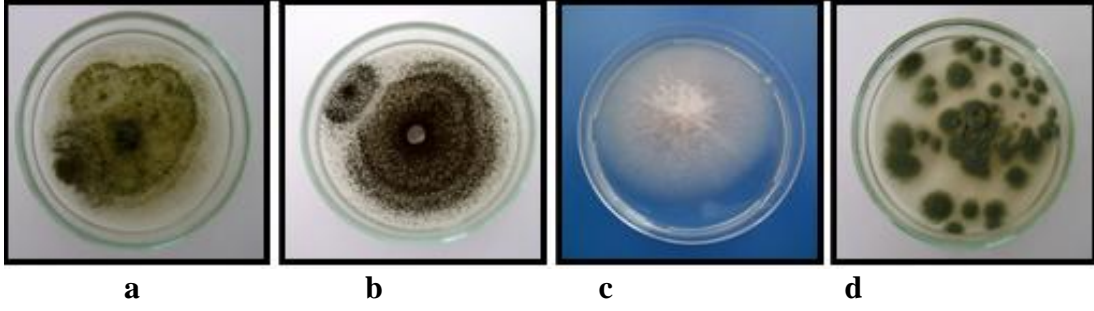
Elde edilen fungal türlerin tanımlanmasında klasik tür teşhis anahtarları kullanılmıştır. Tanımlamaları yapılan fungus türleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. Farklı

bölgelerden alınmış örnek gruplarından izole edilmiş fungus cinsleri ise Şekil 4.3'de gösterilmiştir.

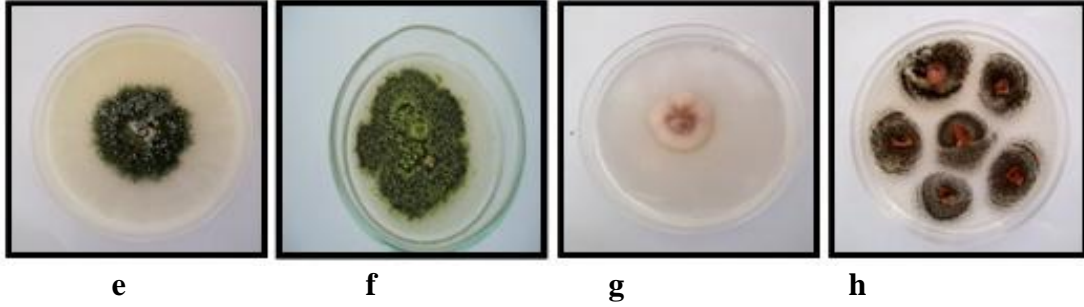
Çizelge 4.2 Örneklerden elde edilen fungus cinsleri

| Bölgeler | Örnek Türü | Fungus Cinsleri | % İzolasyon | Bölgeler | Örnek Türü | Fungus Cinsleri | % İzolasyon | |
|----------|--------------------|--------------------|--------------------|----------|------------|--------------------|--------------------|------|
| Trabzon | Çiğ | <i>Aspergillus</i> | 68,0 | Ordu | Çiğ | <i>Aspergillus</i> | 63,0 | |
| | | <i>Penicillium</i> | 19,2 | | | <i>Penicillium</i> | 23,3 | |
| | | <i>Rhizopus</i> | 12,8 | | | <i>Rhizopus</i> | 9,4 | |
| | Kavrulmuş | <i>Aspergillus</i> | 57,8 | | Kavrulmuş | <i>Fusarium</i> | 2,6 | |
| | | <i>Penicillium</i> | 26,6 | | | <i>Tricoderma</i> | 1,7 | |
| | | <i>Fusarium</i> | 8,4 | | | <i>Aspergillus</i> | 44,5 | |
| | | <i>Alternaria</i> | 4,6 | | | <i>Penicillium</i> | 33,5 | |
| | Ezme | <i>Rhizopus</i> | 2,6 | | Ezme | <i>Fusarium</i> | 16,5 | |
| | | <i>Aspergillus</i> | 50,3 | | | <i>Rhizopus</i> | 5,5 | |
| | | <i>Penicillium</i> | 43,5 | | | <i>Aspergillus</i> | 51,0 | |
| | İç zar | <i>Fusarium</i> | 6,2 | | Ezme | <i>Penicillium</i> | 20,6 | |
| | | <i>Aspergillus</i> | 60,6 | | | <i>Rhizopus</i> | 18,0 | |
| | | <i>Penicillium</i> | 33,0 | | | <i>Fusarium</i> | 10,4 | |
| | | <i>Rhizopus</i> | 4,0 | | | İç zar | <i>Aspergillus</i> | 95,0 |
| | <i>Tricoderma</i> | 1,4 | <i>Penicillium</i> | | 4,4 | | | |
| | | | <i>Rhizopus</i> | | 0,6 | | | |
| Giresun | Çiğ | <i>Aspergillus</i> | 45,0 | Akçakoca | Çiğ | <i>Aspergillus</i> | 54,2 | |
| | | <i>Penicillium</i> | 21,0 | | | <i>Penicillium</i> | 14,6 | |
| | | <i>Rhizopus</i> | 21,0 | | | <i>Rhizopus</i> | 14,6 | |
| | | <i>Fusarium</i> | 13,0 | | | <i>Fusarium</i> | 8,3 | |
| | Kavrulmuş | <i>Aspergillus</i> | 78,5 | | Kavrulmuş | <i>Tricoderma</i> | 8,3 | |
| | | <i>Penicillium</i> | 17,5 | | | <i>Aspergillus</i> | 45,2 | |
| | | <i>Fusarium</i> | 4,0 | | | <i>Rhizopus</i> | 27,0 | |
| | Ezme | <i>Aspergillus</i> | 63,7 | | Ezme | <i>Penicillium</i> | 18,3 | |
| | | <i>Penicillium</i> | 23,7 | | | <i>Fusarium</i> | 9,5 | |
| | | <i>Tricoderma</i> | 10,0 | | | Ezme | <i>Aspergillus</i> | 81,3 |
| | | <i>Rhizopus</i> | 2,0 | | | | <i>Penicillium</i> | 18,7 |
| | | <i>Fusarium</i> | 0,6 | | | İç zar | <i>Aspergillus</i> | 85,1 |
| | <i>Aspergillus</i> | 4,8 | <i>Penicillium</i> | | 9,3 | | | |
| | <i>Penicillium</i> | 34,4 | <i>Tricoderma</i> | | 4,7 | | | |
| | <i>Tricoderma</i> | 12,2 | <i>Rhizopus</i> | | 0,9 | | | |
| | <i>Rhizopus</i> | 5,6 | | | | | | |

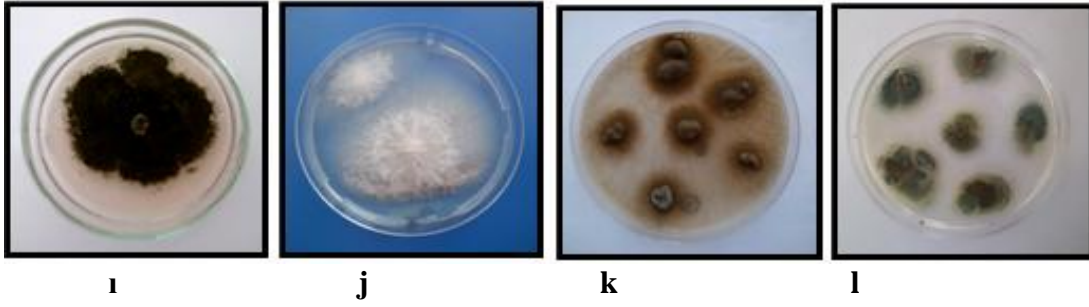
Trabzon Bölgesi



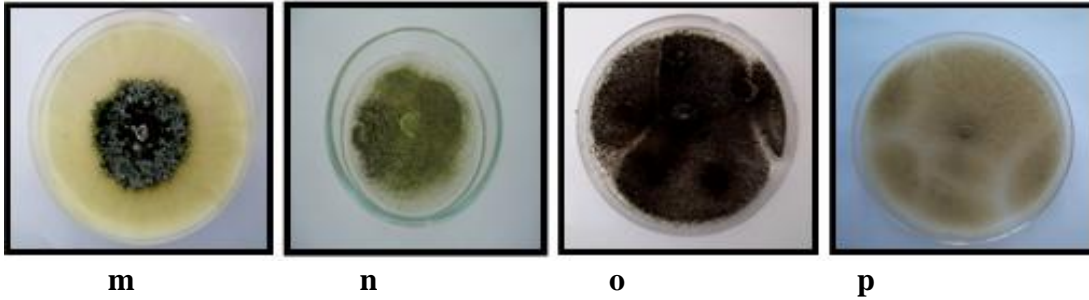
Ordu Bölgesi



Giresun Bölgesi



Akçakoca Bölgesi

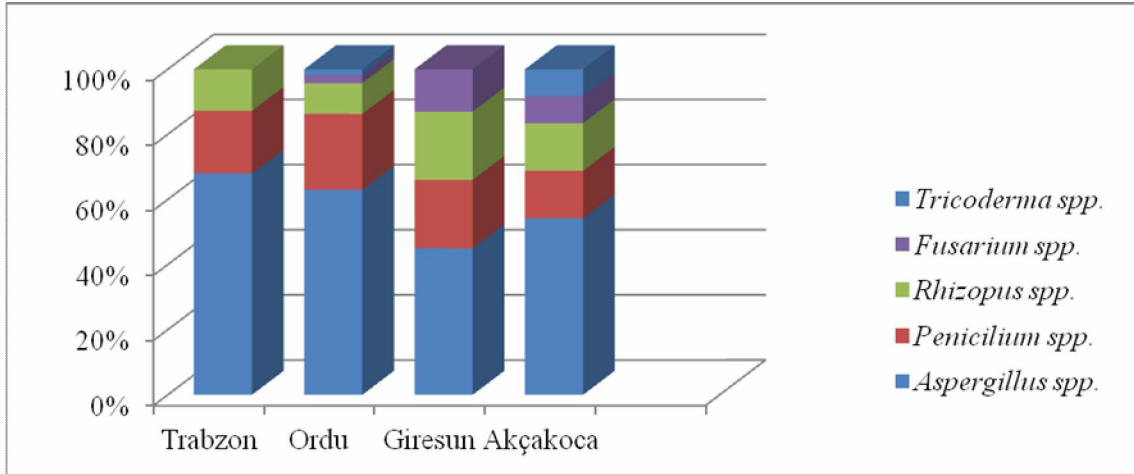


Şekil 4.3 Örnek gruplarından izole edilmiş fungal türler

a. Çiğ fındıktan saflaştırılmış *A. flavus* **b.** Kavrulmuş fındıktan saflaştırılmış *A. niger* **c.** Ezme örneğinden saflaştırılmış *Fusarium* spp. **d.** İç zardan saflaştırılmış *Penicillium* spp. **e.** Çiğ fındıktan saflaştırılmış *Trichoderma* spp. **f.** Kavrulmuş fındıktan saflaştırılmış *A. flavus*, **g.** Ezme örneğinden saflaştırılmış *Fusarium* spp. **h.** İç zardan izole edilmiş *A. niger*, **ı.** Çiğ fındıktan saflaştırılmış *A. flavus*, **j.** Kavrulmuş fındıktan saflaştırılmış *Fusarium* spp. **k.** Ezmeden izole edilmiş *Trichoderma* spp. **l.** İç zardan izole edilmiş *Penicillium* spp. **m.** Çiğ fındıktan saflaştırılmış *Trichoderma* spp. **n.** Kavrulmuş fındıktan saflaştırılmış *A. flavus*, **o.** Ezmeden saflaştırılmış *A.niger*, **p.** İç zardan saflaştırılmış *Trichoderma* spp.

Çalışılan tüm örneklerde tespit edilen en baskın tür *Aspergillus* spp. olmuştur. Çiğ ve kavrulmuş fındıktaki doğal mikofloranın belirlenmesi üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda, *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri baskın olmakla birlikte *Rhizopus*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Trichothecium*, *Mucor*, *Alternaria* ve *Trichoderma* türlerinin de izole edildiği bildirilmiştir (Çoksöyler, 1993; Şimşek, 2002; Heperkan, 2003; Gürsoy, 2008). Çiğ fındık örneklerinde tanımlanan fungal türler Şekil 4.4'te verilmiştir.

Kavrulmuş fındıklardan tanımlaması yapılmış fungal türler ise Şekil 4.5'te gösterilmiştir.



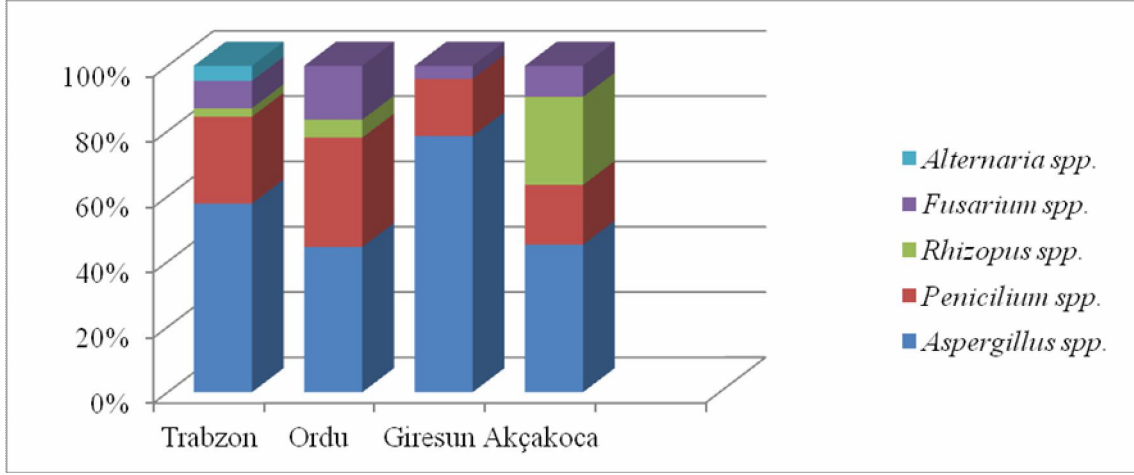
Şekil 4.4 Çiğ fındık örneklerinde tanımlanan fungal türler

Çizelge 4.2 ve Şekil 4.3'den incelenebileceği gibi Trabzon, Ordu, Giresun ve Akçakoca'dan temin edilen çiğ fındık örneklerinden %45-68 oranlarında *Aspergillus* spp. belirlenmiştir.

Çiğ fındıklardan izole edilen diğer fungus cinsleri *Rhizopus* spp. %9,4-14,6, *Penicillium* spp. %14,6-23,3 *Fusarium* spp. %2,6-13 ve *Trichoderma* spp. %1,7-8,3 dir. Çeşitli çalışmalarda benzer olarak fındıkta yüksek oranlarda doğal *Aspergillus* spp bulaşimleri bildirilmiştir (Demirer vd., 1989; Çoksöyler vd.,1993; Abdel-Hafez vd., 1993, Şahin ve Kalyoncuoğlu, 1994; Heperkan, 2003; Gürsoy, 2008).

Şimşek vd. (2002), Giresun'dan temin edilmiş 30 fındık örneğinde %96,6 *Aspergillus* spp., %93,3 *Penicillium* spp., %96,6 *Rhizopus* spp. ve %83,3 *Mucor* spp. teşhis etmişlerdir. Çiğ fındık örneklerimizde *Aspergillus* türlerinin yüksek oranda gözlenmesi fındığın ağaçta ve hasat sırasında fungal bulaşıklığa maruz kalmış olabileceği; kabuğun koruyucu tabaka oluşturmasına rağmen, hasat edilme sırasında oluşabilecek çatlaklardan bulaşma riski olabileceği fikrini akıllara getirmektedir. Ayrıca

findığın yetiştiği bölgelerin yüksek nem içeriğine sahip olması *Aspergillus* spp. gibi fungal etmenlerin kolaylıkla gelişebildiği ortamları oluşturmaktadır (Castro vd, 1995; GIBSA, 1999; Bottalico ve Perrone, 2002; CAST, 2003).



Şekil 4.5 Kavrulmuş fındıklardan tanımlanan fungal türler

Çalışılan kavrulmuş fındık örneklerinde mikoflorada en sık görülen fungus cinsi %44,5-78,5 oranlarında *Aspergillus* spp. bulunmuştur. 4 bölgeden alınan kavrulmuş fındıklardan izole edilen diğer fungus cinsleri ise %17,5-33,5 *Penicillium* spp., %2,6-27 *Rhizopus* spp., %4-16,5 *Fusarium* spp. ve %0-4 *Alternaria* spp. olarak belirlenmiştir.

Jimenez vd. (1991) ise İspanya’da fındık, badem, fıstık, Antep fıstığı ve ayçiçeği çekirdeğinde oluşan mikoflorayı ve mikotoksin oluşumlarını belirlemişlerdir. Örneklerde baskın olarak görülen fungus çeşitlerini ise *A. niger*, *A. flavus*, *Penicillium* spp. ve *Rhizopus* spp. olarak bildirmişlerdir.

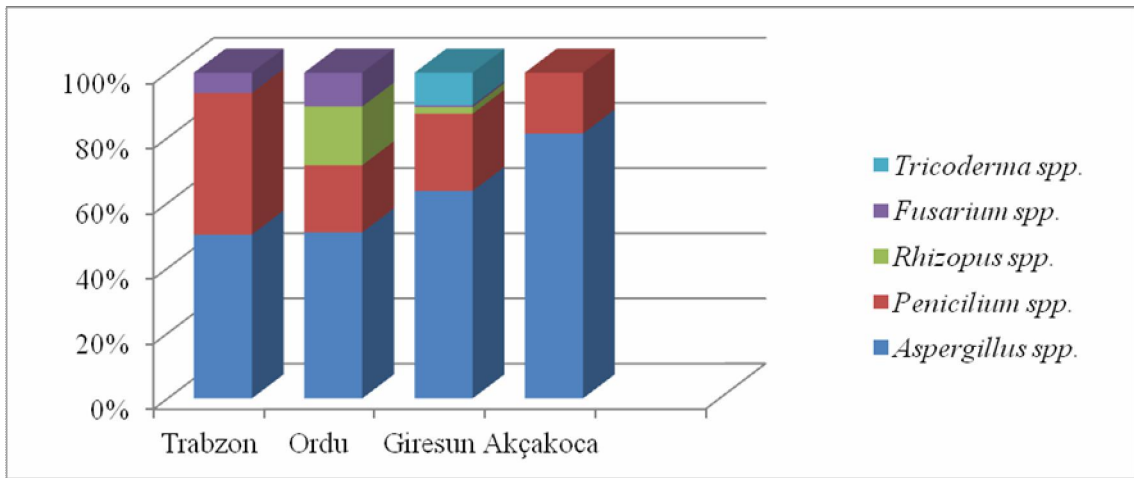
Gürsoy (2008), 25 kavrulmuş fındık örneğindeki doğal mikoflorayı araştırmış ve mikolojik analizler sonucunda mikoflorada %33,6 *Penicillium* spp., %26 *Aspergillus* spp., %13,4 *Fusarium* spp., %12,6 *Rhizopus* spp., %7,7 *Mucor* spp. ve %6,7 diğer iplikli fungus cinslerini teşhis etmiştir. Kavrulmuş fındıklara uygulanan ısı işleminden dolayı mikofloradaki bazı fungus oranlarının çiğ fındıklara göre daha az olduğu belirlenmiştir.

Deabes ve Al-Habib (2011), 2009 yılında Suudi Arabistan’da temin ettikleri içerisinde fındıkta bulunan sert kabuklu meyvelerde oluşan mikoflorayı belirlemişlerdir. Örneklerin %100’ünde fungal bulaşıklık tespit etmişlerdir. Doğal olarak oluşan

mikofloranın ise %53 *Aspergillus* spp., %33 *Penicillium* spp., %14 *Rhizopus* spp. den oluştuğunu bildirmişlerdir.

Ezme örneklerinde tanımlanan fungal türler Şekil 4.6'da verilmiştir. Ezme ve iç zar örneklerinde mikofloranın belirlenmesi üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanılmamış olmasına rağmen fungal türlerin yoğun olarak geliştiği gözlenmiştir.

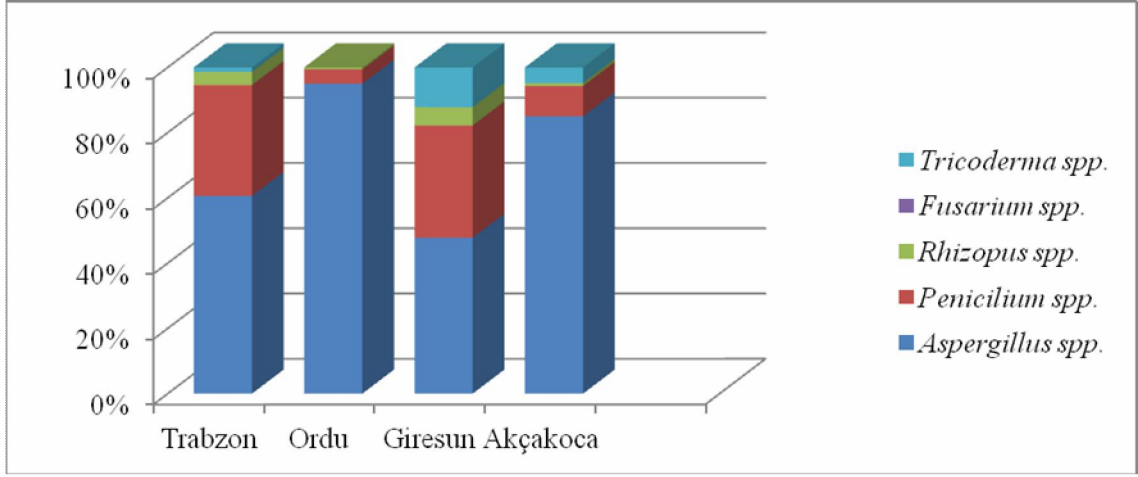
Ezme örneklerinde %50,3-81,3 düzeyinde *Aspergillus* spp. en fazla bulaşıklığa neden olan tür olarak belirlenmiştir. Örneklerdeki doğal mikoflora içinde yer alan türler sırasıyla; %18,7-43,5 *Penicillium* spp., %2-18 *Rhizopus* spp., %0,6-10,4, *Fusarium* spp. ve %0-10 *Trichoderma* spp. olarak izole edilmişlerdir.



Şekil 4.6 Fındık ezmelerinde tanımlanan fungal türler

Ezmenin bileşiminde bulunan şeker, mikroorganizmalar tarafından kullanılan serbest suyu bağlı suya dönüştürdüğü için mikroorganizma yoğunluğunda önemli ölçüde azalma beklenilmektedir. Örneklerimizin izolasyon oranında çiğ fındığa göre çok az bir düşüş görülmesi, ezme endüstrisinde kullanılan fındıkların mikroorganizma yükü fazla, bütün fındık olarak tüketilemeyen alt kalite ürünler olduğunu akıllara getirmektedir.

Fındık iç zar örneklerinde tanımlanan fungal türler 4.7'de verilmiştir. Şekil 4.6'da görüleceği üzere fındık iç zarlarından %47,8-95 *Aspergillus* spp., %4,4-34,4 *Penicillium* spp., %1,4-2,2 *Trichoderma* spp. ve %0,6-4 *Rhizopus* spp. olarak tespit edilmiştir. Tanımlaması yapılamayan fungus cinsleri ise dikkate alınmamıştır.



Şekil 4.7 Fındık iç zar örneklerinde tanımlanan fungal türler

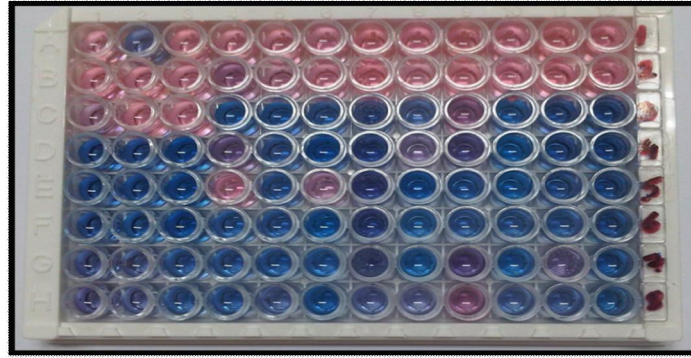
İç zar örneklerinin tamamında *Aspergillus* spp. yüksek oranda gözlenmesi fındığın ağaçta ve hasat sırasında fungal bulaşıklığa maruz kaldığını düşündürmektedir. Çünkü kabuklu fındıkta *Aspergillus* spp. gelişimi kabuk yüzeyinde ağaçta başlamakta, ürünün toprakla teması doğrultusunda ve hasat işlemleri boyunca artabilmektedir. Yerle temas eden sağlam kabuklu fındıklarda *Aspergillus* spp. görülmez iken dış kabuk ya da iç zarda zedelenme olduğundan fındıkta *A.flavus* ve *parasiticus* gelişimleri bildirilmiştir (Heperkan, 2003). Bunun nedeni ise sert kabuğun ve iç zarın fındığı fungal bulaşmalara ve bakterilere karşı koruyucu olması ile açıklanabilmektedir (Bayman vd., 2002; Campbell vd., 2003).

Fındığın yetiştiği Karadeniz bölgesinin yüksek nem içeriğine sahip olması *Aspergillus* spp. gelişimine uygun ortam oluşturmaktadır. Hasat edilen fındıkların, geleneksel yöntemle toprak veya beton zemin üzerine serilerek kurutulması, bu işlemin uzamasıyla uzun süre nemli kalan fındıkların yeterince havalandırılmaması, akşam saatlerinde üzerinin naylon örtülerle kapatılması *Aspergillus* spp. oluşumunu teşvik etmektedir. Ayrıca hasat işlemi sonrasında depolanan fındıkların uygun olmayan nemli koşullarda bekletilmesi yine *Aspergillus* spp. gelişimi ile sonuçlanmaktadır.

4.3 CD-ELISA Yöntemi İle Toplam Aflatoksinlerin Belirlenmesi

Testin ana prensibi antijen-antikor reaksiyonuna dayanmaktadır. Özel antikorlarla kaplanmış kuyucuklara konjugat ve örneklerin ilave edilmesiyle aflatoksin derişimine karşı antikor bağlı siteler tutulur. Geride kalan bağlanmamış siteler bir sonraki aşamada enzim konjugat tarafından bağlanır. Bağlanmamış enzim konjugatlar, yıkama işlemi ile

uzaklaştırılır. Substrat ve kromojenin kuyucuklara eklenmesi ile kromojen, bağlı enzim konjugatı mavi bir renge dönüştürür. Durdurma solüsyonu ilavesi reaksiyonu durdurur ve mavi rengin pembeye dönüşmesine neden olur. Sonuç olarak okunan absorbans değeri örnek içindeki aflatoksin derişimi ile ters orantılıdır. Test edilen örneklerin ELISA platelerindeki kuyucuklarda oluşan renk değişimi Şekil 4.8’de verilmiştir.



Şekil 4.8 CD-ELISA testinde kuyucuklardaki renk oluşumu

CD-ELISA yöntemi; hızlı, hassas, güvenilir, çok sayıda örneğin aynı anda testlenebildiği bir yöntem olup mikotoksin analizlerinde güvenle yaygın olarak kullanılmaktadır (Trucksess vd., 1998; Park vd., 1996; Gillespie vd., 2003).

Yapılan çeşitli çalışmalarda, ELISA yönteminin güvenilirliği ve hassaslığı araştırılmıştır. Örneğin Sabino vd. (1997) fındık, mısır, balık yemi, yer fıstığı ve bunların işlenmiş ürünlerinin bulunduğu 53 örnekte aflatoksin taramasında iki ticari ELISA kitinin etkinliklerinin TLC yöntemi ile karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. Elde edilen bulgulara göre, ELISA ve TLC yöntemlerinden elde edilen sonuçların paralel olduğu ve ELISA'nın TLC yönteminden daha hızlı, basit, daha fazla örneğin test edebildiği ve daha az organik çözücü kullandığı bildirmişlerdir.

Chu vd. (1999), doğal olarak 0,7-12mg DON/g düzeyinde deoksynivalenol (DON) bulaşıklığı içeren 6 buğday örneğini, immunoaffinite kolon yüksek performans sıvı kromatografisi (IAC-HPLC) ve CD-ELISA yöntemi kullanarak analiz çalışmalarını yapmışlar ve elde ettikleri sonuçların birbiri ile uyumlu olduğunu bildirmişlerdir.

Yu vd. (1999), Mısır silajı ve karışık yemlerden oluşan toplam 63 örnekte *Alternaria alternata* mikotoksinleri (AAL), siklopiazonik asit (CPA), DON, FB₁, PR toksin (PRT) ve zearalanone (ZEN) bulaşıklıklarını, Radyo İmmuno Test (RIA) ve CD-ELISA yöntemleri ile araştırmışlardır. Analizler sonucunda AAL toksin, DON, CPA,

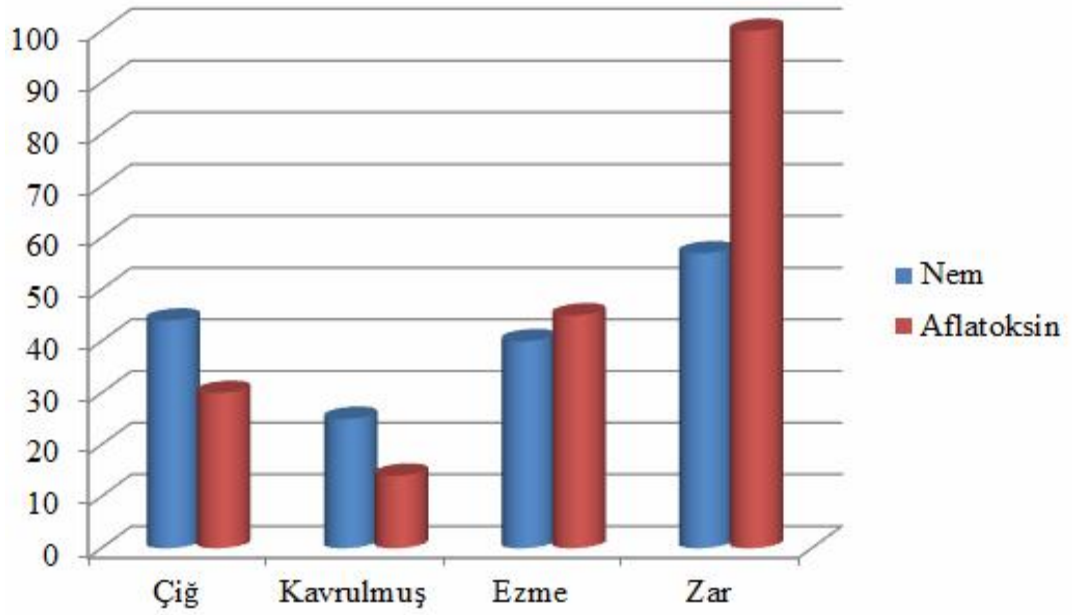
FB₁, PRT ve ZEN oluşum sıklıklarını sırasıyla %96.8, 100, 87,3, 36,5, 76,2 ve 3,2 mikotoksin konsantrasyonları ise 0,56, 0,73, 0,34, 0,28, 0,13 ve 0,22 ppm olarak bulunmuştur. Örneklerin RIA ve CD-ELISA ile yapılan analizler sonucunda elde edilen toksin değerlerinin aynı oldukları bildirilmiştir.

Çalışılan tüm örneklerde CD-ELISA yöntemi ile belirlenen aflatoksin içerikleri ve bulaşıklık oranları Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3 Örneklerde belirlenen toksin içerikleri ve bulaşıklık

| Örnek | Örnek Sayısı | Aflatoksin (Ppb) | Aflatoksinli Örnek Sayısı | Yasal Sınırı Aşan Örnek Sayısı | % Bulaşıklık |
|-----------|--------------|------------------|---------------------------|--------------------------------|--------------|
| Çiğ | 30 | 2,11-10,03 | 9 | 1 | 30 |
| Kavrulmuş | 50 | 0,1-4,04 | 7 | - | 14 |
| Ezme | 20 | 0,2-6,02 | 9 | - | 45 |
| Zar | 50 | 0,7-38,2 | 50 | 25 | 100 |

Farklı bölgelerden temin edilmiş 4 farklı fındık örneklerinin; çiğ, kavrulmuş, ezme ve iç zar nem içerikleri ve aflatoksin oluşumları arasında istatistiki değerlendirilmeler sonucunda nem içeriği ile aflatoksin oluşumu arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Çalışılan örneklerin nem içerikleri ve aflatoksin oluşumları Şekil 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9 Çalışılan örneklerin nem içerikleri ve aflatoksin oluşumları

Şekil 4.9’da örneklerin nem içerikleri ile aflatoksin oluşumu arasında paralel ilişki görülmektedir. Örneklerde nem içeriklerinin artış ya da azalışına bağlı olarak aflatoksin oluşumlarında da artış ya da azalış meydana gelmiştir.

Çiğ fındık örneklerinde bulunan nem içerikleri *Aspergillus* gelişimleri dolayısıyla aflatoksin oluşumlarını artıran etkenlerden birisidir. Kavrulmuş örneklerde ise daha düşük bir nem ve aflatoksin oluşumu gözlenmiştir. Bu da kavurma esnasında uygulana 100-150°C arasındaki ısıl işlem ile nem içeriğinin azalmasını sağlamıştır. Düşük nem içeriği, büyük olasılıkla *Aspergillus* gelişimlerini engellemiş ve başlangıçta bulunan toksin seviyesini korumuş ve/veya aflatoksin oluşum seviyesi azaltmıştır.

Ezme örneklerinde nem ve aflatoksin oluşumu nem düzeyinde artışla birlikte artmıştır. Ezmenin nem içeriğinin, kavrulmuş fındığın nem içeriğiyle yakın değerlerde olması beklenirken daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Buda ürünün işleme aşamasında ağzı vakumla kapalı ambalajlarda iyi korunamaması ya da vakumlama işleminin yetersiz olması, kullanılan katkıların oranların iyi ayarlanamamış olması gibi faktörlerle açıklanabilir. Aflatoksin oluşumundaki artış ise hem nem içeriğindeki artışa hem de ürün hammaddesi olan fındık üzerindeki iç zar ile işlendiğinden zarın sahip olduğu nem ve fungal bulaşıklıkla ilişkilendirilebilir.

Ezme örneklerinde yapım aşamasından sonraki bekleme ya da raflarda bulunma süreleri boyunca üst kısımlarında yağ birikimleri meydana gelmektedir. Ezmede yağ

birakımı sırasında içeriğinde bulunan E vitamininin yağ içerisinde yıkanarak uzaklaştırılmasına neden olarak ürünün aflatoksin oluşumlarına karşı koruyucu etkisinde azalmayı sonuçlayabilecektir. Bu durumda aflatoksin oluşumlarının artışıdaki nedensel etkilerden birisi sayılabilir.

Zar örneklerimizde nem ve aflatoksin içeriklerinin fazla çıkmış olması çalışmanın en önemli sonuçlarından birisidir. Çoğunlukla doğrudan çerezlik olarak veya ezme, kahve, krokan gibi ürüne dönüştürülürken zar ile birlikte tüketilmektedir. Bu da zarda mevcut olan yüksek miktarda aflatoksinin direkt vücuda alınmasına yol açmaktadır. Bu durumda insan sağlığını tehdit eden önemli bir unsur olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çalışmada kullanılan çiğ fındık örneklerinde toplam aflatoksin oluşumları %30 olarak bulunurken, örneklerin sadece 1 tanesinde TGK'nın belirlediği toplam aflatoksin için yasal sınır olan 10 ppb'yi geçtiği saptanmıştır.

Ayçiçek vd. (2005)'nin çiğ fındıklarda toplam aflatoksini belirledikleri çalışmalarında 51 çiğ fındıktan sadece 1'inin bu yasal limiti aştığı bildirilmiştir. Özellikle çiğ fındık örneklerinde yüksek yağış alan bölgelerde yüksek nem içerikleri ve dolayısıyla aflatoksin içerikleri saptanmış olması, iklimsel koşulların önemli rol oynadığını bildirmişlerdir.

Aluç ve Aluç (2003)'un Akçakoca, Ordu ve Giresun bölgelerinde yetiştirilen fındıklardaki aflatoksin düzeyinin belirlenmesi üzerine yaptıkları bir çalışmada; Akçakoca bölgesinden 186 parti çiğ fındıktaki 10 partide 4,77–78,93 ppb, Giresun bölgesinden 160 parti çiğ fındıktan 20 partide 4,34–150,08 ppb ve Ordu bölgesinden 177 parti çiğ fındıktaki 16 partide 3,61–135,51 ppb gibi yüksek oranlarda toplam aflatoksin değerlerine ulaştıklarını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda 50 adet kavrulmuş fındık örneğinden 7'sinde aflatoksin tespit edilmiş, toplam aflatoksin miktarı yasal sınırın altında 0,1-4,04 ppb olarak belirlenmiştir.

Weidenbörner (2001) fındıklarda aflatoksin oluşumlarını sistematik bir biçimde incelemişlerdir. Çalışmada analizi yapılan fındık örneklerinin %76'sında 0,5-50 ppb seviyelerinde aflatoksin oluşumu bildirilmiştir.

Heperkan (2003)'ın yapmış olduğu çalışmada gıdalarda mikotoksinler ve ülkemiz açısından önemini araştırmıştır. Çalışmada Karadeniz bölgesinde; Ordu, Giresun ve Tirebolu'dan temin edilen 140 örnek incelenmiş ve 25 adet fındık örneğinin 5'inde 1,1-1,8 ppb aflatoksin belirlemiştir.

Deabes ve Al-Habib (2011), fındıklarda immuno affinite kolon (IAC) temizleme sıvı kromatografisi (LC) yöntemi ile aflatoksin seviyelerini araştırmışlardır. Analizlenen fındık örneklerinin mikoflorasında aflatoksin üretme kapasitesine sahip olan *Aspergillus* türleri baskın olduğunu ve aflatoksin seviyelerini 41-55 ppb arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Çalışılan kavrulmuş fındık örneklerinde aflatoksin oluşumu 0,1-4,04 ppb seviyelerinde bulunmuştur. Kavrulmuş örneklerdeki aflatoksin oluşumlarının çiğ fındık örneklerinden daha düşük seviyelerde bulunmuş olması kavurma işlemi sırasında uygulanan ısıl işlemin tam olarak aflatoksini yok etmese de aflatoksin oranı sabitlediği ya da azalttığını göstermektedir.

Çiğ fındıklar aflatoksin açısından daha riskli iken kavrulmuş fındıkların toksin oluşumuna daha dayanıklı olduğu bildirilmiştir (Sanchis vd., 1988). Bunun sebebi ise kavrulmuş fındıklara uygulanan ısıl işlemler sonucu mikofloradaki bazı fungusların etkisiz hale gelmesine ve nem içeriklerinin düşmesi olarak açıklanabilir. Aynı zamanda fungusların gelişimi için gerekli olan bağı olmayan su oranının yüksek olması nedeniyle daha sıklıkla fungal bulaşıklığa rastlanmaktadır. Ayrıca ürünlerdeki yağ oranı attıkça küf oranı ve aflatoksin oluşumlarının da arttığı bildirilmektedir (Reddy ve Shetty, 1992).

25 çiğ ve 25 kavrulmuş fındık örneğindeki doğal mikoflora ve aflatoksin bulaşıklıklarının araştırıldığı bir çalışmada; 50 fındık örneğinin 33'ünde (%66) 0,1–155 ppb seviyelerinde aflatoksin bulaşıklığı bildirilmiştir. Aflatoksin analizlerinde yöntem olarak immunoaffinite kolon -yüksek performans sıvı kromatografisi (IAC-HPLC) kullanılan bu çalışmada, yasal sınırın üzerinde yüksek aflatoksin oluşumları 2 çiğ ve 6 kavrulmuş fındık örneğinde 14,2-155 ppb seviyelerinde belirlenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre; çiğ ve kavrulmuş fındık örneklerindeki aflatoksin bulaşıklık seviyeleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu bildirilmiştir ($p<0,05$) (Gürsoy, 2008).

Çalışmamızda analiz edilen 20 ezme örneğinin 9'unda 0,2-6,02 ppb düzeyinde toplam aflatoksin bulunmuştur. Örneklerdeki aflatoksin bulaşıklığı %45 gibi bir oran olmasına rağmen hiçbiri TGK' da belirlenen (AFB₁ için maksimum 5 ppb, toplam aflatoksin maksimum 10 ppb) yasal limitin üzerine çıkmamıştır. Ayçicek vd. (2005)'nin 40 kakaolu fındık ezmesi kullanarak yaptıkları çalışmada örneklerin %97,5'inde toplam aflatoksin tespit etmişlerdir.

Günşen ve Büyükyörük (2002), Bursa’da ki çeşitli marketlerden temin ettikleri 25 kakaolu fındık ezmesinde, ortalama $1076,5 \pm 194,4$ ppt aflatoksin bulduklarını rapor etmişlerdir.

Vural vd. (2005) ise İstanbul bölgesinde tüketilen 180 ezme örneğini toplam aflatoksin açısından incelemişler ve örneklerin %6,59’unun yasal olarak belirlenen kabul edilebilir en yüksek düzeyi aştığı tespit etmişlerdir.

Imperato vd. (2011) 345 örnek üzerinde aflatoksin düzeylerini araştırmışlardır. Aflatoksin belirlenen 15 örneğin 10’ u Türkiye’ den ithal edilen örnekler olup toplam aflatoksin seviyeleri 0,33-70,69 ppb olarak tespit edilmiştir. En yüksek aflatoksin oluşum sıklığı fındık ezmesi örneklerinde belirlenmiştir. Türkiye’den ithal edilen 5 fındık ezmesi örneğinin hepsinde aflatoksine rastlanmışken örneklerden birinin direkt insan tüketimi ve gıda katkı maddesi olarak kullanımı için belirlenmiş yasal değerleri aştığını rapor etmişlerdir.

Davis ve Dien (1967), aflatoksinlerin büyük bir kısmının glikoz, fruktoz içeren ortamlarda funguslar tarafından daha iyi üretildiğini bildirmişlerdir. *Aspergillus* türleri için iyi bir substrat olan fındığın ve ezmenin içerisine katkı maddesi olarak katılan şekerin ezmedeki aflatoksin üretimini artırmış olabileceği kanısına varılmıştır. Analiz ettiğimiz ezme örneklerindeki toksin bulaşıklığı yasal sınırın altında olmakla birlikte bulaşık örnek sayısının yüksek olması ihmal” edilmemelidir. Özellikle gençlerin ve çocukların severek tükettiği bir gıda maddesi olan ezmenin üretimini yapan işletmelerin fındık alımlarında; işletme hijyeninde ve depolamada daha özenli davranmaları gerektiği düşünülmektedir.

Fındık iç zarda aflatoksin bulaşma oranı %100 ve toksin seviyeleri 0,7-38,2 ppb gibi yüksek seviyelerde bulunmuştur. Bu sonuçlar çerçevesinde aflatoksin içeriklerinin yaygın ve yüksek seviyelerde olma nedenlerinden birisi ve belkide en önemlisi fungal etmenlere karşı koruyucu olan dış kabuğun zarar görmesi ve çatlakların oluşması ile fungal bulaşımın iç zara ulaşmasıdır. Ayrıca fındık dış kabuktan ayrıldıktan sonra uygun olmayan çevre ve saklama koşulları öncelikle iç zarda sorunlara neden olacak ve yoğun bulaşımın meydana gelmesini mümkün kılacaktır. TGK’da iç zarda aflatoksin oluşumu ile ilgili bir sınırlama bulunmamaktadır. Çiğ fındığın zar ile birlikte tüketildiği ve hayvan yemi olarak kullandığı düşünüldüğünde böyle bir sınırlamanın olmaması canlı sağlığı için ciddi bir risktir.

Sert kabuğun, fındığı fungal bulaşıklıklara ve dolayısıyla aflatoksin oluşumlarına karşı koruyup korumadığına dair çalışmalar yapılmış olmasına rağmen iç zar üzerine bir çalışma bulunmamaktadır.

Özer (2009)'in yaptığı çalışmada fındıklara uygulanan kavurma, zar atma tekniklerinden sonra iç zar örneklerinde aflatoksin içerikleri araştırılmıştır. Çalışmada doğal olarak bulaşık fındıkların yanında yapay olarak belirli düzeylerde (10 ppm ve 20 ppm) aflatoksin bulaşımı sağlanacak şekilde *A. flavus* ile aşılınmış örneklerde kullanılmıştır. Elde edilen verilere göre kavurma, elle ayırma, mekanik ayırma ve zar atma gibi işlemlerin fındıklardaki aflatoksin oranını azalttığını saptamıştır. Birinci 140-145 °C kavurma işleminden önce aflatoksin seviyesi 11,28 ng/g olan fındıklarda bu değer kavurma sonrası 1,11 ppb olarak bulunurken, zar atma sonrası ise 0,23 ppb'a düştüğü belirlenmiştir. Elde edilen zarda ise aflatoksin (12,71 ppb) değerinin fındıktan yüksek çıktığı bildirilmiştir. Çalışmanın sonucunda aflatoksinlerin zarda ve zarar görmüş fındıklarda yoğunlaştığı ve yapılan işlemlerden sonra fındıkların aflatoksin kontaminasyonundaki ortalama azalmanın %98 olduğu bildirilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye’de yoğun olarak fındık yetiştiriciliğinin yapıldığı Trabzon, Ordu, Giresun ve Akçakoca bölgelerinden alınan çiğ, kavrulmuş fındık, ezme ve iç zar örneklerinde doğal olarak oluşan mikoforanın ve aflatoksin oluşumlarının belirlenmesinin amaçlandığı bu çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda şu sonuçlara varılmıştır;

Çalışmamızda hem mikoflorayı hem de aflatoksin oluşumlarını etkileyen önemli bir faktör olan nem içerikleri; çiğ fındık örneklerinde %3,88-4,56, kavrulmuş fındık örneklerinde %2,44-2,9, ezme örneklerinde %1,2-4,5 ve iç zarlar örneklerinde %8,04-14,76 olarak bulunmuştur.

Örneklerin mikrobiyolojik ekimlerinden sonra gelişen fungus kolonilerinin izolasyonları sonucunda teşhis edilmesiyle doğal olarak oluşan mikoflora belirlenmiştir. Mikrobiyolojik izolasyonlar sonucunda tespit edilemeyen fungus cinsleri dikkate alınmamıştır.

Çiğ fındıkta belirlenen mikoflora; %45-68 *Aspergillus* spp., %14,6-23,3 *Penicillium* spp., %9,4-21 *Rhizopus* spp., %2,6-13 *Fusarium* spp., %1,7-8,3 *Tricoderma* spp. olarak bulunmuştur.

Bu oranlar kavrulmuş fındığın mikoflorasında ise %44,5-78,5 *Aspergillus* spp., %17,5-33,5 *Penicillium* spp., %2,6-27 *Rhizopus* spp., %4-16,5 *Fusarium* spp., %0-4 değerlerinde *Alternaria* spp. olarak gözlenmiştir.

Fındık ezmesi örneklerinde %50,3-81,3 *Aspergillus* spp., %18,7-43,5 *Penicillium* spp., %2-18 *Rhizopus* spp., %0-10 *Tricoderma* spp. ve %0,6-10,4 oranlarında *Fusarium* spp. türleri izole edilmiştir.

Fındık iç zarında mikoflora konusunda herhangi bir bilimsel yayın literatüründe çalışmaya rastlanılmamıştır. Aflatoksin oluşumu ile ilgili sadece bir doktora çalışması bulunmuştur. İç zar örneklerindeki mikoflorada %47,8-95 *Aspergillus* spp., %4,4-34,4 *Penicillium* spp. %1,4-12,2 *Tricoderma* spp. ve %0,6-5,6 *Rhizopus* spp. bulunmuştur.

Tüm örneklerdeki mikoflora çalışmaları sonucuna göre mikotoksijenik özelliğe sahip *Aspergillus* spp. en yaygın fungus türü olarak saptanmıştır. Gerek yetiştirildiği Karadeniz bölgesinin nemli ve yağışlı iklim koşulları, geleneksel olarak yapılan fındık tarımı ve gerekse fındığın *Aspergillus* türleri için iyi bir substrat olması, depolama ve

ürün olarak işleme aşamalarındaki yetersizliklerden dolayı *Aspergillus* bulaşıklığı yoğun olarak gözlenmiştir.

Çalışılan toplam 150 çiğ, kavrulmuş fındık, ezme ve iç zar örneklerinin %50'sinde 0,1-38,2 ppb seviyelerinde aflatoksin bulaşıklıkları saptanmıştır.

30 çiğ fındık örneğinin 9'unda 2,11-10,03 ppb düzeylerinde aflatoksin oluşumu belirlenmiş ve örneklerden yalnızca bir tanesinin yasal sınırın üzerined aflatoksin içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Kavurulmuş fındık örneklerinde aflatoksin bulaşıklığı %14 aflatoksin düzeyleri ise 0,1-4,04 ppb yasal sınırın altında bulunmuştur.

Ezme örneklerinin %45'inde 0,2-6,02 ppb seviyelerinde aflatoksin bulaşıklığı belirlenmiş, örneklerdeki yasal sınırın altında toksin içerikleri saptanmıştır.

50 iç zar örneğinin %100'ünde 0,7-38,2 ppb seviyelerinde aflatoksin düzeyi belirlenmiştir. Fındık iç zarında aflatoksin oluşumları için belirlemiş yasal bir sınırlama değeri bulunmamaktadır. Bu nedenle fındık ve ürünlerinde toplam aflatoksin oluşumları için uygulanan yasal değer 10 ppb sınırlaması dikkate alınmıştır. Bu durumda örneklerin 25'inde yasal sınırın üzerinde yüksek aflatoksin oluşumları tespit edilmiştir.

Tüm bu bilgiler ışında ülke tarım ve gıda sanayindeki önemi tartışılmaz olan fındık ve hammadde olarak kullanıldığı ürünlerin tüm üretim ve tüketim aşamalarında üzerinde önemli durulması gerektiğine inandığımız konular özetlenecek olursa;

Türkiye için önemli bir ihraç ürünü olan fındık ve ürünleri aynı zamanda dünya genelinde yaygın olarak kullanılan gıda maddeleridir. Gıda güvenliği, kalite ve güvenilirliği gibi konuların üzerinde önemle durulmaktadır. Ancak fındıkta uygun olmayan hasat sırası ve hasat sonrası işlemler sonucunda artan aflatoksin bulaşıklığı, hem ekonomik hem de halk sağlığı açısından karşımıza büyük bir problem olarak çıkmaktadır. Bu nedenle özellikle aflatoksin riski taşıyan bu gibi ürünlerde, aflatoksin oluşumunun kontrolü için üretimden, işleme, dağıtımdan depolamaya kadar olan tüm aşamalardaki gıda zincirinde çeşitli erken kontrol ve önleme çalışmalarının dikkatle planlanması gerekmektedir.

Tarım ürünlerinin işlenmiş halinin gıda, gıdanın da hammaddesinin tarım ürünleri olduğu unutulmamalıdır. Bu kapsamda fındık tarlada iken İyi Tarım Uygulamaları (Good Agricultural Practices), ürün olarak işleme aşamasında, İyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacturing Practices) ve İyi Hijyen Uygulamaları (Good Hygiene Practices), ürün olarak işlendikten sonra, İyi Depolama Uygulamaları (Good Storage Practices), İyi Dağıtım Uygulamaları (Good Distribution Practices) ve tüm

findık ve ürünlerinin üretimi esnasında toplam kalite kontrol sistemlerinden HACCP, ISO 22000 gibi toplam kalite sistemleri uygulanmalıdır.

Aflatoksin konusunda uygulamada olan yasal kontroller sadece ihraç edilen ürünlerine değil iç piyasada tüketime sunulan ürünlerde de yapılmalıdır. Bunun içinde ürünler depolarda tutulduklarında ya da marketlerde tüketime sunulma aşamasına kadar dikkatle izlemelidir. Aflatoksin bulaşıklığı bakımından findık gibi riskli ürünlerin, tüketicilere sunulmadan önce aflatoksin analizleri rutin hale getirilmelidir. Bu analizler sonucu tolerans seviyelerinin üzerinde aflatoksin bulaşıklığı içeren gıda ve yemlerin insan ve hayvanlar tarafından tüketimi kesinlikle önlenmelidir.

Çalışma sonuçlarına göre findık iç zarında hem yoğun olarak mikotoksijenik mikoflora hem aflatoksin içerikleri çok yüksek bulunmuştur. Çalışmanın çeşitli aşamalarında çeşitli kereler ifade edildiği üzere Türk Gıda Kodeksinde findık ve ürünleri için aflatoksin bulaşıklılığı yönünden yasal sınırlamalar varken findık iç zarında böyle bir uygulama bulunmamaktadır. Kodeks yetkilileri ile yaptığımız karşılıklı görüşmelerde iç zarın gıda olarak değerlendirilmediği ifade edilmiş, bu nedenle yasal uygulama yapılmadığı belirtilmiştir. Oysaki çerez olarak tüketilen çiğ findıkların genelinde, ezme, krokan, şekerleme, findıklı kahve yapımında kullanılan findık zarlı olarak kullanılmaktadır.

Ayrıca findık iç zarı, Karadeniz insanı tarafından toprak gübresi ve hayvan yemi olarak da kullanılmaktadır. Çalışılan iç zar örneklerinde %100 aflatoksin bulaşıklığı göz ardı edilemeyecek düzeydedir. Mikotoksijenik fungus türlerinin yoğun olarak bulunduğu iç zarın toprak gübresi olarak kullanımı toprak kalitesini ve mikoflorasını kötü yönde etkileyecektir. Yine benzer olarak iç zarın yaygın olarak hayvan gübresi olarak değerlendirilmesi ciddi bir sorundur. Çünkü aflatoksinle bulaşık yemlerle beslenen hayvanlardan temin edilen; et, süt, yumurta gibi temel gıdalarda aflatoksin bulaşıklığı kaçınılmaz olacaktır. Findık iç zarıda oluşabilecek aflatoksin içerikleri hızlı bir şekilde yasal sınırlar içerisine alınmalı ve uygulamaya başlanmalıdır. Bu konuda Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda Kalite ve Kontrol Daire Başkanlığı ile resmi görüşmelere başlanmıştır. İç zarda oluşan aflatoksin bulaşıklıkları için yasal sınır getirilmesi sadece insan ve hayvan sağlığı açısından değil aynı zamanda tarım ve hayvan ticaretinde meydana gelebilecek önemli ekonomik zararların ortadan kalkmasını ya da en aza indirilmesini sağlayacaktır.

Özellikle gençlerin ve çocukların severek tükettiği bir gıda maddesi olan findık ezmesi, dondurma, şekerleme ürünleri gibi findık ürünlerinin üretimini yapan

işletmelerin ise fındık alımlarında işletme hijyenine, depolama koşullarına, üretim tekniklerine ve sanitasyon uygulamalarına özenli davranmaları gerekmektedir.

Aflatoksin analizlerinin yapıldığı laboratuvarların ulusal ve uluslararası güvenilirliği açısından mutlaka akredite laboratuvarlar koşullarına sahip olmalıdır. Aksi takdirde belirli standartlara sahip olmayan laboratuvarlarda yapılan aflatoksin analizlerinin sonuçları arasında farklılık olması, güvenilir olmaması ve uluslararası geçerli olmaması kaçınılmaz olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abarca, M. L., Bragulat, R., Castella, G., Accensi, F., Cabanes, F. J. (2000). Emerging Mycotoxin-Producing Fungi, *Rev. Iberoam. Micol.*, 17, 563-568.
- Abdel Hafez, A.I.I. , Saber, S. M., 1993; Mycoflora and Mycotoxin of Hazelnut (*Corylus Avellana* L.) and Walnut (*Juglans Regia* L.) Seeds in Egypt, 148(2), 137-147.
- Açkurt, F. (2006). “Fındığın Beslenme ve Sağlık Açısından Değerlendirilmesi”, 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri Ve Yayımcılık, s.596-601.
- Agag, B. I. (2004). Mycotoxins in Foods and Feeds, *Ass. Univ. Bull. Environ. Res.*, 7(1), 173- 205.
- Akgün, A., Yazıcı, F., Dervişoğlu, M. (2005). Fındığın Önemi ve Aflatoksin Problemi. II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildiriler Kitabı, 23-24 Mayıs, 111s.
- Aksoy, A., Yavuz, O., Güvenç, D., Das, Y. K., Terzi, G., Çelik, S. (2010). Determination of Aflatoxin Levels in Raw Milk, Cheese and Dehulled Hazelnut Samples Consumed in Samsun Province, Turkey. *Kafkas Univ. Vet. Fak Derg.*16, 513-516.
- Akşehirli, M. ve Bozkurt, M. (1969). Memleketimizde Fındık, Fıstık, Badem İçi ve Cevizlerde Aflatoksin Bakımından Bir Araştırma, *Türk Hijyen Teknoloji Biyoloji Dergisi*, 29, 103-112.
- Alasavar, C., Shahidi, F., Liyanapathirana, C. M., Oshima, T. (2003). Turkish TombulHazelnut (*Corylus Avellana* L.) 1. Compositional Characteristics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3790–3796.
- Aluç, M., Aluç, S. (2003). Akçakoca, Ordu ve Giresun Yörelerinde Yetiştirilen Fındıklarda Aflatoksin Düzeyinin Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma, *Ulusal Mikotoksin Sempozyumu*. 18-19 Eylül 2003, İstanbul. 60-67.
- Anil, M. (2007). Using of Hazelnut Testa as a Source of Dietary Fiber in Breadmaking, *Journal of Food Engineering*, 80(1), 61-67.
- Anonim (1996). “Gıda ve Yemlerde Katkı-Kalıntı ve Bulaşanların İzlenmesi” Projesi.
- Anonim (2000). <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/210010320.pdf>.
- Anonim (2006). <http://www.gidasanayii.com>
- Anonim (2007b). <http://www.ordutarim.gov.tr/subeleler/kontrol/aflatoksin/toksinler.htm>
- Anonim(2009a). http://www.ftg.org.tr/devam_tur/cesit.htm.

- Anonim (2009b). http://www.ftg.org.tr/devam_tur/cesit_islenmisfindik.htm.
- Anonim (2009c). http://www.ftg.org.tr/devam_tur/saglik.htm.
- Anonim(2010a). <http://www.tmo.gov.tr/upload/document/raporlar/findiksektor.pdf>
- Anonim(2010b).<http://www.tgm.sanayi.gov.tr/files/findik-raporu-2010-11012011150342.doc>.
- Anonim (2011a). <http://www.fiskobirlik.com.tr>
- Anonim (2011b). <http://www.adafindik.com/adafindik>
- Anonim, (2012). <http://hurarsiv.hurriyet.com.tr/goster/ShowNew.aspx?id=70079>
- Arriola, M. C., Porres, E., Cabrera, S., Zepeda, M., Rolz, C. (1988). Aflatoxin Fate During Alkaline Cooking of Corn for Tortilla Preparation, *J. Agr. Food Chem.*, 36(3), 530-533.
- Artık, N., Bayındırlı, L., Mert., İ., (2011). Karbonhidratlar, Mısır Şekeri ve Gıda Endüstrisinde Kullanımı, Türkiye Gıda ve İçecek Sanayii Federasyonu, Comart Yayıncılık, Ankara, 98s.
- Ayçiçek, H., Aksoy, A., Saygı, S. (2005). Determination of Aflatoxin Levels in Some Dairy and Food Products Which Consumed in Ankara, Turkey, *Food Control*, 16, 263-266.
- Ayres, J. L. (1977). Aflatoxins in Pecans: Problems and Solutions, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 54(3), 229-.230.
- Bada, J. C., León-Camacho, M., Prieto, M., Alanso, L. (2004). Characterization of Oils of Hazelnuts from Austrias, Spain, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 106, 294–300.
- Bakker, F.W., (1999). Grains and Grain Quality, *Agro-Processing Engineering*, The American Society of Agricultural Engineers.
- Barnes, J. M. (1970). Aflatoxin as A Health Hazard, *Journal of Applied Bacteriology*, 33, 285-298.
- Barnet, H. L. and Hunter B. B. (1997). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, Third Edition, Burgess Publishing Company, Minnesota.
- Başaran, P., Özcan, M. (2007). Occurence of Aflatoxins in Various Nuts Commercialized in Turkey, *Journal of Food Safety*, 29, 95-105.
- Bayman, P., Baker, J. L., Mahoney, N. E. (2002). Aspergillus on Tree Nuts: Incidence and Associations, *Mycopathologia*, 155, 161–169.
- Betina V. (1989). *Mycotoxins, Chemical, Biological and Environmental Aspects*, Elsevier, BN 0-444-98885-8, Amsterdam-Oxford-New York, Tokyo, 437p.

- Beuchat, L. R. (1992). Media for Detecting and Enumerating Yeasts and Moulds, *Int. J. Food Microbiol.*, 17, 145-158.
- Bircan C., Barringer S., Ulken U., Pehlivan U. (2008). Aflatoxin Levels in Dried Figs, Nuts and Paprika for Export from Turkey, *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1492-1498.
- Blesa, J., Soriano, J. M., Moltó, J. C., Marín, R., Mañes, J. (2003). Determination of Aflatoxins in Peanuts by Matrix Solid-Phase Dispersion and Liquid Chromatography, *1011(1-2)*, 49-54.
- Blesa, J., Soriano, J. M., Moltó, J. C., Mañes. (2004). Limited Survey for the Presence of Aflatoxins in Foods from Local Markets and Supermarkets in Valencia, Spain, *Food Additives and Contaminants*, 21(2), 165–171.
- Bommakanti, A. S., Waliyar, F. (1999). Importance of Aflatoxins in Human and Livestock Health. <http://www.icrisat.org/aflatoxin/health.asp>.
- Bottalico, A., and Perrone, G., (2002). Toxigenic *Fusarium* Species and Mycotoxins Associated with Head Blight in Small Grain in Europa, *Journal of Plant Pathology*, 108(7), 611-624.
- Bullerman, L. B., Schroeder, L. L., Park, K.Y. (1984). Formation and Control of Mycotoxins in Food, *Journal of Food Protection*, 47 (8), 637-646.
- Burrels, C., Dawson, A. M. (1982). ELISA Methodology, Variations in Technical Procedures, *Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science*, Martinus Nijhoff Publishers, 1-9.
- Campbell, B. C., Molyneux, R. J., Schatzki, T.F. (2003). Current Research on Reducing Pre- and Post-Harvest Aflatoxin Contamination of US Almond, Pistachio and Walnut, *Journal of Toxicology Toxin Reviews*, 22, 225–266.
- Cardwell, K. F. (1999). Mycotoxin Contamination in Foods Anti-Nutritional Factors, *Improving Human Nutrition Through Agriculture, The Role of International Agricultural Research*, 1-7.
- Cassel, E. K., Barao, S. M. , Carmel, D. K. (1989). Aflatoxicosis and Ruminants, *Fact Sheet*, 507, 3.
- CAST (2003). *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal and Human Systems*, Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa, USA, Printed in the United States of America, Task Force Report No. 139.

- Castro, M. F. P. M., Soares, L. M. V. And Furlani, R. P. Z. (1995). Mycoflora, Aflatoxigenic Species and Mycotoxins in Freshly Harvested Corn (*Zea mays* L.), A Preliminary Study, Rev. Microbiol., Sao Paulo, 26(4), 289-295.
- Castegnaro, M., Gregor, M. C. (1998). Carcinogenic Risk Assessment of Mycotoxins, Rev. Med. Vet., 671-678.
- Chu, S. S., Li, B., Liu, H. And Yu, W. (1999). Development of a Rapid and Sensitive Tandem Immunoaffinity Column Cleanup and HPLC for the Determination of Deoxynivalenol (DON) in Wheat and Corn. Mycotoxin Research at FRI (Food Research Institute) in 1999, Annual Report 41.
- Ciegler, A., Lillehoj, E. B., Peterson, R. E., Hall, H. H. (1966). Microbial Detoxification of Aflatoxin, Applied Microbiology, 4 (6), 934-939.
- Cole J. R., Milbra, A. S. (2003). Handbook of Secondary Fungal Metabolites, Academic Press, 1, 547-569, USA.
- Çelik, S. (2001). Karaciğer Karsinojeni Olan Aflatoksinlerin Biyokimyasal, Histolojik Etkileri ve Sağaltım Seçenekleri, J. Fac. Vet. Med. 20, 131-136.
- Çetin, Ö., Nazlı, B., Bostan, K., Alperden, İ. (2000). Depolamanın Çiğ İç Fındığın Kalitesi Üzerine Etkileri, İst. Vet. Fak. Der., 26(2), 413-419.
- Çoksöyler, N., Özkaya, S., Günal, S., Elden Taydaş, E., Atayeter, Y. (1993). Türkiye’de Üretim Bölgelerinde Depolanan Fındıklarda Fungal Enfeksiyon Düzeyinin Tespiti Üzerine Bir Araştırma, Kükem Dergisi, 16(1), 1-9.
- Çolakoğlu, M. ve Ünal, K. (1974). A Preliminary Work on the Aflatoxin Situation in Some Oil Bearing Crop Samples in Turkey, Proceeding of IV. International Congress of Food Science and Technology, 3, 309-313.
- Davis, N. D. and Diener, U. L. (1967). Growth and Aflatoxin Production by *Aspergillus parasiticus* from Various Carbon Sources, American Society for Microbiology, 16(1), 158-159.
- Deabes, M. and Al- Habib, R. (2011). Toxigenic Fungi and Aflatoxin Associated to Nuts in Saudi Arabia, Journal of American Science, 7(8), 658-665.
- Demir, C. (1996). Değişik Rutubet ve Sıcaklıklarda Depolanan Fındıkta Aflatoksin Oluşumunun Araştırılması, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Y. Lisans Tezi, 73s, Tekirdağ.
- Demir, C., Şimşek, O., Hamzaçebi, H. (2002). Fındıkta Küf Florası ve Aflatoksin Oluşumunun Araştırılması, Gıda, 27(4), 291-295.

- Demirer, M. A., Dinçer, B., Alperden, İ., Yalçın, S., Özer, E. (1989). Bazı Gıda Maddelerinde Mikoflora ve Mikotoksin Araştırmaları, A. O. Vet. Fak. Derg. 36 (1), 85-107.
- Denizel, T. Ve Köşker, Ö. (1972). A Mycological Survey of Various Kinds of Edible Nuts Commercially Available in the U.K. with Reference to Mycotoxins, University of Ankara Yearbook of Agriculture, 168-199 p.
- Detroy, R. W., Lillehol, E. B., Ciegler, A. (1971). Aflatoxin and Related Compounds, Chapter 1. Microbial Toxins. (Editors: Ciegler, A, Kadis, S., Ajl, S. L.).
- DG SANCO (2000). Report of A Mission Carried Out in Turkey from 4th to 8th September 2000 in order to Access the Facilities and Measures in Place for the Determination of Aflatoxin Levels in Hazelnut.
- Dollear, F. B., Mann, G. E., Codifer, L. P., Gardner, Jr. H. K., Koltun, Jr. S. P., Vix, H. L. E. (1968). Elimination of Aflatoxins from Peanut Meal, J. Am. Oil Chem. Soc. 45(12), 862-865.
- Dölekoğlu, T. (2002). Türkiye’de Fındık. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, Ankara. www.aeri.org.tr
- Eaton, D. L., Gallagher, E. P. (1994). Mechanism of Aflatoxin Carcinogenesis, Annu. Rev. Pharmacology Toxicology, 34, 135-172.
- European Commission Report, (1999). Opinion on the Relationship Between the Use of Plant Protection Products on Food Plants and the Occurrence of Mycotoxins in Foods, European Commission SCP/RESI/063, Belgium.
- FAO (1979). Prevention of Mycotoxins, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food And Nutrition Paper, 10 p, Rome.
- Fuller, G., Spooncer, W.W., King, A. D., Shade, J. and Mackey, B. (1977). Survey Of Aflatoxins in California Tree Nuts, Journal of the American Oil Chemists’ Society, 54(3), 231-234.
- Galvano, F., Galofaro, V., Ritienish, A., Bognanno, M., De Angelis, A., Galvano, G. (2001). Survey of The Occurrence of Aflatoxin M₁ in Dairy Products Marketed in Italy: Second Year of Observation, Food. Add. Cont., 18(7), 644-646.
- GIBSA (1999). Grain Fungal Diseases and Mycotoxin Reference, Grain Inspection, Packers and Stockyards Administration Technical Services Division, Kansas, 54 p.

- Gillespie, J., Schwarz, P., Mostrom, M. S., Tacke, B., Dong, Y. And Munn, B. (2003). Update on USWBSI DON Diagnostic Laboratories, National Fusarium Head Blight Forum Proceedings, Food Safety, Toxicology and Utilization, 186-190 p.
- Gravesen, S., Nielsen, P. A., Iversen, R., Nielsen, K. F. (1999). Human Health Effects of Airborne Mycotoxin Exposure, *Mycopathologia*, 145(1), 43-56.
- Groopman, J. D. and Kensler, T.W. (1988). Aflatoxin Exposure in Human Populations: Measurements and Relationship to Cancer, *CRC Critical Review in Toxicology*, 19(2), 113-145.
- Günşen, U. and Büyükyörük, I. (2002). Aflatoxins in Retail Food Products in Bursa, Turkey, *Veterinary and Human Toxicology*, 44(5), 289–290.
- Güray, Ö. Ve Vural, N. (1968). Mikotoksinlerle Meydana Gelen Besin Zehirlenmeleri Münasebetiyle Aflatoksinler Üzerine Bir Araştırma, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 21, 487-492.
- Gürses, M. (1997). Farklı Depolama Şartlarının İç Fındıkta Aflatoksin Oluşumuna Etkileri, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Y.Lisans Tezi*, Ankara, 38s.
- Gürses, M. (2006). Mycoflora and Aflatoxin Content of Hazelnuts, Walnuts, Peanuts, Almonds and Roasted Chickpeas (Leblebi) Sold in Turkey, *J. of Food Properties*, 9, 39-399.
- Gürses, M., Erdoğan, A., Sert, S. (2003). Erzurum Piyasasında Satılan Yerfıstığı, Antep Fıstığı ve Bademlerin Aflatoksin Yönünden İncelenmesi. *Gıda*. 28(6), 607–610.
- Gürsoy, N., (2008). Çiğ ve Kavrulmuş Fındıklardaki Mikoflora ve Aflatoksin Bulaşıklıklarının Değerlendirilmesi, *Türkiye 10. Gıda Kongresi*; 21-23 Mayıs, Erzurum.
- Harris, B., Staples C. R. (1992). The Problems of Mycotoxins in Dairy Cattle Rations, *Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida*.
- Heathcote, J. G., Hibbert, J. R. (1978). *Aflatoxin Chemical and Biological Aspects*, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, The Netherlands, 212 p.
- Henry, S. H., Bosch, F. X., Troxell, T. C. and Bolger, P.M. (1999). Reducing Liver Cancer- Global Control of Aflatoxin, *Science*, 286, 2453-2454.
- Hepkan, D. (2003). The Importance of Mycotoxins and a Brief History of Mycotoxin Studies in Turkey, *The Bulletin İstanbul Tech. Uni.*, 54(4), 18-27.
- Hussein, H. S., Brasel, J. M. (2001). Toxicity, Metabolism and Impact of Mycotoxins on Humans and Animals, *Toxicology*, 167, 101–134.

- Hsu, I. C., Metcalf, R. A., Sun, T., Welsh J. A., Wang, N. J., Harris, C. C. (1991). Mutational Hotspot in the P53 Gene in Human Hepatocellular Carcinomas, *Nature*, 350, 427-428.
- IARC (1993). Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins, in IARC Monographs on The Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 56, 489–521, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- Imperato, R., Campone L., Piccinelli A., Veneziano A., Rastrelli L. (2011). Survey of Aflatoxins and Ochratoxin A Contamination in Food Products Imported in Italy, *Food Control*, 22, 1905- 1910.
- Ito, Y., Peterson, S. W., Wicklow, D. T., Goto, T. (2001). *Aspergillus pseudotamarii*, A New Aflatoxin Producing Species in *Aspergillus* Section Flavi, *Mycol. Res.*, 105(2), 233-239.
- Jimenez, M., Mateo, R., Querol, A., Huerta, T., Hernandez, E. (1991). Mycotoxins and Mycotoxigenic Moulds in Nuts and Sunflower Seeds for Human Consumption, *Mycopathologia*, 115(2), 121-7.
- Karakuş, G. (2006). Türkiye Fındık İhracat Arz Fonksiyonu ve 1980–2004 Dönemi için Bir Uygulama, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, 88 S.
- Karaman, S. ve Acar, B. (2006). Uluslar Arası Gıda Ürünleri Ticareti ve Aflatoksin Yasal Düzenlemeleri, *Doğuş Üniversitesi Dergisi*, 7(2), 190-197.
- Kaya, S., Pirinçci İ., Bilgili, A. (2002). Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji Mikotoksinler. Ed.: Kaya, S., İ. Pirinçci, A. Bilgili, 537-574.
- Klich, M. A., Mullaney, E. J., Daly, C. B., Cary, J. W. (2000). Molecular and Physiological Aspects of Aflatoxin and Sterigmatocystin Biosynthesis by *Aspergillus tamarii* and *Aspergillus ochraceoroseus*, *Appl. Microbiol. Biotech.*, 53(5), 605-609.
- Kos, G., Krska, R. (2006). Fact Sheets on Analytical Methods, 7. Aflatoxins. European Mycotoxin Awareness Network.
- Kulaç, A. (1997). Türk Fındık Piyasası ve Türk Fındığının Dış Talebinin Tahmini, Yüksek Lisans Tezi, Trabzon, 101 s.
- Leong, Y.-H., Ismail, N., Latif, A., A., Ahmad, R. (2010). Aflatoxin Occurrence in Nuts and Commercial Nutty Products in Malaysia, *Food Control*, 21, 334-338.

- Liu, S., Willet, W., Stampfer, M. (2000) A Prospective Study of Dietary Glycemic Load, Carbohydrate Intake and Risk of Coronary Heart Disease in US Women, *Am. J. Clin Nutr.*, 71, 1455-1461.
- Mann, R., Rehm, H. J. (1976). Degradation Products from Aflatoxin B₁ by *Corynebacterium rubrum*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* and *Mucor ambiguous*, *Eur. J. Appl. Microbiol.*, 2(4), 297–306.
- Moss, M. O. (2002). Risk Assessment for Aflatoxins in Foodstuffs, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 50, 137–142.
- Özdemir, M. (1997). Türk Fındık Çeşitlerinin Özelliklerinin Kalite Açısından Değerlendirilmesi, *Gıda Teknolojisi* 2(10), 46–52.
- Özdemir, F., Topuz, A., Doğan, Ü., Karkacier, U. (1998). Fındık Çeşitlerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri, *Gıda* 23(1), 37-41.
- Özer, H. (2009). Fındıklara Uygulanan Fiziksel ve Isıl Süreçlerde Aflatoksinler Üzerinde Etkisi, Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 119s.
- Özkaya, H. (1988). Analitik Gıda Kalite Kontrolü, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. 108 s., Ankara.
- Özmenteşe, N. (2002). İstanbul Piyasasından Sağlanan Süt ve Süt Ürünlerinin Aflatoksin B₁ ve M₁ İçerikleri Yönünden Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Araştırılması, Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 134.
- Pala, M., Açkurt, F., Löker, M., Yıldız, M., Ömeroğlu, S. (1996). Fındık Çeşitlerinin Bileşimi ve Beslenme Fizyolojisi Açısından Değerlendirilmesi, *Tr. Journal of Agriculture and Forestry*, 20, 43-48.
- Palme, A. E., Vendramin, G. G. (2002). Chloroplast DNA Variation, Postglacial Recolonization and Hybridization in Hazel, *Corylus avellana*, *Molecular Ecology*, 11(9), 1769-1779.
- Park, J. J., Smalley, E. B. and Chu, F.S. (1996). Natural Occurrence of *Fusarium* Mycotoxins in Field Samples from the 1992 Wisconsin Corn Crop, *Applied and Environmental Microbiology*, 62(5), 1642-1648.
- Pasteiner, S. (1997). Coping with Mycotoxin Contaminated Feedstuffs, *Feed International*, May, 12-16 p.

- Pehlivanoglu, S. (2006). "Kalp ve Damar Hastalıklarından Korunmada Fındığın Etkisi", 3. Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayıncılık, 584-586.
- Peterson, S. W., Ito, Y., Horn, B. W. and Goto, T. (2001). *Aspergillus bombycis*, A New Aflatoxigenic Species and Genetic Variation in Its Sibling Species, *A. nomius*, *Mycologia*, 93(4), 689-703.
- Pitt, J.I. (2000). A Laboratory Guide to Common Penicillium Species, Food Science, Australia, *Mycologia*, 93, 689–703.
- Price, R. L., Jorgensen, K. V. (1985). Effects of Processing on Aflatoxin Levels and on Mutagenic Potential of Tortillas Made from Naturally Contaminated Corn, *J. Food Sci.*, 50(2), 347-349.
- Prudente, A. D., King, J. M. (2002). Efficacy and Safety Evaluation on Ozonation to Degrade Aflatoxin in Corn. *J. Food Sci.*, 67(8), 2866–2872.
- Raper, K.B. and Fennell, D.I. (1977). *The Genus Aspergillus*. Robert E. Krieger Publishing Company Huntington, New York, 686 p.
- Reddy, M. J., Shetty, H. S. (1992). Role of Seed Lipids in *Aspergillus parasiticus* Growth and Aflatoxin Production, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 59(2), 177 -181.
- Reinhold L. and Reinhardt K. (2011). Mycotoxins in Foods in Lower Saxony (Germany): Results of Official Control Analyses Performed in 2009, *Mycotox. Res.* 27, 137–143.
- Richardson, D. G. (1997). The Health Benefits of Eating Hazelnuts: Implications for Blood Lipid Profiles, Coronary Heart Disease and Cancer Risks, *Acta Horticulturae*, 415, 295–297.
- Quillien, J.F. (2002). Mycotoxins. <http://www.fevia.be/pdf/flair%20flow%20one%20pages/synthese/mycotoxins.pdf>.
- Sabino, M., Milanez, T. V., Lamardo, L. C. A., Navas, S. A., Stofer, M. and Garcia, C. B. (1997). Evaluation of the Efficiency of Two Immunoassay Kits for Aflatoxin B₁ in Corn, Fish Feed, Peanuts and Its Products. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 17(2):107-110.
- Saldamlı, İ., Sağlam, F. (1998). Vitaminler ve Mineraller, *Gıda Kimyası*, 337–398, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.
- Sarıyar, L. (1998). Bazı Küflerin Fındıkta Lipolitik Aktivitesinin İncelenmesi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Y. Lisans Tezi, 107 s., İstanbul.

- Samson, R. A. and Pitt, I. J., (1990). Modern Concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* Classification, NATO ASI Series, Plenum Press, New York and London, 185,478p.
- Samson, R. A, Stolk, A. C.,Hadlock, R., (1976). Revision of The Subsection Fasciculata of *Penicillium* and Some Allied Species, Stud. Mycol. Baarn, 11, 1-47.
- Sanchis, V., Quilez, M. L., Viladrich, R., Vinas, I., Canela, R. (1988). Hazelnuts as Possible Substrate for Aflatoxin Production, Journal Food Protection, 51(4), 289-292.
- Shantha, T. (2000). Fungal Degradation of Aflatoxin B₁, Nat. Toxins, 7(5), 175– 178.
- Sharma, R. P., Salunkhe, D. K. (1991). Mycotoxins and Phytotoxins, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Sobutay, T. (2006). Fındık Sektör Araştırması, İstanbul Ticaret Odası Dış Ticaret Şubesi Uygulama Servisi, 6-7.
- Stoloff, L. (1980). Aflatoxin M₁ in Perspective, J. Food Prot., 43, 226–230.
- Stroka, J., Anklam, E., Jörissen, U., Gilbert, J. (2000). Immunoaffinity Column Cleanup With Liquid Chromatography Using Post-Column Bromination for Determination of Aflatoxins in Peanuts Butter, Pistachio Paste and Paprika Powder, Collaborative Study, Journal of AOAC International, 83(2), 320-340.
- Stubblefield, R. D., Shannon, G. M. (1974). Aflatoxin M₁ Analysis in Dairy Products and Distribution in Dairy Foods Made from Artificially Contaminated Milk, J. Assoc. Of Anal. Chem., 57(4), 847-851.
- Sweeney, M. J., Dobson, A. D. W. (1998). Mycotoxin Production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* Species, International Journal of Food Microbiology, 43, 141–158.
- Şahin, I. ve Kalyoncuoğlu, M. E. (1994). Erkenntnisse Über Die Schimmelpilze in Der Mikroflora Von Hasel-Walnüssen und Sonnen-Blumenkernen. Chem., Mikrobiol., Technol. Lebensm., 16, 85-92.
- Şimşek, O., Arici, M., Demir, C. (2002). Mycoflora of Hazelnut (*Corylus avellana* L.) and Aflatoxin Content in Hazelnut Kernels Artificially Infected with *Aspergillus parasiticus*, Food Science and Technology, 46(3), 194-196.
- Temiz, A., ve Özkaya, S. (2003). Aflatoksinler: Kimyasal Yapıları, Toksisiteleri ve Detoksifikasyonları, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 01, 1-21.

- TGK (2009). Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2008/26) Resmi Gazete Tarihi: 16 Şubat 2009 - Sayı: 27143.
- Trucksess, M. W., (1998). Mycotoxins, J. AOAC Intl., 81, 128-137.
- TÜBİTAK MAM (2005). Fındıklarda Aflatoxin Oluşumuna Etki Eden Faktörlerin ve Önleyici Tedbirlerin Belirlenmesi Projesi Sonuç Raporu, Proje No:5024143.
- TÜİK (2010). http://www.tuik.gov.tr/veribilgi.do?tb_id=45&ust_id=13
- Vural, A., Çakmak, Ö., Erkan, M. E., Aydın, A. (2005). İstanbul Bölgesinde Tüketime Sunulan Fındık Ezmelerinde Aflatoxin Düzeylerinin Belirlenmesi, II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildiriler Kitabı, 23-24 Mayıs,178.
- Weindenböner, M. (2001) .Encyclopedia of Food Mycotxins, Berlin Heidelberg, Springer.
- Williams, K. R., Dutton, M. F. (1988). Destruction of Aflatoxin During The Production of Hydrolysed Vegetable Protein, J. Food Prot., 51(11), 887–891.
- Whitlow, L.W., Hagler, W. M. (2001). Mycotoxin Contamination of Feedstuff – An Additional Stres Factor for Dairy Cattle, 25. Symposium Sur Les Bovins Laitiers Held in St-Hyacinthe, Quebec.
- WHO (1979). Mycotoxins, Genova, World Health Organization, 1-127.
- Yağmur, C. ve Özer, A. (2006). “Fındığın İnsan Beslenmesi ve Sağlığındaki Önemi”, 3.Milli Fındık Şurası Tebliğler Kitabı, Uğur Eğitim Hizmetleri ve Yayıncılık, 602-607.
- Yu, W., Yu, F. Y., Undersander, D. And Chu, F. S. (1999). Immunoassays of Selected Mycotoxins in Hay, Silage and Mixed Feed, Food and Agricultural Immunology, 11(4), 307-319.
- Yu, J., Mohawed, S. M., Bhatnager, D., Cleveland, T. E. (2003). Substrate-Induced Lipase Gene Expression and Aflatoxin Production *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus*, Journal of Applied Microbiology, 95(6), 1334.
- Yu, J., Chang, P. K., Ehrlich, K. C., Cary, J. W., Bhatnagar, D., Cleveland, T. E., Payne, G. A., Linz, J. E., Woloshuk, C. P., Bennet, J. W. (2004). Clustered Pathway Genes in Aflatoxin Biosynthesis, Appl. Environ. Microbiol, 70(3), 1253–12.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

| | |
|-----------------------|--|
| Adı Soyadı: | Zehra Seba Keskin |
| Doğum Yeri ve Tarihi: | Sivas, 27.03.1980 |
| Medeni Hali: | Evli |
| Yabancı Dil: | İngilizce |
| Ehliyet: | B |
| Mesleği: | Öğretim Görevlisi |
| İletişim Adresi: | Ece Mah. 38/5 Sok. Azra Apt. Kat:4 No:7 SİVAS |
| E-posta Adresi: | sabakeskin@gmail.com |

Eğitim Durumu

| | |
|---------------|--|
| Lise | Kongre Lisesi (Yabancı dil ağırlıklı), 1998. |
| Lisans | Cumhuriyet Üniversitesi, 2002. |
| Yüksek Lisans | Cumhuriyet Üniversitesi, 2009- |

İş Tecrübesi

| |
|--|
| Genç Bilgi A.Ş. Kimya Mühendisi 2006-2011 |
| C.Ü. Yıldızeli Meslek Yüksek Okulu Gıda Teknolojisi Bölümü Öğretim Görevlisi 2011- |