



ÜNYE TİCARET BORSASI
FINDIKTA AFLATOKSİN ANALİZİ

HAZIRLAYANLAR

TURGUT KURT

HALİL İBRAHİM AKSOY

ÜNYE
2006

FINDIKTA AFLATOKSİN ANALİZİ

1. GİRİŞ	3
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
3. AFLATOKSİN HAKKINDA GENEL BİLGİ	4
4. AFLATOKSİNİN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ	5
5. FINDIKTA AFLATOKSİN	6
6. MATERYAL VE METOD	7
6.1. MATERYAL	7
6.2.METOD	7
6.2.1. AFLATOKSİN ANALİZİ	7
7. BULGULAR VE TARTIŞMA	8
7.1. KİMYASAL ANALİZ BULGULARI VE TARTIŞMA	8
8. FINDIKTA AFLATOKSİNİ ÖNLEME YOLLARI	10
9. SONUÇ	11
10. KAYNAKLAR	12

1. GİRİŞ

Küfler bazı ürünlerin elde edilmesinde ve yine bazı gıda maddelerinin olgunlaştırılmasında kullanılmasının yanı sıra oluşturdukları toksik etkili maddelerle günümüzde üzerinde en çok durulan mikroorganizmalar arasında yer almaktadır.

Doğada geniş bir dağılım gösteren küflerin parazit, saprofit ve simbiyotik olarak yaşamlarını sürdürdükleri bilinmektedir. Çok sayıda küflerin insanların sağlığını tehdit ettiği yapılan çalışmalarla saptanmıştır (Evren, 1999).

Küflerin insan sağlığına etkileri 2 şekilde olmaktadır. Küflerle doğrudan temas süratiyle belirlenen hastalıklar “Mikosiz”, Mikotoksinlerle intoksikasyon sonucu oluşan hastalıklara da “Mikotoksikoz” denir. Bilinen en tehlikeli mikotoksinler ise aflatoksinlerdir (Evren, 1998).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Fındıkta aflatoksin ile ilgili birçok araştırma yapılmış olup, yapılan bu araştırmalardan ve kaynakların bazılarında yararlanılmıştır.

Türkiye’de ilk defa, 1967 yılında Kanada’ya ihraç edilen 10 ton iç fındığın aflatoksinli olduğu gerekçesiyle iade edilmesi üzerine, bu konuda çalışmalar başlamıştır. Güney ve Vural (1968), Kanada’dan geri gönderilen bu fındıklar ile Ankara piyasasından toplanan 26 iç fındık numunesinin %20’sinde aflatoksin saptamışlardır (Sert, 1983). Yapılan bir denemede incelenen kabuklu fındık örneklerinin kabuk ve iç kısımlarından toplam 72 adet A. flavus izole edilmiştir. Bunlardan 18’i besiyeri ve fındıkta, 17’si ise yalnız fındık üzerinde aflatoksin oluşturmuştur. Böylece toplam 35 izolatın toksijenik olduğu saptanmıştır. Örneklerde 2-25 mg/kg arasında değişen miktarlarda aflatoksin B1 ve G1 saptanmıştır (Evren; 1998).

Fındıklarda aflatoksin gelişimi ile ilgili bir araştırmada izole edilen 130 A.flavus suşunun 85’inin toksin oluşturma yeteneğinde olduğu belirlenmiştir. Yine fındıklarda aflatoksin oluşumu ile ilgili bir araştırmada 91 suşla çalışılmış ve 80 tanesini aflatoksin oluşturduğu belirlenmiştir.

Sağlam ve kabuklu fındıkta A. flavus’un penetrasyonu ve toksin oluşumu ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada A. flavus türü küflerin sağlam kabuklu fındıkta iç taneye geçip

geçmediği incelenmiştir. Fındıklarda 60 gün içinde oluşan aflatoksin miktarı 0-280.000 mg/kg (B+G) arasında değişmiştir (Evren, 1998).

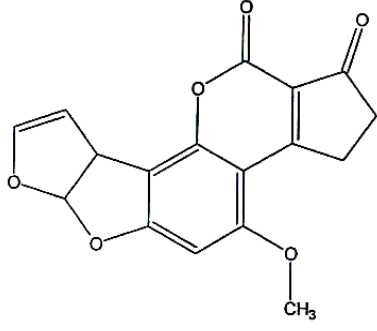
3. AFLATOKSİNLER HAKKINDA GENEL BİLGİ

Aflatoksinler, hücre veya mikroorganizma için belirli fonksiyonları olmayan sekonder metabolitlerdir. Kimyasal yapı olarak bifuran halkası ve lakton bağlantısı taşıyan yüksek yapılı “kumarin” bileşiklerdir. difurono kumarin olarakta bilinirler (Özen ve Erdem, 1990). Aflatoksinler *A. flavus* ve *A. paraciticus* cinsi küflerin belirli suşlarınca oluşturulan kanserojen etkili metabolitlerdir (Evren, 1998).

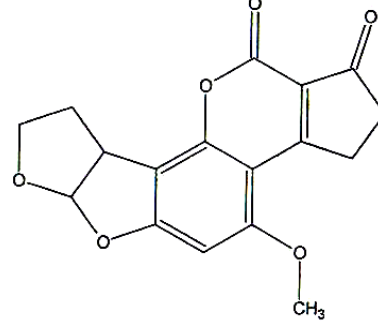
Günümüze kadar tümü aflatoksin olarak kabul edilen 17 bileşik izole edilmiştir. Ancak aflatoksin terimi, genellikle aflatoksin B1, B2, G1, G2 ve M1, M2 olarak 6 ana bileşiği kapsar.

Aflatoksinlerin bu şekilde adlandırılmaları uzun dalga boyundaki UV ışıkta floresan yayma özelliklerine göre yapılmıştır. Mavi floresan yayan aflatoksin B1 ve B2, yeşil floresan yayan aflatoksin G1 ve G2 aflatoksin M1 ve M2 ise bunların süte (milk) geçen metabolitleridir (Özen ve Erdem, 1990).

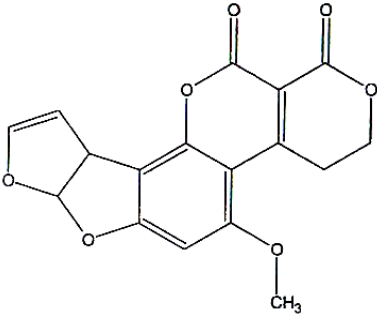
A. flavus genellikle aflatoksin B’yi tarla aşamasında (hasattan önce) sıklıklı ürettiği halde, *A. Paraciticus* aflatoksin B ve G’yi üretmektedir (Topal, 1987).



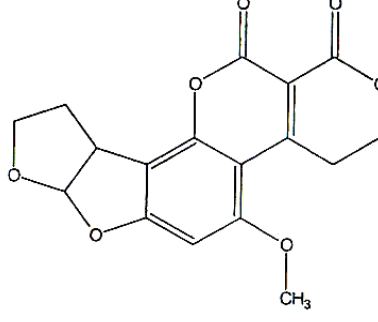
Aflatoxin B₁
AFB₁



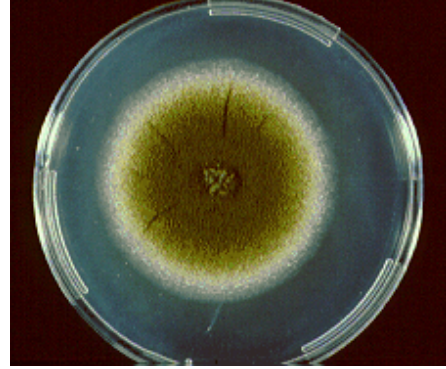
Aflatoxin B₂
AFB₂



Aflatoxin G₁
AFG₁



Aflatoxin G₂
AFG₂



4. AFLATOKSİNLERİN SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ

Aflatoxinlerin mutajenik, karsinojenik, teratojenik ve akut toksisite etkileri deneysel olarak ve ayrıca evcil hayvan ve insanlarda da gözlenmiştir. En çok etkili olduğu organ karaciğer olup, karaciğer hücre çekirdeğindeki DNA ve RNA sentezleme olaylarını, dolayısıyla bazı metabolik sistemleri etkilemektedir (Toral, 1987).

DNA ve RNA polimerazlar hızlı bir inhibisyona uğrarlar. Özellikle mRNA sentezindeki değişikliklerden etkilenerek protein sentezi önemli derecede bozulur. DNA'ya bağlı RNA sentezi ve bazı proteinlerin sentezi azalarak hücrenin ölümüne neden olur.

Kolayca yaralanma ve kanamalara yol açmaktadır. Kılcal kan damarlarının dayanıklılığını azaltarak yaralanmalara ortam hazırlarlar. Dokuların dayanıklılık ve bütünlüğünü bozarak, kan pıhtılaşmasını sağlayan maddelerin azalmasına neden olur.

Bağışıklık sistemi üzerine etkiler vardır. Hayvana enjekte edilen antijenlere karşı antizarların oluşumu yavaşlatır.

Hayvansal ürünlerde mutagenik birikimi insan sağlığı açısından çok önemlidir. Aflatoksinlerin önde gelen kronik etkileri kanser yapabilmektedir. Bunun yanında, doğuştan veya sonradan vücut bozukluklarına yol açabilir, hatta kalıtsal yapıda değişmelere neden olabilir; yani teratogenik ve mutagenik etkiler vardır.

İnsanlar için öldürücü dozun ne olduğu kesin olarak saptanamamıştır. Dünya Gıda ve tarım Örgütü (FAO) ile Sağlık Örgütü (WHO) 1966'da yiyecekleri aflatoksin yoğunluğunun 30mg/kg'ı geçmemesi gerektiği konusunda ortak karara varmışlardır. Amerika Gıda ve İlaç Yönetimi'ne (FDA) göre ise bu değer 20 ppb olmalıdır (Erdem ve Özen, 1980).

Aflatoksinler, insanlarda akut ve kronik etkilerle kendini göstermektedir.

1) AKUT ETKİLERİ

Bu şekilde zehirlenme belirtileri çok fazla değildir. Aflatoksinin akut toksisitesi üzerine yapılan araştırmalar, en kuvvetli etkiye B1 tipinin sahip olduğunu göstermiştir (Evren, 1998).

Akut zehirlenmelerde mukoz membranlarla sarılık ve fazla sayıda kanama olanları görülür. Karaciğerde yaygın olarak sentrilobuler nekrozlar ve yağ birikim oluşur (Erdem ve Özen, 1990).

2) KRONİK ETKİLERİ

Gıda ile uzun süre aflatoksin alınırsa görülür. Sıcak bölgelerde risk oldukça yüksektir. Kronik hastalıklar olara primer karaciğer kanseri, kalın bağırsak kanseri, karaciğer sirozu ve hepatit, mide kanseri, akciğer kanseri ve karaciğer başta olmak üzere iç organlarda yağlı dejenerasyonla beliren reys sendromu olarak belirtilebilir (Evren, 1998).

5. FINDIKTA AFLATOKSİN

Sert kabuklu meyveler olarak adlandırılan fındık ve benzeri ürünler ağaç üzerinde gelişmekte ve sert bir kabuk tarafından korunmaktadır. Sert kabuk nedeniyle bu ürünler diğerlerine göre küf bulaşmasından daha az etkilenmektedir. Ancak zaman zaman küflerin gelişerek bozulmalara neden olduğu ve mikotoksin oluşturduğu görülmektedir.

Aflatoksin oluşumuna hassas olarak kabul edilen kabuklu kuru meyvelerin *Aspergillus flavus* türü gibi toksin oluşturucu küf mantarları tarafından bulaşması esas olarak işleme ve depolama sırasında gerçekleşmekle beraber zaman zaman bahçede de meydana gelmektedir. Nitekim yapılan çalışmalarda *A. flavus* cinsi küflerin gelişme gösterdiği belirlenmiştir.

Dış kabukta zedelenme varsa iç fındıkta da *A. flavus*un geliştiği aflatoksin oluşumunun sadece *A. flavus* gelişmesi saptanan örneklerde harman ve depolanma aşamalarında görüldüğü, tanelerde aflatoksin dağılımının homojen olmayıp, bazı tanelerde yüksek miktarlara ulaştığı belirtilmektedir. Nitekim aflatoksin analizi ile ilgili yapılan çalışmalarda da örnekler heterojen özellikte olduğundan dolayı iyi bir örnekleme yapılması için tüm partiyi temsil edebilecek şekilde örneğin alınması gerektiği bildirilmektedir (Evren, 1999).

Aflatoksin numune alma miktarları;

Partinin Ağırlığı (TON)	Numune Ağırlığı (kg)	Ayrılan Torba Miktarı (kg)
≤ 0,1 (100 kg)	3 kg	1,5-1,5
> 0,1 - ≤ 0,2 (100-200kg)	4,5 kg	2,25 – 2,25
> 0,2 - ≤ 0,5 (200-500kg)	6 kg	3-3
> 0,5 - ≤ 1 (500-1000kg)	9 kg	4,5 - 4,5
> 1 - ≤ 2 (1000-2000kg)	12 kg	6 – 6
> 2 - ≤ 5 (2000-5000kg)	18 kg	9 – 9
> 5 - ≤ 10 (5000-10.000)	24 kg	12 – 12
> 10 - ≤ 15 (10.000-15.000)	30 kg	15 – 15

(Poyraz Tarımsal)

6. MATERYAL VE METOD

6.1. Materyal

Araştırma materyali olarak Ordu'da çeşitli tipte satışı sunulan natural iç fındık (13-15 mm), Kıyılmış fındık (2-4 mm) ve füre (püre) örnekleri analiz edilmiştir.

6.2. Metod

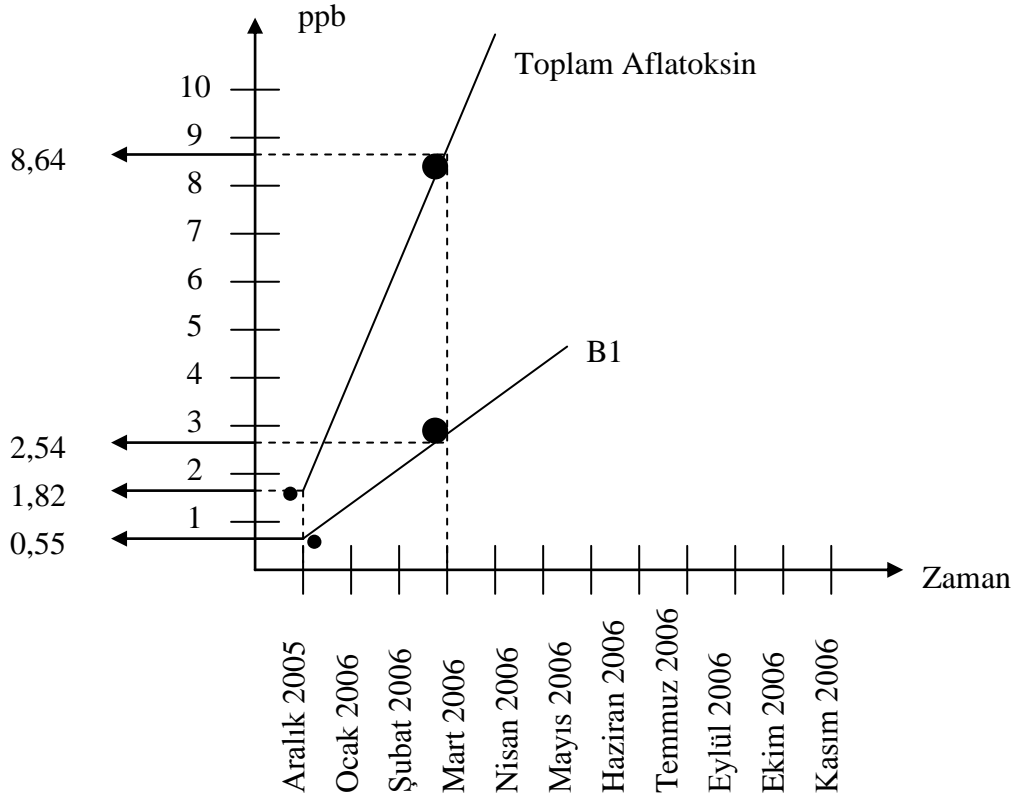
6.2.1 Aflatoksin analizi

- * 50 gram numune ve 4 gram NaCl blendırda tartılır.
- * Üzerine 100 ml saf su ilave edilir ve 1 dk çırpılır.
- * Daha sonra üzerine 150 ml metanol ilave edilerek 2 dk çırpılır ve süre sonunda filtre kağıdı ile erler içerisine süzülür.
- * Ayrı bir yerde 100 ml'lik balonjoje içine 1 adet PBS tablet atılır, üzerine çizgisine kadar saf su ilave edilerek eriyene kadar beklenir.
- * 50 ml'lik beher içerisine süzüntüden 5ml ve erimiş PBS'den 5ml konularak karıştırılır.
- * Cam haznenin ağzına kolon takılır ve süzme düzeneğine yerleştirilir.
- * Elde ettiğimiz karışım cam haznenin üzerine boşaltılır. Kolonun altta ağzı açılır ve 50ml'lik beher altına konularak süzüntüden içine boşalma sağlanır.
- * Damlalar sayılabilecek hızda olmalıdır (fazla olmamak kaydıyla gerektiğinde üstten basınç uygulanabilir).
- * Numunenin süzüntüsü bittikten sonra 3 kez üstten basınçla hava geçirilir ve cam hazneye 20ml saf su konularak onunda süzülmesi sağlanır.
- * Saf suyunda süzülmesinden sonra tekrar 3 kez hava geçirilir.
- * Daha sonra cam haznenin içinde kalan su baş aşağı vurularak akıtılır.
- * Alttaki beher kaldırılır ve kahverengi viol onun yerine konulur.
- * Cam hazneye bu kez 1ml metanol konulur ve süzülmesi beklenir (Metanol aflatoksin çözücüdür).
- * Bu şekilde kolonun ağzında bulunan aflatoksin tutucu kısımdaki toksin metanol sayesinde kahverengi viole geçer. 3 kez üstten basınçla hava geçirilir.
- * Süzürtü bittikten sonra cam hazneye 1ml saf su ilave edilir ve üstten basınç yapılarak direkt akması sağlanır. 3 kez hava geçirilir.
- * Kahverengi violdeki karışım karıştırılarak auto-sampler violine aktarılır ve cihazdaki yerine yerleştirilir (Poyraz Tarımsal).

7. BULGULAR VE TARTIŞMA

7.1. Kimyasal Analiz Bulguları ve Tartışması

Füre (püre) için yapılan analiz grafiği sonuçları;



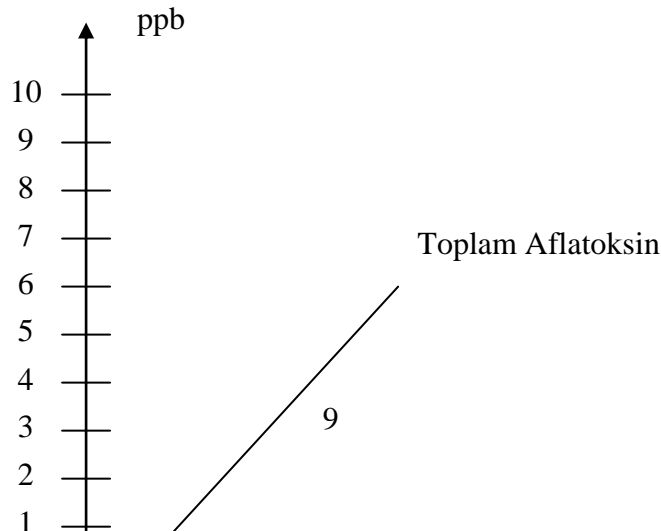
- Aralık 2005 – Mart 2006 tarihleri arasında yapılan aflatoksin analizinde Toplam aflatoksin 1,82 pp'den 8,64 ppb'ye çıkmıştır.

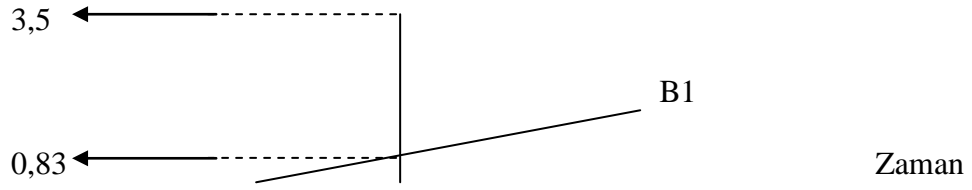
Aflatoksin B₁ için ise 0,55 ppb'den 2,54 ppb'ye bir artış gözlenmiştir.

Fürede aflatoksin artması; füre homojen ve yayımlı bir yapı olduğundan, Mikroorganizmalar sıcaklık ve oda koşulları gelişimine uygun olduğundan kimyasal ve biyokimyasal aktiviteleri artar böylece zamanla mikroorganizma etkisiyle toksin miktarı artar.

Örnek alırken de daha homojen bir yapı olduğundan füreye etki eden mikroorganizma sayısı artar diyebiliriz.

Kıyılmış fındık için yapılan analiz grafiği sonuçları;



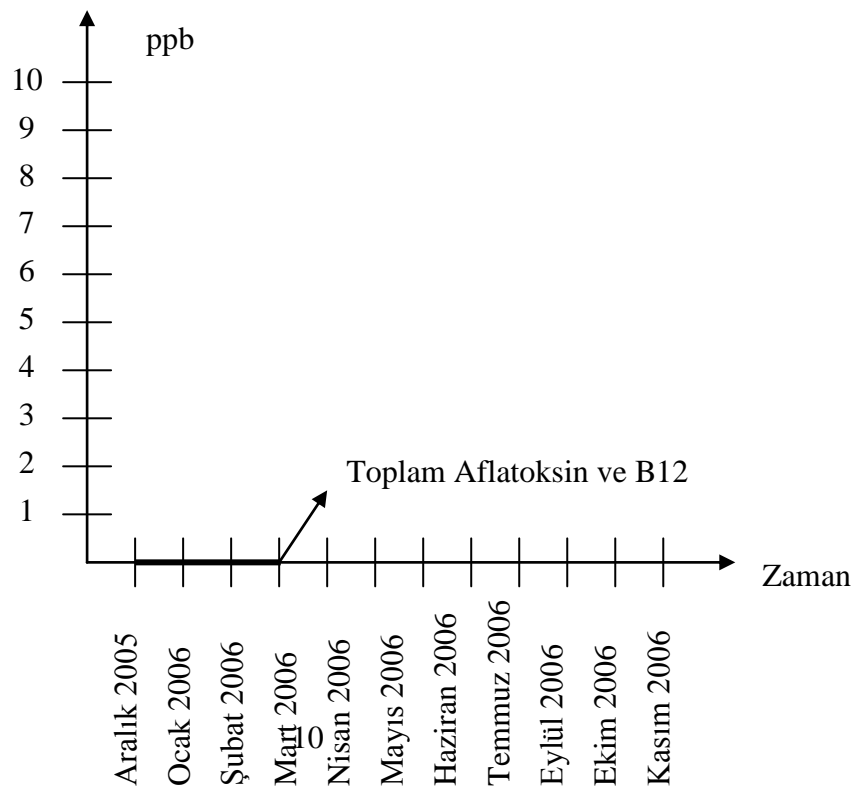


Aralık 2005 – Mart 2006 tarihleri arasında yapılan aflatoksin analizinde Toplam aflatoksin O ppb'den 3,5 ppb'ye çıkmıştır.

Aflatoksin B₁ için ise O ppb'den 0,83 ppb'ye bir artış gözlenmiştir.

Oda şartlarında 2 aylık depolama sonucunda Mikroorganizma gelişimi gözlenmiştir diyebiliriz.

Naturel kavrulmuş fındık için yapılan analiz grafiği sonuçları;



Aralık 2005 – Mart 2006 tarihleri arasında yapılan aflatoksin analizinde Hem B₁, hemde toplam aflatoksin 0 ppb olarak bulunmuştur.

Yani bu 2 aylık süreçte Mikroorganizma gelişimine rastlanmamıştır.

NOT: Analizi yapılan fındık örnekleri plastik kaplarda ve oda koşullarında bekletilmiştir.

Fındıkta aflatoksin sınır limiti ve denetim mekanizması;

Tüketici ülkeler ve dünya piyasaları kanserojen olan aflatoksin açısından riskli ürünlerde aflatoksin limitinin sifıra indirilmiş hedeflenmektedir. Bu hedef doğrultusunda bir çok ülkede aflatoksin B₁ limiti 5 ppb'den 2 ppb'ye fındıkta toplam aflatoksin (B₁ + B₂ + G₁ + G₂) 10 ppb'den 4 ppb'ye indirilmiştir (Fiskobirlik).

8. FINDIKTA AFLATOKSİNİ ÖNLEME YOLLARI

Fındıkta küf bulaşması ve mikotoksin dolayısıyla aflatoksin oluşumunu en düşük düzeye indirmek için aşağıda belirtilen önlemlerin alınması gerekmektedir.

- * Fındığın hasatında ergen veya geç kalınmaması, tam olgunlaştığı zaman toplanması,
- * Fındığın hasattan önce ağaç üzerinde, hasat ve hasattan sonraki tüm işlem aşamalarında dış kabuğunun çeşitli etkenler ile zedelenmesinin önlenmesi,
- * Küflerin en fazla toprakta bulunduğu dikkate alınarak fındığın toprakla temasının mümkün olduğunca kesilmesi, toprak yerine beton zemine serilerek kurutulması,
- * Yağışlı bölgelerde fındığın harmanda ıslanmasının önlenmesi,
- * Ürünün çiftçiden alırken, depolanmadan önce, nem oranını düşük tutulması,
- * Fındık üreticilerin sağlıklı ürün elde edebilmesi için hasattan depolanma işlemine kadar tüm işlem aşamalarında eğitilmesi,
- * Zedelenmiş, kırılmış, çürümüş kabuklu fındıklarının kırma fabrikasına girmeden önce ayıklanması ve kırma fabrikasının her kırım işleminden önce ve sonra formaldehit ve benzeri maddelerle dezenfekte edilmesi,
- * Genelde ülkemizde uygulanan yığma şeklinde depolama yerine, fındığın çuvallar içinde belirli aralıklı olacak şekilde depolanması,
- * Depolarda havalandırma düzeneğini sağlanması ve zarar verici çeşitli hayvan ve zararlılarla mücadele edilmesi,

- * Depolamadan önce üründe hem miktarının kontrol edilmesi,
- * Küflerin gelişimi için gerekli olan nem, sıcaklık ve O2 miktarlarını kontrol altına alınarak kontrollü atmosfer şartlarında depolama yapılmasıdır (Evren, 1999).

9. SONUÇ

Herhangi bir üründe mikotoksin probleminin çözümünde izlenecek ilk yol bulaşmanın ne zaman ve nasıl olduğunun anlaşılmasıdır. (Evren, 1998) Fındıkta aflotoksin gelişmesini engellenmesi için başta aflatoksin oluşturucu olarak bilinen *A.flavus* ve *A. paraciticus* türlerini yanı sıra genelde küf bulaşmasının önlenmesi gerekmektedir. (Evren, 1999)

Özellikle depolarda havalandırma işlemi çok iyi bir şekilde yapılmalıdır. Depolar amaca uygun olarak ürünü dış ortamdan iyi bir şekilde tecrit edebilecek özellikle olmalıdır (Evren, 1998).

Sonuç olarak hasattan itibaren yapılan bütün işlemlere özen gösterilmelidir.

10. KAYNAKLAR

- Evren, M. 1998 Aflatoksinlerin Etki Şekilleri, Gıdalarda Bulunma Durumları ve Önleme Çareleri, OMÜ Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Samsun.
- Özen, N. ve Erdem, H. 1990. Aflatoksinlerin İnsan ve Hayvan Sağlığı Açısından Önemi, OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, Cilt 5, No: 1-2 Samsun.
- Evren, M. 1999 Fındıkta Aflatoksin Sorunu, OMÜ, Ziraat Fakültesi, Karadeniz Bölgesi Tarım Sempozyumu, Araştırma Seri No: 5, 579-588.
- Topal, Ş. 1987 Bazı önemli Mikotoksinler ve Özellikleri. TÜGAM-MAĞ-GEBZE.
- Sert, S. 1983 Gıda ve Yem maddelerinde Aflatoksinler, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ziraat dergisi Cilt 14, sayı 3-4.
- Fiskobirlik. www.fiskobirlik.org.tr/findik-ve-aflatoksin.htm.