

**YAÖREMİZDE SATILAN ÇEŞİTLİ GIDA
MADDELERİNDE FUNGUS VE AFLATOKSİN
PREVELANSI**

Bio. Selahattin ÇELEBİ

**Uzmanlık Tezi
Diş Hekimliği Fakültesi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Erzurum-1983
Her Hakkı Saklıdır.**

Başış Tarihi: 17/9/1983
Tıp Fakültesi
başıdır.

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÖREMİZDE SATILAN ÇEŞİTLİ GIDA MADDELERİNDE
FUNGUS VE AFLATOKSİN PREVELANSI

Bio. Selahattin ÇELEBİ

Atatürk Üniversitesi
Kütüphanesi
Dmb. No: 58760

Uzmanlık Tezi
ERZURUM - 1983

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa No:</u>
GİRİŞ VE AMAÇ	1 - 2
GENEL BİLGİLER	3 - 12
GEREÇLER	13 - 14
YÖNTEM	15 - 18
BULGULAR	19 - 24
TARTIŞMA	25 - 34
SONUÇ	35 - 37
ÖZET	38 - 39
KAYNAKLAR	40 - 44

G İ R İ Ő V E A M A Ő

Temel besin maddelerimizden pek çoğunun üzerinde, zamanla ve çeşitli çevre koşullarının yardımıyla, kahverengi, siyah, mavi, yeşil, sarı gibi renklerde küflenmeler meydana gelmesi sıklıkla karşılaştığımız bir durumdur. Bu küflenmenin, besinler üzerine yerleşip çoğalan değişik türde mantarlardan ileri geldiğini hemen hepimiz biliriz. Mantarlar besinler üzerinde bu şekilde küf oluşturarak onların dış görünüşünü ve tadını bozmakla kalmaz, aynı zamanda çeşitli toksinlerde salgılayarak insan ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara yol açarlar.

İnsan ve hayvan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri yanında, küflerle bozulmuş gıda maddelerinin tüketilmemesi veya bunların dış satımlarında güçlüklerin ortaya çıkması ekonomimizi de önemli ölçüde zarara sokmaktadır. Besin maddeleri üzerindeki küflü kısımlar kesilip atılmak suretiyle mantarlar oradan uzaklaştırılabilir ve besin maddesinin dış görünüşü düzeltilebilir. Fakat çoğu kez derinlere kadar nüfuz etmiş olan toksinden arındırılması mümkün olmaz.

Bilim dilinde m i k o t o k s i n diye isimlendirilen ve bu mantarlarda salgılanan metabolitler çok çeşitli olabilmektedirler. Bunların arasında bulunan a f l a t o k s i n l e r'in deney hayvanlarında karsinojen etkilerinin saptanması aflatoksinler üzerine araştırmaların derinleştirilmesi gereğini ortaya koymuştur. Bu cümleden olarak yapılan gözlemlerde de, insanlarda, deri nekrozları, kanamalar, kemik iliği yıkımı ve lökopeni gibi bazı klinik tablolarda rolü olabileceği anlaşılmıştır.

İnsan sağlığı ve ũlke ekonomis ile doğrudan ilişkili olan bu konu ũzerinde son yıllarda yurdumuzun değişik bŕlge-lerinde çok sayıda araştırmalar yapılmış ve konunun ŕnemi vurgulanmak istenmiştir. Biz de; daha ŕnce bŕyle bir çalışma yapılmayan yŕremizde, Erzurum ve çevresinde satılan çeşitli gıda maddelerinde a f l a t o k s i n ve a f l a t o k - s i n s a l g ı l a y a b i l e n m a n t a r bulunma ora- nının durumunu araştırmak amacıyla bu çalışmayı planladık.

GENEL BİLGİLER

Mikotoksinler ve bunların insan sağlığına olan zararlı etkileri çok eskiden beri tahmin edilmesine rağmen uzun süre üzerinde durulmamıştır. Ancak ikinci dünya savaşı sırasında, Rusyada uzun süre depolarda beklemiş ve küflenmiş buğdayların yenmesi sonucu ortaya çıkan ve deride nekroz, kanama, kemik iliği işlevinin önlenmesi, lökopeni gibi belirtilerle seyreden klinik tabloların aflatoksinlere atfedilmesinden sonra araştırmalara konu olmuştur⁽¹⁾. Bu olaydan sonra, müşahade edilen ve etiyolojisi tam olarak belirlenemeyen bir çok hastalıkta aflatoksinlerin rolü olduğu ve bu hastalıkların funguslarla kontamine olmuş gıda ve yemlerin yenilmesi sonucu meydana geldiği gösterilmiştir⁽²⁻⁵⁾.

Bu arada 1960 yılında İngiltere'deki bir tavuk çiftliğinde hayvanlar arasında aniden ortaya çıkıp 100.000 hindi yavrusu ve 10.000 ördek yavrusunun ölümü ile sonuçlanan olayın incelenmesinde bunun bir enfeksiyon hastalığı olmayıp bir zehirlenme olduğuna ve kitle halinde ölümün bu hayvanların yemlerine katılan ve fungus ile kontamine olduğu anlaşılan yer fıstığı küsbesinden ileri geldiği saptanmıştır. Yapılan mikolojik araştırmalarda da epidemiye yol açan fungusun *Aspergillus flavus* olduğu ve bu mikro organizmin üreme esnasında bulunduğu ortama metabolizma ürünü olarak aflatoksin isminde bir toksin salgıladığı anlaşılmıştır⁽²⁻⁵⁾.

Aflatoksinlerin hayvanlar üzerindeki fizyopatolojik etkilerinin ortaya konulmasından sonra bunun insanlar için de zararlı etken olabileceği düşünülerek, çalışmalara hız verilmiş ve özellik-

le mantarlarla bulaşlı besin yeme alışkanlığı olan tropikal ülkeler başta olmak üzere pek çok ülkede etiyojisi belirlenemeyen hastalıklar, aflatoksinle ilişki yönünden incelenilmeye başlanmıştır. Bu cümleden olarak Tayland'lı çocuklarda görülen ve klinik olarak; ateş, lenfositöz, ishal, kusma, konvulsiyon ile karakterize olup, histopatolojik incelemede karaciğer, kalp ve böbreklerde yağlanma; beyin ödemi ve sinir dejenerasyonu gösteren R e y e s e n d r o m u nun, Macacus türü maymunlarda aflatoksinlerin sebep olduğu tabloya çok benzediğinin gözlenmesi üzerine bunun da aflatoksinlerden ileri gelebileceği düşünülmüştür. Nitekim, Reye sendromu saptanan Tayland'lı çocukların karaciğer ve beyinlerinde bol miktarda aflatoksin bulunduğu saptanmıştır⁽⁶⁻⁹⁾. Aflatoksinlerin bu toksik etkilerinin bu kadarla kalmayıp, çeşitli hayvanlarda teratojenik ve insan lökositlerinde de mütajenik etki yapabildikleri de tesbit edilmiştir. Konunun kesin açıklığa kavuşturulması için bir taraftan çok sayıda çeşitli deney hayvanları üzerinde laboratuvar çalışmaları, bir taraftanda insanlar üzerinde epidemiyolojik incelemeler yapılmıştır. Sonuçta bu mikotoksinlerin sıçan, ördek ve bazı balıklarda; karaciğer, mide, kolon, tükrük bezi, böbrek, akciğer ve deri karsinomuna, ayrıca Aspergillusların bir başka metaboliti olan s t e r i g m a m i s i n' in sıçanlarda hepatomalara, Penisillium türü mantarların salgıladığı l u t e o - s k y r i n, c y c l o c h l o r o t i n, p a t u l i n, r u b o l o s i n gibi bazı toksinlerin çeşitli deney hayvanlarında hepatoma ve doku sarkomlarına yol açtıkları gözlenmiştir^(1,10).

İnsanlarda bu tip deneyler yapılamadığından aflatoksinlerin insanlar üzerinde kanserojen etki yapıp yapmadığı direkt olarak

ortaya konulamamıştır. Ancak aflatoksinlerle kontamine besinlerin fazla tüketildiği Afrika, Hindistan, Güney Doğu Asya gibi bölge hakkında karaciğer kanserlerinin sıklıkla görülmesi bunların eti-yolojilerinde aflatoksinlerin rolü olabileceğini düşündürmüştür^(9, 11-15).

İnsan ve hayvan sağlığını olumsuz yönde bu derece etkileyen aflatoksinlerin zararları sadece bu alanda kalmayıp; yer fıstığı, buğday, çavdar, soya fasulyesi, mısır, pirinç, fındık, ceviz, un, süt, peynir gibi gıda maddelerinde bunların üretiminden tüketimine kadar herhangi bir safhada(tarlada, hasat sırasında, işlem sırasında veya depolanırken) bu tüketim maddelerine bulaşarak hem bu ürünlerin dış görünüşlerini ve hemde kalitelerini bozmak suretiyle işe yaramaz hale getirmektedir. Bu durum ise ürünleri ihraç eden, ekonomisi tarıma dayalı ülkelerin ekonomilerine büyük zararlar vermektedir. Nitekim; aflatoksinlerin kanser yapıcı etkileri saptandıktan sonra çeşitli ülkeler ve FAO, WHO, FDA gibi kuruluşlar gıda maddelerinde bu tip toksinlerin ne miktardan fazla bulunmaması gerektiğini standartlarla belirlemişler ve bu standartlara uymayan tarım ürünlerinin tüketilmemesini ve ithal edilmemesini tavsiye ederek alıcı ülkeleri uyarmışlardır.

Çeşitli hayvanlarda ve maymunlarda öldürücü dozu kilo başına 0.3-17.9 mg olarak belirlenen aflatoksinlerin insanlar üzerine zararlı olabileceği doz kesin olarak saptanamamıştır. Buna rağmen 1966 yılında FAO ve WHO eksperler komitesi besinlerdeki aflatoksin yoğunluğunun 30 μ g/kg'ı geçmemesi gerektiği şeklinde bir karar almıştır. FDA ise daha ihtiyatlı davranarak bu sınırı 20 ppb olarak belirlemiştir. Son yıllarda bu değerin 15 μ g/kg'a indiril-

mesi teklif edilmektedir⁽¹⁶⁻¹⁹⁾.

Ülkemiz aflatoksin sorunuyla ilk kez 1967 yılında karşılaşmıştır. Bu tarihte Kanada'ya ihraç ettiğimiz 10 ton iç fındık "Department of National Health and Welfare,, kuruluşuna bağlı güm-rük kontrol laboratuvarlarınının 21 Haziran 1967 tarihli raporu ile daha önceden belirlenen standartı aşan miktarda aflatoksin ihtiva ettiği gerekçesiyle geri gönderilmiştir. Bu olaydan dört yıl sonra(1971'de) bu defa Amerika Birleşik Devletlerine satılan 45 parti antep fıstığınının büyük bir kısmı aynı gerekçelerle kabul edil-memiştir. 1973 yılında ise Danimarka'ya ihraç edilen kuru incirde $938 \mu\text{g/kg}$ gibi standart limitin çok üzerindeki miktarda aflatoksin tesbit edilince hem mal iade edilmiş, hemde gerekli önlemler alınmazsa ülkemizle bir daha gıda alışverişi yapamayacağı ilgili-lere bildirilmiştir⁽²⁰⁻²⁶⁾.

Bütün bu olaylar gözönüne alınırsa gerek halk sağlığı açı-sından ve gerekse ekonomisi tarıma dayalı ülkelerin geleneksel ih-raç ürünleri açısından aflatoksinler, üzerinde önemle durulması ge-reken konulardandır.

Aflatoksinlerin başta *Aspergillus flavus* olmak üzere bazı mantarlarca salgılanan toksik bir ürün olduğunu konumuzun başında belirtmiştik. Bu nedenle aflatoksinlerin yapısına, türevlerine ve fizyopatolojik etkilerine geçmeden önce bunları oluşturan mantar-lar(özellikle *Aspergillus flavus*) hakkında kısa bir genel bilgi vermek yerinde olacaktır.

*Aspergillus*lar yüksek funguslar grubundan olup, saprofit olarak dünyanın her tarafında yaygın halde bulunurlar. Protein ve karbonhidratlardan zengin ortamlarda rahatlıkla ürerler. Hastalık

materyellerinden yapılan kültürlerde sıklıkla üretilmelerine karşın bu durumda primer etiyolojik ajan olmayıp bir kültür kontaminantı olarak karşımıza çıkar. Bununla birlikte nadiren de olsa hastalık etkeni olabilirler.

Mikroorganizmin kültürü için genellikle Saboraud'un glikozlu yatık agarı kullanılır. Burada oda ısısında üç gün içinde başlangıçta beyaz flamantoz yapıda, daha sonra sporlar meydana geldikçe sarı-yeşil, koyu yeşil renkte kadife gibi veya pamuk tarzında koloniler yapar⁽²⁷⁻²⁹⁾.

Mikroskobik olarak; tüm *Aspergillus* türleri septumlu miselyumlardan ve buradaki taban hücrelerinden çıkan dalsız ve septumsuz konidioforlar ile karakteristik görünüm arzederler. Konidioforun uç kısmı şişkince olup, oval veya yuvarlak vesikül halindedir. Bu keselerin yüzeyi tam veya kısmen şişe biçiminde sterigmata ile kaplı olup, bu sterigmatalardan yuvarlak konidia dizileri çıkar. Karakteristik spor başları en iyi şekilde kültür tüpünü mikroskop tablası üzerine yatırarak mikroskopun az büyüten objektifi ile yatık kısmın kenarlarının incelenmesiyle görülür. Ayrıca aerial üreme olan kısımdan alınacak küçük bir parça lam-lamel arasında laktofenol katon blue ile boyanarak ta inceleme yapılabilir. Bu şekildeki incelemede tipik ve sterigmata taşıyan şişkin konidioforlar kolayca tanınabilir, fakat genellikle uzun ve fragil olan spor zincirler kırılır ve sadece bir kaç spor sterigmataya yapışmış şekilde görülür^(25,27-29).

*Aspergillus*lar buğday, pirinç, mısır, soya fasulyesi gibi tohumlar üzerinde ürerlerken çeşitli mikotoksinler ve bu arada aflatoksin yaparlar⁽³⁰⁻³³⁾. Fungusun gelişmesi esnasında yapılan bu toksinler ortama geçtiği gibi miçelyumlar ve sporlarda da bulunurlar⁽³²⁾. Sporlar; böcek, sinek, hava akımı vb. yollarla bir yerden

bir yere taşınır ve hububatı infekte ve kontamine edebilirler. Aspergillusların toksin yapmaları için, gerekli pH derecesi, tür- lere göre değişik olup genellikle 3-4.5 arasındadır⁽³²⁾. Buğday ve diğer karbonhidratlı maddelerin fermantasyonu pH'nın düşmesine ve fungusların çoğalıp toksin yapmaları için uygun bir ortam oluş- masına yol açar.

AFLATOKSİN; YAPISI VE TÜREVLERİ

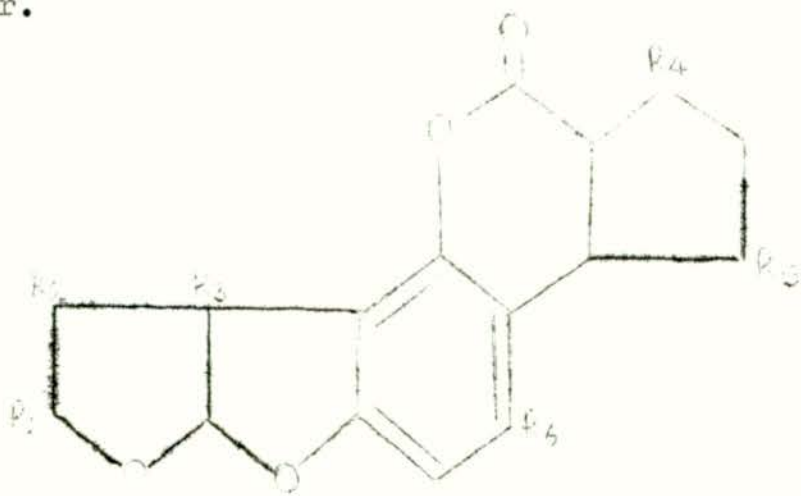
Aflatoksin; küf grubu bazı mantarların toksik metabolitle- ri olan ve üreme esnasında meydana gelen mikotoksinlerden birisi- dir. İlk defa Aspergillus flavus'un bulunduğu bir ortamda bu tok- sine rastlanıldığından başlangıçta bu toksini sadece A.flavus'un salgıladığı zannedilmiş ve bu nedenle de Aspergillus'un "A" harfi ve flavus'un "fla" hecesi alınarak ve birde toksin kelimesi ekle- nerek "Aflatoksin" adı verilmiştir. Fakat daha sonraları bu toksin- nin Aspergillus'lardan başka penicillium ve bazı Rhizopus türleri tarafından da salgılandığı ortaya konulmuştur. Bu gün için aflatok- sin salgıladığı bilinen mantarlar şunlardır : A. f l a v u s v a r c o l u m n a r i s, A. o r y z a e, A. p a r a s i t i c u s , A. n i g e r , A. w e n t i, A. r u b e r, A. o s t i a m u s , A. o c a r c e i n, P. p u b e r i l u m, P. v a r i a b l e , P. f r e c u e n t a n s, P. c i t r u n u m⁽²⁷⁾.

Aflatoksinler kimyasal yapı olarak dihidrofuran konfiguras- yununda ve kumarin grubuna dahildirler⁽²⁷⁾.

Yapılan kromatografik tetkiklerde önceleri aflatoksinlerin 4 komponente sahip olduğu ve ultraviyole ışığı altında bunlardan ikisinin mavi renkte, diğer ikisininde yeşil renkte floresans ver-

diği görülmüştür. Mavi floresans verenlere b l u e kelimesinin baş harfi alınarak a f l a t o k s i n B₁ ve a f l a t o k s i n B₂, diğerlerinede g r e e n kelimesinden dolayı a f l a t o k s i n G₁ ve a f l a t o k s i n G₂ denilmiştir^(1,27). Daha sonraları B₁ ihtiva eden yemlerle beslenen farelerin sütlerinden hazırlanan ekstratların kromatografik analizlerinde aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂ den farklı ve onlardan daha küçük Rf değerleri ve fakat toksik özellikleri ve mavi floresans vermesi yönünden aflatoksin B ye benzeyen iki ayrı komponent daha elde edilmiştir. İlk defa süttten elde edildiği için de bunlara a f l a t o k s i n M₁ ve a f l a t o k s i n M₂ denilmiştir. Bu son iki komponentin, aflatoksin B₁ in hayvan vücudunda laktasyon döneminde sütle itrah edilen başka bir toksik şekli olduğu sanılmaktadır^(34,35).

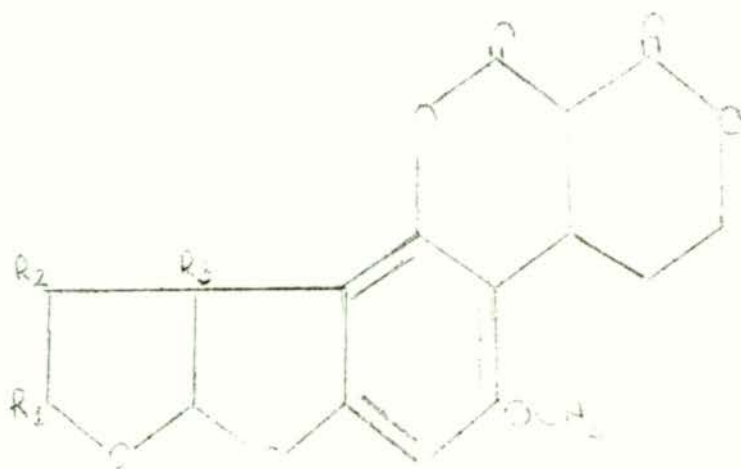
Son yıllarda A.flavustan izole edilen ve ördek yavrularında diğer aflatoksinlerden daha az toksik etki yapan ve B₂ ve G₂ nin 2-Hidroksi türevleri olan B_{2a} ve G_{2a} komponentleri daha elde edilmiştir. Bu duruma göre halen 12 aflatoksin komponenti bilinmekte olup, bunların açık ve kapalı kimyasal formülleri aşağıda verildiği gibidir.



Aflatoksin B₁

Aflatoksin B₁ in derivatları

Aflatoksin	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
B ₁	H	H	H	=O	H	OCH ₃
B ₂	H ₂	H ₂	H	=O	H	OCH ₃
B _{2a}	HOH	H ₂	H	=O	H	OCH ₃
M ₁	H	H	OH	=O	H	OCH ₃
M ₂	H ₂	H ₂	OH	=O	H	OCH ₃
P ₁	H	H	H	=O	H	OH
Q ₁	H	H	H	=O	OH	OCH ₃
R ₀	H	H	H	=OH	H	OCH ₃



Aflatoksin G₁

Aflatoksin G₁ in derivatları

Aflatoksin	R ₁	R ₂	R ₃
G ₁	H	H	H
G ₂	H ₂	H ₂	H
G _{2a}	OH	H ₂	H
G _{m1}	H	H	OH

Aflatoksinlerin en önemli komponenti olan aflatoksin B₁ bir cumarin türevi olup, bu yapısı ile tabii olarak farmakolojik aktivite gösteren bileşikler arasına girer. G₁ komponenti kimyasal yapısına göre B₁ ile eşdeğerdir. Aflatoksin B₂ ve G₂ de B₁ ve G₁ in dihidro bileşikleridir. Toksisiteleri molekül yapılarına göre değişmekte olan bu komponentler arasında en toksik olanı aflatoksin B₁, en az toksik etki gösterenleri de B_{2a} ve G_{2a} dır. B₂ nin toksitesi B₁ in 1/4 ü kadardır.

Radyoaktif maddelerle işaretlenmiş aflatoksinler ile yapılan hayvan deneylerinden alınan sonuçlara göre vücuda giren toksinin büyük bir kısmı(%90'a yakın) dışkı ve idrarla dışarı atılmakta, yüzde 5-10 kadarı karaciğerde toplanmakta, geri kalan kısmı da karbondioksit halinde metabolize olmaktadır. Aflatoksinli yemlerle beslenen ineklerin süt ve etlerinde, tavuklarında yumurtalarında aflatoksinle rastlanmıştır. Bu durum yani et, süt ve yumurta gibi gıda maddelerinde aflatoksinin dolaysız olarak bulunması insanlar için büyük bir tehlike arz etmektedir. Bunların ısıya karşı dayanıklı olmaları ve 239° C ye kadar toksik etkilerini korumaları, konunun önemini daha da arttırmaktadır(27,36,37).

Aflatoksinler çeşitli deney hayvanları üzerindeki toksik etkilerini hayvanın cinsine, yaşına, yemdeki toksin dozuna ve toksine maruz kalma müddetine bağlı olarak akut, subakut ve kronik olmak üzere üç şekilde gösterirler. Akut etki letal dozun sindirim yoluyla alınması sonucunda meydana gelir ve böyle bir akut zehirlenme durumunda ölüm, toksin alındıktan yedi saat sonra olmakta ve otopside karaciğerde büyüme, bağırsak ve periton boşluğunda kanama görülmektedir. Subakut etki ise subletal dozda aflatoksinin bir

kaç gün veya bir kaç hafta süre ile verilmesi ile ortaya çıkar ve koyunlarda safra kesesi hiperplazisi, rhesus maymunlarında karaciğer lezyonları ve karaciğer sirozunu andıran bulgularla kendini belli eder^(36,38).

Aflatoksinlerin letal dozları komponentlerine ve hayvanların yaş ve cinsine göre farklı olup, belirlenen miktarlar kilo başına 0.3 ng ile 17.9 ng arasında değişmektedir^(1,39).

G E R E Ç L E R

1- Gıda örnekleri : Erzurum merkez ve çevresinden toplandı.

- a)Bulgur
- b)Pirinç
- c)Fındık
- d)Un
- e)Peynir
- f)Ceviz

2- Kullanılan besi yerleri ve kimyasal maddeler : Anabilim

Dalımız kimyasal madde ve besi yeri deposundan sağlandı.

- a)Sıvı savoraud (Difco)
- b)Katı savoraud (Difco)
- c)Silica gel (Camag)
- d)Chloroform (Merck)
- e)Metanol (Merck)
- f)Sülfirik asit (Merck)

3- Cam araçlar :

- a)Tüpler ; 150x15,90x10 mm
- b)Balon ; 100 ml
- c)Lam,lamel
- d)Petri kutusu ; 9 cm ϕ
- e)Cam plaklar ; 20x20x0.2 cm
- f)Solvent tankı
- g)Pipetler ; 1 ml, 5 ml, 10 ml
- h)Desikatör

i)Pastör pipeti

j)Sprey

4- Elektrikle çalışan aletler :

a)Etüv

b)Pastör fırını ; 70⁰ C ye ayarlı

c)Otoklav

d)Mikroskop

e)UV lambası ; 365 nm. de

5- Madeni araçlar :

a)Duyarlı terazi

b)Bunzen beki

c)Lup ve iğne öze

d)Tüp sporları

e)Thin Layer Chromatografi yayıcısı

f)Plak taşıyıcı

Y Ö N T E M

1- M a n t a r İ z o l a s y o n u : Erzurum ve yöresinden topladığımız toplam 349 çeşit gıda maddelerinden (78 bulgur, 64 fındık, 72 pirinç, 44 peynir, 57 un, 34 ceviz) mantar izolasyonu ve elde edilen mantarın cinsini belirlemek için hem katı ve hemde sıvı s a b o r a u d besi yerine ekim yapıldı. Sıvı sabora-ud'a ekim için bulgur, pirinç gibi küçük taneli maddeler oldukları gibi; ceviz, fındık gibi iri olanlarda küçük parçalara bölünmek suretiyle doğrudan doğruya ekildiler. Katı sabora-ud'aya ekmek için gıda maddeleri steril odistile(5 ml) içerisinde bir gece bekletildi. Daha sonra karıştırıcıda 10 dakika süre ile çalkalandı. Sonra bu karışımın sıvı kısmından 0.5 ml alarak katı sabora-ud besi yerine ekildi. Gerek katı gerekse sıvı kültürler oda ısısında (22° C) inkübasyona tabi tutuldu ve her gün kontrol edilerek üç gün süre ile bekletildi. Üreme saptanan kültürlerden ayrıca lam kültürü yapılarak mantarların spor ve hif yapıları mikroskopta incelendi(28,29,40).

Lam kültürü yapmak için katı sabora-ud besi yeri eritilerek steril lam üzerine damlatıldı, soğuyup katılaştıktan sonra ana kültürden öze ile bir parça alınarak lam üzerine pasaj yapıldı, üzerine steril bir lamel kapatılarak nemli bir ortamda ve 22° C de inkübe edildi. Üç gün süre sonunda üreyen mantarlar lam-lamel arasında olduğu halde mikroskopta incelendi. Spor ve hif yapısına göre yapılan inceleme sonucunda A s p e r g i l l u s ve P e n i c i l l i u m olanlar ayrıldı, diğerleri atıldı(29).

2- A f l a t o k s i n a r a n m a s ı : Aspergillus üreti-
len(Hem katı hemde sıvı savoraud) ana kültürler mantarın, bulun-
duğu ortama toksin salgılanmaları için 8 gün bekletilip daha sonra
Ultraviyole lambasının uzun dalga boylu ışığı altında (365 nm)
incelendi. Bu inceleme sonucunda mavi ve yeşil floresan veren kül-
türler saptanarak sıvı besi yerleri ince tabaka kromatografisine
(Thin Layer Chromatography = TLC) tabi tutuldu.

3- İ n c e T a b a k a K r o m a t o ğ r a f i s i(TLC) :
Jones⁽⁴¹⁾ ve Stack ve Pohland⁽⁴²⁾ in uygulamış oldukları
yöntemler az bir değişiklikle uygulandı.

a)Plakların hazırlanması : 20 g. silica gel, 40 ml steril
damıtık su içerisinde iyice karıştırılarak homojen bir bulamaç
elde edildi. Daha sonra bu sıvı, ince tabaka kromatografi yayı-
cısı kullanılarak 20x20x0.5 cm. boyutlarındaki cam plaklar üzeri-
ne yayıldı ve 300 mikron kalınlığında bir silica gel tabakası el-
de edildi. 30-40 dakika oda ısısında bırakılarak kuruması sağlan-
dı. Daha sonra 70° C lık pastör fırınında bir saat bekletilerek
nemi giderildi, ve kullanılmaya hazır hale getirildi. Hemen kul-
lanılmayan plaklar kullanılıncaya kadar, içinde nem çekici bir
madde olarak silisyum dioksit bulunan özel tanklarda saklandı.

b)Örneklerin plaklara uygulanması : Ultraviyole lambasında
mavi yada yeşil floresans saptanan sıvı besi yerlerinden, pastör
pipetleri ile bir miktar sıvı alınarak silica gel tabakası üzeri-
ne yaklaşık 0.5 ml miktarında damlatıldı. Damlatma işlemi cam
plakların alt kenarından 4 cm. ve yan kenarlarından 2.5 cm. uzak-
lıkta ve alt kenara paralel bir hat boyunca 2 şer cm. aralıklar-
la yapıldı.

Örnek damlatılmış olan plaklar daha sonra içerisinde solvent(yürütücü) olarak(97+3) oranında kloroform + metanol karışımının bulunduğu solvent tankına dikey olarak ve numuneler altta olacak şekilde yerleştirildi. Tank içindeki solvent seviyesinin, numuneler solvent ile direkt olarak temas etmeyecek şekilde yani tankın içinde 2-3 cm. lik bir yüksekliğe kadar olmasına dikkat edildi. Plaklar burada, solvent, front çizgisine ulaşınca kadar (plak yüksekliğinin 3/4 ü olan yaklaşık 15 cm. lik yüksekliğe kadar) bekletildi. Bu süre takriben 90-120 dakika kadardır. Bu bekleme süresinde solventin buharlaşmasını önlemek için tankın ağzı sıkıca kapatıldı, ayrıca üzeri ışığı geçirmeyen bir örtü ile örtülerek ışıktan korundu.

Solvent sisteminin front çizgisine kadar yürüdüğüne kani olununca(aşağı yukarı 90-120 dakika sonra) plaklar tanktan çıkarıldı. Havada kurutulduktan sonra ultraviyole lambasının uzun dalga boylu(365 nm) ışığı altında incelendi. Bu incelemede mavi ve yeşil renkte floresan veren kısımların aflatoksin oldukları, bunlardan yeşil olanların aflatoksin G, mavi olanlarında aflatoksin B olabilecekleri düşünüldü. Ayrıca bu şekilde floresans veren bölgelerin merkezinin, örneğin uygulandığı yere olan uzaklığı ölçülerek front mesafesi ile oranlandı ve Rf değerleri saptandı.

$$R_f = \frac{\text{Yürüme uzaklığı(cm)}}{\text{Front uzaklığı(cm)}}$$

c)Doğrulama deneyi : Ultraviyole ışığı ile incelemede mavi yada yeşil floresans veren bölgelerin gerçekten aflatoksin olup olmadığını belirlemek için doğrulama deneyi yapıldı. Bunun için

yüzde 25 lik H_2SO_4 çözeltisi hazırlandı ve cam sprej içerisine dolduruldu. 25-30 cm. uzaklıktan cam plaklar üzerindeki şüpheli bölgelere püskürtüldü. Karanlık odada, havada kendi haline kurumaya bırakıldı. Sonra tekrar UV ışığı altında incelendi. Daha önce mavi ve yeşil renkte görülen bölgelerin bu defa sarıya dönüşmüş olması ile bu bölgelerde aflatoksin bulunduğuna, rengin değişmemesiyle de aflatoksin olmadığına karar verildi.

B U L G U L A R

Çalışmamızda kullandığımız toplam 349 adet çeşitli gıda maddesinin cins ve sayı dağılımı tablo: 1 de görülmektedir. Bu örneklerden yapılan mantar kültürlerinde elde edilen pozitif sonuçlar da tablo: 2 de yer almaktadır.

Tablo: 1 - Deneye Alınan Gıda Maddelerinin Cins ve Sayı Dağılımı :

<u>C i n s i</u>	<u>S a y ı s ı</u>
Bulgur	78
Pirinç	72
Fındık	64
Un	57
Peynir	44
Ceviz	34
T o p l a m	349

Tablo: 2 - Mantar Kültürlerinden Elde Edilen Pozitif ve Negatif Sonuçlar :

<u>Cinsi</u>	<u>Üreme var</u>		<u>Üreme yok</u>		<u>Toplam</u>	
	<u>Sayı</u>	<u>yüzde(%)</u>	<u>Sayı</u>	<u>yüzde(%)</u>	<u>Sayı</u>	<u>yüzde(%)</u>
Bulgur	36	46.2	42	53.8	78	100.0
Pirinç	31	43.1	41	56.9	72	100.0
Fındık	49	76.6	15	23.4	64	100.0
Un	38	66.7	19	33.3	57	100.0
Peynir	27	61.4	17	38.6	44	100.0
Ceviz	15	44.1	19	55.9	34	100.0
T o p l a m	196	56.2	153	43.8	349	100.0

Tablo: 2 nin incelenmesinden anlaşıldığı gibi, her cins gıda maddesinden mantar üretilmiş olup en fazla üreme yüzde 70.6 oranıyla fındıklarda, en az üreme de yüzde 43.1 oranıyla pirinçlerde olmuştur.

Aflatoksinler başlıca *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsi mantarlarca salgılandığına göre bu çalışmada da üreme saptanan kültürlerde bu iki cins mantarın olup olmadığına bakıldı, diğerlerinin idantifikasyonuna gidilmedi. Yapılan kültürlerde *Aspergillus* ve *Penicillium*'lar ya tek başlarına saf halde, ya ikisi beraberce ya da başka cins mantarlarla birlikte bulunuyordu. Elde edilen kültür sonuçları tablo: 3 de toplu halde görülmektedir.

Tablo: 3 - Kültürlerden Üretilen Mantarların Tür Dağılımı:

Mantar	Bulgur	Pirinç	Fındık	Un	Peynir	Ceviz	Toplam Sayı	yüzde(%)
<i>Aspergillus</i>	12	7	12	7	1	2	41	11.7
<i>Penicillium</i>	8	7	9	19	20	2	65	18.6
<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>	7	6	17	5	1	4	40	11.5
Diğerleri	9	10	7	2	3	7	38	10.9
<i>Aspergillus</i> Diğerleri	-	-	1	-	1	-	2	0.6
<i>Penicillium</i> Diğerleri	-	1	2	5	1	-	9	2.6
<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i> Diğerleri	-	-	1	-	-	-	1	0.3
Üreme Olmayanlar	42	41	15	19	17	19	153	43.8
T o p l a m	78	72	64	57	44	34	349	100.0

Tablo: 3 den anlaşıldığı gibi, *Aspergillus* ve *Penicillium* üreyen kültür sayısı 158 olup, bu, incelenen tüm gıda maddelerinin yüzde 45.3 ünü oluşturmaktadır. Çalışmamızda *Aspergillus* ve(veya)

Penicillium cinsi mantar üretilen kültürlerde aflatoksin bulunup bulunmadığını belirlemek amacıyla kültür filtratları ince tabaka kromatografisine tabi tutulmuş ve daha sonra ultraviyole lambası altında gözlenmişti. Deneyin bu safhasında elde edilen bulgularda tablo: 4 de yer almaktadır.

Tablo: 4 - Kültürlerde Saptanan Aflatoksinlerin Gıda Maddeleri ve Bunlarda Üretilen Mantar Cinsine Göre Dağılımı :

Mantar	Bulgur	Pirinç	Fındık	Un	Peynir	Ceviz	Toplam
Aspergillus	5	2	8	4	-	-	19
Penicillium	-	-	3	2	2	-	7
Aspergillus Penicillium	5	5	9	2	-	3	24
T o p l a m	10	7	20	8	2	3	50

Tablo: 4 ün incelenmesinden anlaşılacağı gibi, toplam 50 gıda maddesinden yapılan kültürlerde aflatoksin tesbit edilmiş olup bu, pozitif kültür sonucu elde edilen 196 vakanın yüzde 25.8 ini, incelemeye tabi tutulan tüm gıda maddelerinin(349 adet) de yüzde 14.3 ünü teşkil etmektedir. Saptadığımız bu 50 aflatoksinin 41 tanesi aflatoksin B, 9 tanesinde aflatoksin G komponentidir. Yapılan ölçümlerde aflatoksin G lerin Rf değerleri 0.10-0.25 ; aflatoksin B lerin Rf değerleri de 0.40-0.70 arasında bulunmuştur. Aflatoksin bulundurma yönünden incelenen gıda maddeleri arasında fındık yüzde 31.3 oranıyla en başta yer almakta olup, bunu sırasıyla un(%14.3), bulgur(%12.8), pirinç(%9.7), ceviz(%8.8) ve peynir(%4.5) izlemektedir.

Topladığımız gıda maddelerinin ilkel ve modern yöntemlerle imal edilişlerine ilişkin dağılım sayıları tablo: 5 de görülmektedir.

Tablo: 5 - İlkel ve Modern Yöntemle İmal Edilen Gıda Maddelerinin Sayı ve Yüzdesi :

Örnekler	İlkel metodla		Modern metodla		Toplam	
	Sayı	yüzde(%)	Sayı	yüzde(%)	Sayı	yüzde(%)
Bulgur	22	28.2	56	71.8	78	100.0
Pirinç	-	-	72	100.0	72	100.0
Fındık	-	-	64	100.0	64	100.0
Un	3	5.3	54	94.7	57	100.0
Peynir	30	68.2	14	31.8	44	100.0
Ceviz	34	100.0	-	-	34	100.0
T o p l a m	89	25.5	260	74.5	349	100.0

Tabloda görüldüğü gibi, incelenen gıda maddelerinin yüzde 25.5 i ilkel metodlarla imal edilmiştir. Çalışmamızda saptanan aflatoksinlerin ilkel ve modern usüllerle hazırlanan gıda maddelerindeki dağılımları da tablo: 6 ve 7 de yer almaktadır.

Tablo: 6 - İlkel Metodlarla İmal Edilen Gıda Maddelerindeki Aflatoksin Dağılım Sayı ve Yüzdesi :

Örnekler	Aflatoksin(+)		Aflatoksin(-)		Toplam	
	Sayı	yüzde(%)	Sayı	yüzde(%)	Sayı	yüzde(%)
Bulgur	5	22.7	17	77.3	27	100.0
Pirinç	-	-	-	-	-	-
Fındık	-	-	-	-	-	-
Un	1	33.3	2	66.7	3	100.0
Peynir	2	6.7	28	93.3	30	100.0
Ceviz	3	8.8	31	91.2	34	100.0
T o p l a m	11	12.4	78	87.6	89	100.0

Tablo: 7 - Modern Metodlarla İmal Edilen Gıda Maddelerindeki Aflatoksin Dağılım Sayı ve Yüzdesi :

Örnekler	Aflatoksin(+)		Aflatoksin(-)		Toplam	
	Sayı	yüzde(%)	Sayı	yüzde(%)	Sayı	yüzde(%)
Bulgur	5	8.9	51	91.1	56	100.0
Pirinç	7	9.7	65	90.3	72	100.0
Fındık	20	31.3	44	68.7	64	100.0
Un	7	13.0	47	87.0	54	100.0
Peynir	-	-	14	100.0	14	100.0
Ceviz	-	-	-	-	-	-
T o p l a m	39	15.0	221	85.0	260	100.0

Tablo: 6 ve 7 de görüldüğü gibi, ilkel metodlarla imal edildiği bilinen 89 gıda maddesinin 11'inde(%12.4) ve modern metodlarla imal edildiği bilinen 260 gıda maddesinin 39'unda(%15)

aflatoksin tesbit edilmiştir. İlkel metodlarla elde edilen bulgurlarda aflatoksin bulunma oranı yüzde 22.7, un'da yüzde 33.3, peynirde yüzde 6.7 ve cevizde yüzde 8.8 dir. Aynı durum modern metodlarla elde edilen gıda maddelerinde şu şekilde bulunmuştur : Bulgurlarda yüzde 8.9, pirinçte yüzde 9.7, fındıkta yüzde 31.3, un'da yüzde 13 ve cevizde yüzde 0 dır.

Son olarak aflatoksin ihtiva eden gıda maddelerini deneye alınan tüm gıda maddelerine(modern ve ilkel) göre değerlendirecek olursak tablo: 8 de ki sonuçlarla karşılaşmış oluruz.

Tablo: 8 - İncelenen Tüm Gıda Maddelerinde Aflatoksin
Bulunma Durumu :

Örnekler	Aflatoksin(+)		Aflatoksin(-)		Toplam	
	Sayı	yüzde(%)	Sayı	yüzde(%)	Sayı	yüzde(%)
Bulgur	10	12.8	68	87.2	78	100.0
Pirinç	7	9.7	65	90.3	72	100.0
Fındık	20	31.3	44	68.7	64	100.0
Un	8	14.0	49	86.0	57	100.0
Peynir	2	4.5	42	95.5	44	100.0
Ceviz	3	8.8	31	91.2	34	100.0
T o p l a m	50	14.3	299	85.7	349	100.0

Buna göre incelediğimiz 349 gıda maddesinin 50(%14.3)sinde aflatoksin bulunmuş olup, bu oranlar bulgurlarda yüzde 12.8 , pirinçte yüzde 9.7, fındıkta yüzde 31.3, un'da yüzde 14, peynirde yüzde 4.5 ve cevizde yüzde 8.8 dir.

T A R T I Ő M A

E_rzurum ilinde gıda maddesi satan çeşitli dükkânlardan toplanan ve sayıları tablo: 1 de belirtilen; bulgur, pirinç, fındık, un, peynir ve ceviz'den oluşan toplam 349 adet gıda maddesi, mantarlarla ve dolayısıyla aflatoksinlerle kontamine olup olmamaları yönünden incelendi. Mantar kültürü, bazı araştırmacıların bu amaçla kullandıkları Czapek vasatı yerine pek çoğunca kullanılan ve bu çalışmadaki asıl amacımız olan aflatoksin salgılanmada başta gelen *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsi mantarların rahatça üremelerine olanak sağlayan⁽²⁷⁾ Saboraud agarında yapıldı. Sonuçta, toplam 349 gıda maddesinin 196(%56.2) sında çeşitli türde mantar üremesi saptanırken 153(%43.8) ünün herhangi bir mantarla kontamine olmadığı görüldü. Gıda maddeleri içinde mantarlarla kontamine olma yönünden yüzde 76.6 ile fındık başta bulunmakta, bunu sıra ile un(%66.7), peynir(%61.4), bulgur(%46.2), ceviz(%44.1) ve pirinç(%43.1) izlemekteydi. Görüldüğü gibi incelenen maddelerden fındık, un ve peynirin yarıdan fazlası, diğerlerinin de yarıya çok yakın kısmı çeşitli türde mantar ile bulaşlıdır. İncelediğimiz örneklerden 84 ünde *Aspergillus* üredi. Bu sayı tüm örneklerin yüzde 24.1 ini, üreme elde edilen vakalarında yüzde 42.9 unu oluşturmaktadır. *Aspergillus* üremesi görülen 84 vakanın 41 inde *Aspergillus* saf halde, 43 ünde *Penicillium* veya başka bir mantarla birlikte bulunuyordu. *Penicillium*lar ise 65 i saf halde, gerisi bir başka mantarla birlikte olmak üzere toplam 115 vakada üretilmiştir.

Bu sayı tüm vakaların yüzde 32.6 sını, üreme elde edilenlerinde yüzde 58.7 sini teşkil etmektedir. Bulgularımızı daha önce diğer araştırmacıların elde ettiği sonuçlarla karşılaştırsak üretilen mantar cinsleri arasında *Penicillium* ve *Aspergillus*ların ilk sırada yer alması yönünden bulgularımızın onları ile uyum gösterdiği görülür^(25,43-46).

Tüketilen gıdalarda *Aspergillus* bulunma oranının gerçekte bizim ve diğer araştırmacıların buldukları oranların çok üstünde olduğu kanaatindeyiz. Çünkü; incelediğimiz örnekler torbalar ve hatta çuvallarla depo edilmiş haldeki gıda maddelerinden gelişmiş güzel alınan 10-15 gramlık küçük numunelerden oluşmaktaydı. Oysa mantar ürenesi, depolanmış haldeki gıda maddelerinin bazı bölgelerinde meydana gelmekte, zamanla diğer bölgelerine de yayılabilmektedir. Bu nedenle üreme olmayan örnekler kesinlikle kontamine değildir diyemeyiz.

Gıda maddelerini üç grup altında inceleyebiliriz.

- a) Yağlı taneler: Fındık, ceviz
- b) Hububat türevleri: Bulgur, pirinç, un
- c) Süt türevi : Peynir

Bu üç grup içinde *Aspergillus*la en yüksek oranda bulaşlı olanı yağlı tanelerdir (%37.8). Hububat türevleri (%21.3) ve süt türevi (%6.8) onu izlemektedir. Burada dikkati çeken bir husus peynir örneklerinde *Aspergillus* en az oranda ürerken, *Penicillium*'un bu gıda maddesinde yüzde 50 gibi yüksek bir oranda üremesidir. Daha önce Demirel⁽⁴³⁾in yaptığı bir çalışmada da peynirlerde üretilen küflerin büyük bir kısmını *Penicillium*ların oluşturduğu görülmüştür.

Çalışmanızda Aspergillusların en fazla üretildiği gıda maddesi yüzde 48.4 ile fındıktır. Bunu sırasıyla bulgur(%24.4), un(%21.1), pirinç(%18.1), ceviz(%17.6) ve peynir(%6.8) izlemektedir.

Yağlı tanelerden cevizde fındığa göre az Aspergillus üremesinin sebebini şöyle izah edebiliriz. Erzurum ve çevresinde tüketilen cevizler civar ilçelerden Tortun ve Yusufeli'nde yetiştirilmektedir. Üretilen ceviz ancak ihtiyacı karşılayacak miktarda olduğundan depolarda uzun süre bekletilmeden satılıp, tüketilmektedir. Dolayısıyla mantarlarla kontaminasyona fırsat verilmemektedir. Oysa, fındık için durum değişiktir. Halihazırda piyasada bulunan fındıklar belkide bir kaç yıl öncesinin ürünüdür ve uzun süre depolarda bekletilmiştir.

Hububat türevlerinden bulgur, pirinç ve unda Aspergillus bulunma oranları birbirine yakın olup, aralarındaki fark istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur.

Üçüncü grup olan peynirde diğerlerinin aksine Aspergillusların az ve buna mukabil Penicilliumun yüksek oranda üremiş olması hayvansal bir ürün olan peynirin bitkisel orijinli hububat türevleri ve yağlı tanelere göre farklı bir yapıya sahip olması ve Penicilliumların burada daha iyi bir üreme olanağı bulmaları ile açıklanabilir.

Bulgularımızın, yurdumuzun diğer bölgelerinde daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyum gösterdiği görülmektedir. Güray ve Ark.⁽²³⁾ fındıkta yüzde 31.3 , buğdayda yüzde 39, bulgurda ise yüzde 30 oranında Aspergillus bulmuşlardır. Aynı araştırmacının daha önce yaptığı bir çalışmada da⁽²²⁾ Aspergillus

fındıkta yüzde 20 oranında bulunmuştur. Denizel ve Köşker⁽⁴⁴⁾, 37 adet fındıkta elde ettiği küflerin büyük kısmının ; Karahan ve Ark.⁽⁴⁵⁾, fındık, antep fıstığı ve yer fıstığından; Denizel ve Ark.⁽⁴⁶⁾, antep fıstığından elde ettikleri küflerin büyük kısmının *Aspergillus* cinsine ait olduğunu saptamışlardır. Un mikroflorası üzerinde çalışan Mori ve Ark.⁽⁴⁷⁾ da izole ettikleri küflerin yüzde 44 ünün *Penicillium*, yüzde 24 ünün de *Aspergillus* olduğunu bildirmişlerdir. Un için bulunan bu değerler bizim bulgularımıza çok yakındır.

Çalışmamızda, *Aspergillus* ve *Penicillium* üremesi saptanan kültürlerin ince tabaka kromatografi yöntemiyle incelenmesi sonunda bunların 50 sinde Aflatoksin bulunduğu görülmüştür. Bu, incelediğiniz tüm gıda maddelerinin yüzde 14.3 ünü oluşturur. Aflatoksin salgılanması sadece *Aspergillus* ve *Penicillium* grubu mantarların saf halde ve birlikte üredikleri kültürlerde görülmüş, diğerlerinde toksinin varlığı gösterilememiştir. Aflatoksin saptanan 50 olgunun 19 unu(%38) saf *Aspergillus* kültürleri, 7 sini(%14) de saf *Penicillium* kültürleri oluşturmaktadır. 24 olguda(%48) *Aspergillus* ve *Penicillium* birlikte bulunmaktaydı. Bu miks kültürlerde saptanan aflatoksinin hangi tür mantarlarca salgılandığını söyleyebilmemiz pek tabii ki mümkün değildir. Ancak saf kültürlerdeki yüzde 38 ve yüzde 14 gibi farklı sonuca bakarsak miks kültürlerdeki toksin salgılanmasının büyük ölçüde *Aspergillus*lardan ileri gelmiş olabileceğini söyleyebiliriz. Bulduğumuz bu sonuç, *Aspergillus*ların en fazla aflatoksin salgılayan mantar türü olduğu hususundaki literatür bulgularını doğrulamaktadır⁽²⁷⁾.

Çalışmamızda ; incelediğimiz gıda maddelerinde aflatoksin salgılayan mantar bulundurma, dolayısıyla aflatoksinlerle kontamine olma oranı yüzde 14.3 bulunmuştu. Gıda maddelerini doğrudan doğruya ince tabaka kromatografisine tabi tutmadığımız için, bulduğumuz bu oran gerçek oranın altında olabilir. Çünkü biz sadece kültür sonucu pozitif olanlarda aflatoksin aradık. Halbuki kültür sonucu negatif olanlarda mantar olmaksızın aflatoksin bulunabilir ve böyle gıda maddelerinde *Aspergillus*lar toksinlerini salgıladıktan sonra çeşitli nedenlerle ölebilirler. Örneğin, ürün tarlada iken, hasat sırasında veya işleme esnasında veya depolandığı yerde mantarla kontamine olur ve toksin salgılanabilir. Fakat yine bu safhalardan herhangi birisi sırasında gıda maddelerinin ısı ve ışın gibi çeşitli fiziksel etkilere maruz bırakılması mantarların ölümüne sebep olabilir, fakat toksin ısıya dayanıklı olduğu için bozulmadan kalabilir⁽³⁷⁾.

İnce tabaka kromatografi yöntemiyle 50 kültürde saptanan aflatoksinlerin gıda maddelerine göre dağılımında fındık ilk sırada yer almıştır. İncelediğimiz 64 fındığın 20 sinde (31.3) , 57 un'un 8 inde(%14), 78 bulgurun 10 unda(%12.8) , 72 pirincin 7 sinde(%9.7) , 34 cevizin 3 ünde(%8.8) ve 44 peynirin de 2 sinde(%2.3) aflatoksin salgılayan mantar bulunmuştur. Toksikjenik küflerin büyük kısmı *Aspergillus* türüne az bir kısmı da *Penicillium* türüne ait funguslardır(tablo: 4). Bu konuda yapılan diğer çalışmalarda da Güray ve Ark.⁽²³⁾, Fındıkta yüzde 3.4 , buğdayda yüzde 24.4 , bulgurda yüzde 9 oranında aflatoksin salgılayan *Aspergillus* bulmuşlardır. Aynı

araştırmacı daha önceki bir çalışmasında da, fındıkta yüzde 22.2 oranında aflatoksin bulunduğunu bildirmiştir. Denizel ve Köşker⁽⁴⁴⁾ in fındık ve fıstık için bildirdiği oran yüzde 24.3 tür.

Demirer⁽⁴³⁾, peynirler üzerinde yaptığı çalışmalarda elde ettiği izolatlardan hiç birinin toksijenik olmadığını görmüştür.

Bulgurlarda aflatoksin arayan Eser ve Ark.⁽⁴⁸⁾ da Doğu Anadolu orijinli bulgurlarda yüzde 44.7, Batı Anadolu orijinli olanlarda da yüzde 21.6 oranında aflatoksin saptamışlardır. İncelediğimiz gıda maddelerini satıcılardan toplarken mümkün olduğu kadar kentin farklı bölgelerinde bulunan ve hijyenik koşulları farklı ticarethanelerden toplamaya özen gösterdik. Topladığımız gıda maddelerinin bir kısmı gayet modern yöntemlerle hazırlandıktan sonra satışa çıkarılırken bir kısmı da son derece ilkel metodlarla ve hiç bir hijyen kuralına uyulmaksızın imal ediliyor ve satılıyor. Tablo 5 den anlaşılacağı gibi deneye aldığımız örneklerin yüzde 25.5 i ilkel metodlarla hazırlanmıştı. Pirinç ve fındık örneklerinin tümü modern yöntemlerle, cevizin de gene tümü ilkel yöntemlerle hazırlanıp satışa sunulmaktaydı. Bulgur, un ve peynirlerde her iki gruptanda örnekler vardı. Hemen belirtmek gerekirken bu değerlendirmeler tamamıyla satıcıların verdiği bilgiler doğrultusunda yapılmıştır. Satıcıların gıda maddelerinin hazırlanış tarzı için kullandıkları ilkel veya modern tabiri daha ziyade ürünün hasat edildikten ve kuruduktan sonraki işleme ve bilhassa paketlenme safhaları için kullanılmaktadır. Buna göre fındık ve pirinç örneklerinin tümü fabrika veya atölyelerde işlenip paketlenmekteydi. Fakat, acaba bu iki gıda maddesi fabrikaya gelmeden önce hangi

şartalra hasat edilmektedir ? Örneğin ; fındık üretiminin en fazla olduğu Karadeniz bölgesinde fındık, genellikle elle toplanıp peştemal denen eteklere doldurulur bahçede hasır veya kilim üzerine yığılır. Bu işlem için kullanılan hasır, peştemal, kilim gibi eşyalar nadiren yıkanır temizlenir. Hasat bitince kiler, çatı arası gibi yerlere kaldırılır ve her sene tekrar tekrar kullanılır. Bu tip eşyalar üzerinde önceki yıllardan kalmış olabilen veya dışardan karışan sporlar, ürünü rahatlıkla kontamine ederler. Pirinç ve diğer hububat ürünleri için de aynı şeyleri söyleyebiliriz. Bunlar ne kadar itina ile ve modern yöntemlerle, işlenip paketlenmelerde eğer işleme öncesinde veya ürün tarlada iken fungus üremesi için uygun koşullar varsa daha o dönemlerde mantarlar ve onların metabolitleri ile kontamine olurlar. Bilindiği gibi fungusların hububat üzerinde üremelerinde ve toksin yapmalarında çeşitli faktörler rol oynar. Bu faktörler arasında hububat ve kuru yemiş taneciklerinin gerek mekanik olarak ve gerekse çeşitli böcekler tarafından biyolojik olarak zedelenmesi, ortamın nemi, ısı ve pH derecesi sayılabilir. Böcekler hububat tanelerini zedeleyerek fungusların yerleşme ve çoğalmaları için uygun bir ortam hazırladıkları gibi, bunların besin maddelerine taşınmalarında da önemli bir rol oynarlar⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾. Fennel ve Ark.⁽⁵⁰⁾, yeni hasat edilmiş hububat üzerinde topladıkları çeşitli tipte kurt ve böcekten yüzde 15 inin *Aspergillus flavus* taşıdığını, böcek ve kurtlarla zarara uğramış taneciklerin yüzde 6.3 ünün buna karşılık zarara uğranmamış olanlarında sadece yüzde 2.5 inin aflatoksin ihtiva ettiğini saptamıştır.

İncelediğimiz ceviz örneklerinin tümü ağaçtan satıcıya gelinceye kadar her safhası ilkel metodlar kullanılarak hazırlanmıştır. Bunların kabuklarının kırılması, içinin ayıklanması, kurutulması sırasında izlenen yol ve kullanılan araç ve gereçlerin ilkelliği göz önüne alınırsa bunların yüksek oranda funguslar ve aflatoksinle kontamine olması beklenirdi. Fakat elde edilen sonucun beklenenden az oluşu bu gıda maddelerinin kısa zamanda tüketilmesi ile açıklanabilir.

Araştırmalarımıza konu olan gıda maddelerinden bulgur, un ve peynir örnekleri hem ilkel ve hem de modern yöntemlerle hazırlanmış örneklerden oluşmaktaydı. Bulgur yapılacak buğdayın yetiştirilme ve hasat şekli her iki tipte de aynıdır, ancak bulgur yapımı sırasında kullanılan yöntemler farklıdır. Fabrika inalatı bulguruların kaynatılması, kurutulması, kırılması, kabuklarından ayrılması ve paketlenmesi gibi işlemler funguslarla kontaminasyon olanağını minimuma indirecek şekildedir. Oysa köyde evlerde bulgur yapılırken buğdaylar kaynatıldıktan sonra çarşaf, kilim gibi sergiler üzerinde ve sokakta kurutulur. Dibeklerde dövülerek kabuğu ayrılır, rüzgarda savrulduktan sonra el taşlarında kırılır ve kalburlardan elenerek ince ve iri taneler ayrılır ve böylece kullanılır. Bu işlemler sırasında kullanılan araç ve gereçler hemen hemen köyün ortak malıdır. El taşı köyde bir veya iki tane bulunur, bütün köy halkı tarafından kullanılır. Kurutma işinde kullanılan kilim ve çarşaflarda yine evden eve dolaşır. Dibek ve el taşlarının işi bitince iyice temizlenmemeleri sonucunda köşesinde kıyısında kalan mantarlar ertesi yıla kadar orada kalır. Bu şekilde

bir ailede funguslarla bulaşlı bulgur imal edilmişse bu, ortak araç ve gereçler aracılığıyla diğerlerinede yayılır.

Çalışmanızda, bulgur, un ve peynirin ilkel ve modern yöntemlerle hazırlanmış olanlarındaki aflatoksin bulundurma durumunu karşılaştırırsak(tablo: 6 ve 7) : Bulgurun ilkel yöntemlerle hazırlanmış olanlarında yüzde 22.7 , modern yöntemlerle hazırlanmış olanlarında yüzde 8.9 oranında aflatoksin bulunmuştur. Un için bulunan değerler yüzde 33.3 ve yüzde 13'tür. Peynirin ise ilkel yöntemlerle hazırlanmış olanlarında yüzde 6.7 oranında aflatoksin saptanırken, modern yöntemle hazırlananların tümü aflatoksinsiz bulunmuştur. Her üç gıda maddesi için bulunan bu değerler istatistikî açıdan önemli bulunmuştur($P < 0.01$). Buna göre gıda maddelerinin ev ve köylerde ilkel yöntemlerle hazırlanışı sırasında bunların funguslarla ve toksik metabolitlerle kontaminasyon ihtimali artmaktadır.

Araştırma sonuçlarımız bir kere daha göstermiştir ki, ülkemizde gerek yağlı tohumlar, gerek hububat ürünleri ve gerekse süt ve süttten yapılan gıda maddeleri üretme, işletme, taşınma ve depolama sırasında çeşitli yollarla ve çeşitli türden mantarlarla ve bunların toksik metabolitleri ile enfekte olmaktadır. Bu durumu önlemek için ya fungus gelişmesine mani olunarak aflatoksin oluşmasını engellenek, ya da oluşan aflatoksini çeşitli yollarla tahrip veya uzaklaştırmak gerekir. Şayet, bitki hastaliksız olarak yetiştirilir, hasat dikkatlice yapılır, kurutma temiz ve emniyetli bir şekilde yapılır, nakliye ve depolamada da kurallara uyulursa problem kısmen

halledilmiş olur.

Halkımızın sonradan düzeltilmesi mümkün olmayan maddi ve manevi zararlara uğramasını önlemek için bir taraftan halkın bu maddelerden gelebilecek zararlara ve tehlikelere karşı uyarılması ve onların bu hususta eğitilerek dikkatli olmaları gereğinin ahlatılması ; diğer taraftanda Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı ve Ticaret Bakanlığı gibi kuruluşların ve yetkili kişilerin konuya eğilerek gıda maddelerinde mantar üremesine fırsat verecek kirlilik, rutubet, ısı, hatalı işleme gibi faktörlerin ortadan kaldırılması için gerekli tedbirleri almaları ve bu konuda sıkı kontroller yapılarak kurallara uymayanların uyarılması gerekir.

S O N U Ç

Erzurum ilinde çeşitli gıda maddeleri satan dükkânlarından toplanan toplam 349 adet bulgur, pirinç, fındık, un, peynir ve ceviz örneklerinden yaptığımız mantar kültürü ve aflatoksin arama deneyleri neticesinde aşağıdaki sonuçlara vardık.

1- İncelediğimiz her türden gıda maddesinde yüzde 76.6 ve yüzde 43.1 oranları arasında mantar izole edildi. Fındıkta en fazla oranda, pirinçte ise en az oranda mantar bulunmaktaydı.

2- Üretilen mantar çeşitleri arasında *Penicillium* ve *Aspergillus*lar ilk sırada yer almış olup bu durum diğer literatür bulgularına uymaktadır.

3- Yağlı tanelerden olan fındık ve cevizde *Aspergillus* üremesi birbirinden farklı bulunmuş ve fındıkta cevizde göre daha çok *Aspergillus* üretilmiştir. Cevizin az miktarda yetiştirilip kısa zamanda tüketilmesi buna karşılık fındığın uzun süre depolarda bekletilmiş olması bu duruma sebep olarak gösterilebilir.

4- Hububat türevlerinden bulgur, pirinç ve unda *Aspergillus* bulunma oranı birbirine yakın bulunmuştur.

5- Süt türevi olan peynirde ise *Aspergillus* az *Penicillium* ise hayli yüksek oranda üretilmiştir. Peynirin hayvansal bir ürün oluşu ve *Penicillium* için daha uygun bir ortam sayılması buna sebep olabilir.

6- İnce tabaka kromatografisi ile yapılan aflatoksin arama çalışması sonucunda 50 gıda maddesinde (tüm vakaların yüzde 14.3 ü) aflatoksin bulunmuştur. Bunların büyük bir kısmını Aspergillus, az bir kısmını da Penicillium bulunan kültürler teşkil etmekte olup, bu durum Aspergillusların en fazla aflatoksin salgılayan mantar türü olduğu konusundaki literatür bulgularını doğrulamaktadır.

7- İncelediğimiz örnekler arasında aflatoksin bulundurma yönünden fındık en başta gelmekte, buna sırasıyla un, bulgur, pirinç, ceviz ve peynir izlemektedir.

8- Deneye alınan gıda maddelerinin ilkel yöntemlerle hazırlanmış olanlarında yüzde 12.4 ve modern yöntemlerle hazırlanmış olanlarında da yüzde 15 oranında aflatoksin bulunmuştur. Pirinç ve fındık örneklerinin tümünün modern metodlarla, tüm ceviz örneklerinin de ilkel metodlarla hazırlananlar grubunda yer almaları bu şekildeki beklenenin tersine bir sonuç doğurmuştur.

9- Hem ilkel ve hem de modern yöntemlerle hazırlanmış örneklerin bulunduğu bulgur, un ve peynirde ise beklenen şekilde bir sonuç alınmış olup, ilkel yöntemlerle hazırlanmış olanların diğerlerine göre yüksek oranda aflatoksinle kontamine olduğu bulunmuş ve bu farkın istatistikî yönden anlamlı olduğu anlaşılmıştır.

Görüldüğü gibi ülkemizde yetişen ve imal edilen hububat ürünleri, yağlı tohumlar ve süt türeği gibi gıda maddeleri, üretiminin herhangi bir döneminde çeşitli türden mantar ve bun-

ların toksik metabolitleri ile kontamine olmaktadır. Halk sağlığı ve ekonomik yönden uğranılması kaçınılmaz zararları önlemek veya en aza indirmek için şu hususlara dikkat edilmesi gerekmektedir.

a) Bitki tarlada iken hastaliksız yetişmesi için gerekli önlemleri almak,

b) Hasat, kurutma, ayıklama, işleme vb. gibi işlemlerin mümkün olduğunca modern yöntemlerle ve temiz araçlar kullanılarak yapılmasını sağlamak,

c) Nakliye ve özellikle depolamada ; depolanan yeri temiz, kuru, serin, havalandırılması yeterli, özetle fungus gelişmesine fırsat vermeyecek hijyenik koşullara sahip kılmak,

d) Halkı bu konularda eğitmek,

e) İlgili bakanlık ve kuruluşların bu konularda sıkı kontroller yaparak kurallara uymayanlara gerekli kanuni işlemleri uygulanak.

Ö Z E T

Çalışmanızda Erzurum ve yöresinden topladığımız 78 bulgur, 64 fındık, 72 pirinç, 44 peynir, 57 un ve 34 ceviz olmak üzere toplam 349 çeşit gıda maddesinde kültür yöntemi ve mikroskopik inceleme ile *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsi mantar bulunup bulunmadığı araştırıldı. Mantar saptanan kültürler ince tabaka kromatografisine tabi tutularak aflatoksin varlığı yönünden incelendi. Elde edilen sonuçlar aynı konuda yapılan diğer araştırma sonuçlarıyla ve incelediğimiz gıda maddelerinin ilkel ve modern yöntemlerle hazırlanmış olmaları göz önüne alınarak kendi aralarında karşılaştırıldı ve tartışıldı.

Araştırma sonuçlarına göre ;

a) İncelediğimiz 349 gıda maddesinin 196(%56.2) sinda mantar üremesi olduğu, 153(%43.8) ünün herhangi bir fungus ihtiva etmediği,

b) Mantarlarla en fazla bulaşlı gıda maddesinin yüzde 76.6 oranı ile fındık olduğu, bunu sırasıyla un(%66.7), peynir(%61.4), bulgur(%46.2), ceviz(%44.1), ve pirinç(%43.1) in izlediği,

c) 349 gıda maddesinin 50 sinde(%14.3) aflatoksin salgılayabilen mantar bulunduğu ve bunların çoğunun *Aspergillus*ların oluşturduğu,

d) Elde edilen 50 aflatoksin pozitif kültürün 20 sinin fındığa, 10 unun bulgura, 8 inin un'a , 7 sinin pirince, 3 ünün

cevize ve 2 sinin de peynire ait olduğu,

e) İlkel yöntemlerle imal edilmiş olan gıda maddelerinin 11 inde(%12.4), modern yöntemlerle hazırlanmış olanlarında 39 unda(%15) aflatoksin bulunduğu,

f) Hem ilkel, hem de modern yöntemlerle hazırlanmış örneklerin bulunduğu bulgur, un ve peynirden ;

1^o) Bulgurun ilkel yöntemlerle hazırlanmış olanlarının 5 inde(%22.7), modern yöntemlerle hazırlanmış olanlarında 5 inde(%8.9),

2^o) Un'un ilkel yöntemlerle hazırlanmış olanlarının 1 inde(%33.3), modern yöntemlerle hazırlanmış olanlarının 7 sinde(%13),

3^o) Peynirin ilkel yöntemlerle hazırlanmış olanlarının 2 sinde(%6.7), modern yöntemlerle hazırlanmış olanların ise hiç birisinde(% 0) aflatoksin bulunmadığı,

g) Bulgur, un ve peynirin ilkel ve modern yöntemlerle imal edilmiş olanlarında aflatoksin bulunma durumunun istatistiki yönden farklı ve anlamlı olduğu görüldü.

K A Y N A K L A R

- 1- Ciegler, A.: Mycotoxins, occurrence, chemistry, biological activity. *Loydia*, 38(1): 21, 1975.
- 2- Dickens, F., Jones, H.E.H.: The carcinogenic action of aflatoxin after its subcutaneous injection in the rat. *Erit. J. Cancer*, 17: 691(1963).
- 3- Lopez, A.: Aflatoxin content of ground nuts sold human consumption in Uganda, *Lancet*, II: 1351(1967).
- 4- Marthe, M.: Aflatoxin and mycotoxins in agricultural products. 7. *Milk Food Tech.*, 30: 192(1967).
- 5- Wormall, A.: Aflatoxins. *Lancet* I: 1090(1964).
- 6- Bourgeois, C.H., Shank, R.C., Grossman, R.A., Johnsen, D.O., Wooding, W.L. and Chandavinol, P.: Acute aflatoxin B₁ toxicity in the macaque and its similarities to Reye's Syndrome. *Lab. Invert.* 24: 206, 1971.
- 7- Shank, R.C., Bourgeois, C.H., Keschhamras, N. and Chandavinol, P.: Aflatoxin in autopsy specimens from Thai children with acute disease of unknown etiology. *Food Cosmet. Toxicol.* 9: 501, 1971.
- 8- Shank, R.C., Wogan, G.N. and Gibson, J.B.: Dietary aflatoxins and human liver cancer. I. Toxicogenic moulds in foods and foodstuffs of tropical south-east. *Food Cosmet. Toxicol.* 10:51, 1971.
- 9- Shank, R.C., Wogan, G.N., Gibson, J.B. and Nondasuta, A.: Dietary aflatoxins and human liver cancer. II. Aflatoxins in market food and foodstuffs of Thailand and Hongkong, *Food Cosmet. Toxicol.* 10:61, 1972.
- 10- Wogan, G.N.: Aflatoxin carcinogenesis Advances in cancer Research, Academic press. vol.VII, s.309, New York 1973.

- 11- Alpert, M.E., Hutt, M.S.R., and Davidson, C.S.: Hepatoma In Uganda. *Lancet* 1265, 1968.
- 12- Alpert, M.E., Hutt, M.S.R., Wogan, G.N., and Davidson, C.S.: Association between aflatoxin content of food and hepatoma frequency in Uganda. *Cancer*. 28:253, 1971.
- 13- Alpert, M.E., Hutt, M.S.R., Wogan, G.N. and Davidson, C.S.: Aflatoxin and hepatoma, *Gastroenterology* 62:1094, 1972
- 14- Oettle, A.G.: Cancer in Africa, especially in Regions south of the Sahara. *J. Nat. Cancer. Inst.* 33: 383, 1964.
- 15- Shank, R.C., Bhamaraprat, N., Gordon, J.S. and Wogan, G.N.: Dietary aflatoxins and human liver cancer. IV. Incidence of primary cancer in two municipal population of Thailand, *Food Cosmet. Toxicol.* 10: 71, 1972.
- 16- Shotwell, O.L., Kwolek, W.F., Goulden, M.L., Jackson, L.K., and Hesselstine, C.W.: Aflatoxin cocurrence in some white corn under loan 1971, incidence and level. *Cereal chem.* 52(3): 373, 1975.
- 17- Shotwell, O.L., Shannon, G.M. and Hesselstine, C.W.: Aflatoxin cocurrence in some white corn under loan 1971, II. Effectiveness of rapid test in segregation contaminated corn, *Cereal chem.* 52(3): 381, 1975.
- 18- Oser, B.L.: Regulatory aspects of control of mycotoxins, L.A. Goldblatt, Academic Press. New York and London. P: 393-400, 1969.
- 19- Wessel, JR.: Proposed tolerance for aflatoxin in peanuts. Aflatoxin quality control seminar notes. Chicago, Illinois, 1974.
- 20- Akşehirli, M., Bozkurt, M.: Menleketinizde fındık, fıstık badem içi, cevizlerde aflatoksin(mikotoksin) bakımından bir araştırma. *Türk Hij. Tec. Biol. Derg.*, 29: 103, 1969.

- 21- Bozkurt, M.A.: Study on aflatoxin in Turkish pistachis Nuts. Türk Hij. Tec. Biol.Der. 32:221, 1972.
- 22- Güray, Ö., Vural,N.: Mikotoksinle meydana gelen besin zehirlenmeleri üzerine aflatoksinler üzerine bir araştırma. I.Ankara Tıp Fak.Mec.,21:1030, 1968.
- 23- Güray,Ö., Arat,M., Yılmaz,G.: Mikotoksinlerle meydana gelen besin zehirlenmeleri üzerine aflatoksinlerle bir çalışma. II. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, cilt: 8, sayı: 4, 129-143, 1978.
- 24- Köşker,Ö.: Besinlerde oluşan mikotoksinler ve halk sağlığı. Top.Mah.Ofisi Dergisi. 17: 7-9, 1975.
- 25- Aşkın, C., Denizel,T., Köşker, Ö.: Kuru incir ve ezmelelerinde bulunan küflerin izalasyon ve idantifikasyonları üzerine araştırmalar. Ank.Üniv.Ziraat Fak.Yıllığı. 27: 1 , 50-63, 1977.
- 26- Atlı, A., Köşker,Ö.: Buğday, un ve ekmekte aflatoksin oluşumu ve stabilitesi üzerinde araştırmalar.Ankara Üniv. Ziraat Fak.Diploma sonrası yüksek okulu İht. Tez. özetleri. Ayrı basım.Ank.Üniv.Basımevi,Ankara 1980.
- 27- Arda,M.: Mikoloji(Genel ve Özel).Ank.Üniv.Veteriner Fak. Yayınları. 366,Ank.Üniv.Basımevi, Ankara, 1980.
- 28- Conant,N.F., Smith, D.T., Baker, R.D. and Callaway,J.L.: Manual of Clinical Mycology. Third Edition. W.B. Saunders company. Philadelphia-London-Toronto,1971.
- 29- Çetin, E.T.: Genel ve Pratik Mikrobiyoloji, İstanbul Üniv. İst.Tıp Fak.Mikrobiyoloji Tropikal Hastalıkları ve Parazitoloji Kürsüsü, 755-815, 750-752, Sermes Matbaası. İstanbul, 1973.
- 30- Bothast,R.J. and Hesselstine, C.W.: Bright Greenish-Yellow fluorences and aflatoxin in agricultural commodities. Appl. Microbiol. 30(2): 337, 1975.
- 31- Hesselstine, C.W.: Solide state fermentations. Biotechnol. Bioeng. 14: 517, 1972.

- 32- Hesseltine, C.W., Schotwell, O.L., Ellis, J.J. and Stubblefield, R.D.: Aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. *Bacteriol Rev*, 30:759, 1966.
- 33- Stubblefield, R.D., Shotwell, O.L., Hesseltine, C.W., Smith, M.L. and Hall, H.H.: Production of aflatoxin on wheat and oats; Measurement with a recording densitometer. *Appl. Microbiol.* 15:186, 1967.
- 34- Allcroft, R., Carnofhan, R.B.A.: Groundnut Toxicity. *Aspergillus flavus* toxin (aflatoxin) in animal products. Preliminary communication. *Vet. Rec.* 74, 863-864, 1962.
- 35- Allcroft, R., Cornaghan, R.B.A.: Groundnut toxicity. An examination for toxin in human food products from animals fed toxic groundnut meal. *Vet. Rec.* 75, 259-263, 1963.
- 36- Marthe, H.: Aflatoxin and mycotoxins in agricultural products. *Milk Food Tech.*, 30:192, 1967.
- 37- Pons, W.A. Jr. and Goldblatt, L.A.: The determination of aflatoxins in cotton seed products. *J. Amer. Oil Chemst. Sec.* 42(6): 471, 1965.
- 38- Tulpule, T.B.: Effects of aflatoxin in young monkey. *Lancet*, I: 292, 1964.
- 39- Buttler, W.H., Barnes, J.M.: Toxic effects of groundnut meal containing aflatoxins on and guinea pigs. *Brit. J. cancer*, 18:695, 1963.
- 40- Raper, K.B. and Fennel, D.I.: *The Genus Aspergillus*. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, p:686, 1965.
- 41- Jones, B.D.: *Methods of aflatoxin analysis*. Tropical Products Institute. London, 1972.
- 42- Stack, M.E. and Pohland, A.E.: Collaborative study of a method for chemical confirmation of the identity of aflatoxin. *Journal of the A.O.A.C.* 58:110-113, 1975.
- 43- Demirer, A.M.: Bazı peynirlerimizden izole ettiğimiz küflenmeler ve bunların aflatoksin yeteneklerinin araştırılması. *A.Ü. Tıp Fak. Der. XXI.* (1-2):180-198, 1974.

- 44- Denizel,T. ve Köşker,Ö.: A mycological survey of various kinds of edible nuts commercially to mycotoxins.
- 45- Karahan,O., Güvener,A.,Dündar,F.,Dinç,N.,Biçici,M.,Çakır B., Bilgin,A.: Fındık,Antep fıstığı ve yer fıstığı mahsüllerinde aflatoksin oluşturan etmenler ve oluşumunu etkileyen faktörler ile buna karşı alınacak korunma tedbirlerinin tesbiti üzerinde araştırmalar. Ortak proje sonuç raporu, 1976.
- 46- Denizel,T., Jarvis,B., and Rolfe,E.J.: Afield survey of pistachio(*Pistacia vera*) nut production and storage in Turkey with particular reference to aflatoxin contamination. *J.Sci.Fd.Agric* 27:1021-1026, 1976.
- 47- Mori,M., Takahashi,T., Onoune,Y. and Aibara,K.: Fungal contamination of cereals, and cereal products, and aflatoxin production by isolated *Aspergillus flavus* *Jornal of the Food Hygienic Society of Japan.* 15: 94-99, 1974.
- 48- Eser,S.R., Kumova,B.,Sivas,S.: Bulgurların aflatoksin yapan *Aspergillus*larla infekte olmaları hakkında. *Cerrah Paşa Tıp Fak.Der.* 9:213, 1978.
- 49- Doupnik,B.: Maize seed predisposed to fungal invasion and aflatoxin contamination by *helminthosporium maydis* ear rot. *Phytopathology*, 62:1367,1972.
- 50- Fennel, D.I., Bothast,R.J., Lillehoj, E.B., and Peterson, R.E.: Bright greenish-yellow fluorescence and associated fungi in white corn naturally contaminated with aflatoxin. *Cereal. Chems.* 50: 404, 1973.
- 51- Rambo,G.W., Tuite,J. and Coldwell,R.W.: *Aspergillus flavus* and aflatoxin in preharvest corn from Indiana in 1971 and 1972. *Cereal. Chem.* 51:595,848, 1974.