

**T.C.  
HİTİT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BADEMLERDE AFLATOKSİN VARLIĞININ  
BELİRLENMESİ**

**Tuğçe KANIK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Bülent KABAK**

**TEMMUZ 2018  
ÇORUM**

Tuğçe KANIK tarafından hazırlanan “Bademlerde Aflatoksin Varlığının Belirlenmesi” adlı tez çalışması 25/07/2018 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Bülent KABAK



Doç. Dr. Fatih ÖZBEY



Dr. Öğr. Üyesi Özgür GÖLGE



Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun 10/08/2018 tarih ve 2018/196 sayılı kararı ile Tuğçe KANIK’ın Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.



Doç. Dr. Cengiz BAYKASOĞLU  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEZ BEYANI

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını beyan ederim.

Tuğçe KANIK



## BADEMLERDE AFLATOKSİN VARLIĞININ BELİRLENMESİ

Tuğçe KANIK

HİTİT ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2018

### ÖZET

Bu çalışmada, Çorum ve İstanbul'da faaliyet gösteren çeşitli satış noktalarından rastgele satın alınan 30 adet kavrulmamış (çiğ) ve 50 adet kavrulmuş badem örneğinde aflatoksinler (AFs)'in varlığı ve miktarı belirlenmiştir. AFs'in analizinde floresans detektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-FLD) yöntemi kullanılmıştır. AFs analizinde kullanılan analiz yönteminin validasyonu amacıyla tespit limiti (LOD), ölçüm limiti (LOQ), geri kazanım ve tekrarlanabilirlik değerleri belirlenmiştir. Aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), aflatoksin B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>), aflatoksin G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>) ve aflatoksin G<sub>2</sub> (AFG<sub>2</sub>)'nin LOD değerleri 0,053–0,070 µg kg<sup>-1</sup> arasında, LOQ değerleri ise 0,177–0,234 µg kg<sup>-1</sup> arasında bulunmuştur. AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub>'nin geri kazanım oranları % 88,4–92,9 arasında değişiklik göstermiştir. AFs'in tekrarlanabilirlik değerleri ise % 2,8–5,8 arasında bulunmuştur.

AFs, badem örneklerinin % 85'inde tespit edilememiştir. 80 adet kabuksuz badem örneğinin 12'sinde (% 15) ise, 0,118–0,508 µg kg<sup>-1</sup> arasında değişen miktarlarda AFs saptanmıştır. Aflatoksin tespit edilen örneklerin 3'ü çiğ badem iken, 9'u kavrulmuş bademdir. Badem örneklerinin hiç birinde Avrupa Birliği (AB) ve Türk Gıda Kodeksi (TGK) Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirtilen maksimum limit (ML) değerlerinin (AFB<sub>1</sub> için 8 µg kg<sup>-1</sup>, toplam AFs için 10 µg kg<sup>-1</sup>) üzerinde AFB<sub>1</sub> veya toplam AFs'e rastlanmamıştır. Kontamineli badem örneklerinin tümünde (12 adet) AFB<sub>1</sub> bulunurken, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> yalnızca bir örnekte (% 1,3) saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler :** Mikotoksin, Aflatoksin, Badem, HPLC-FLD

## OCCURRENCE OF AFLATOXINS IN ALMONDS

Tuğçe KANIK

HITIT UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

July 2018

### ABSTRACT

In this research, the occurrence and levels of aflatoxins (AFs) were determined in 30 raw and 50 roasted almonds purchased randomly from different retail shops in Corum and Istanbul. High performance liquid chromatography coupled with fluorescence detector (HPLC-FLD) was used for the determination of AFs. The analytical method used for AFs analysis was validated in terms of limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), recovery and repeatability. The LOD values of AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> and AFG<sub>2</sub> ranged between 0,053 and 0,070 µg kg<sup>-1</sup>. However, the LOQ values of AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> and AFG<sub>2</sub> ranged from 0,177 µg kg<sup>-1</sup> to 0,234 µg kg<sup>-1</sup>. The recovery of AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> and AFG<sub>2</sub> varied from 88,4 to 92,9 %. The repeatabilities of AFs ranged from 2,8 to 5,8 %.

No AFs were detected in 85 % of almonds. AFs were found in 12 out of 80 almonds (15 %) at levels ranging from 0,118 to 0,508 µg kg<sup>-1</sup>. AFs were detected in 3 raw almonds and 9 roasted almonds. None of the almond samples contained AFB<sub>1</sub> or total AFs at levels higher than maximum limit (ML) established by European Commission and Turkish Food Codex Regulations (for AFB<sub>1</sub>: 8 µg kg<sup>-1</sup>, for total AFs: 10 µg kg<sup>-1</sup>). While AFB<sub>1</sub> was found in all contaminated almond samples (n= 12), AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, and AFG<sub>2</sub> were detected only in one sample (1,3 %).

**Keywords :** Mycotoxin, Aflatoxin, Almond, HPLC-FLD

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans dönemim boyunca her türlü desteğini, bilgisini ve deneyimlerini hiçbir zaman benden esirgemeyen, her konuda yol gösterici olan, kendisinden çok şey öğrendiğim çok değerli bilim insanı danışman hocam Doç. Dr. Bülent KABAK'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca her zaman maddi ve manevi olarak yanımda hissettiğim en büyük destekçilerim olan ailem ve arkadaşım Ali MERMETAŐ'a ve emeği geçen herkese sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.



Bu tez çalışmasına, MUH19004.18.002 numaralı proje kapsamında vermiş oldukları destekten dolayı, Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

**İÇİNDEKİLER**

	<b>Sayfa</b>
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
RESİMLER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ .....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1. Badem Hakkında Genel Bilgi.....	4
2.1.1. Bademin sınıflandırılması.....	6
2.1.2. Bademin besinsel bileşimi .....	9
2.1.3. Badem üretim, tüketim, ihracat ve ithalat değerleri.....	11
2.1.4. Badem zararlıları ve bademlerde görülen hastalıklar .....	13
2.2. Küfler Hakkında Genel Bilgi.....	15
2.3. Mikotoksinler .....	17
2.4. AFs .....	23
2.4.1. AFs'in kimyasal yapıları ve özellikleri.....	25
2.4.2. AFs'in sağlık üzerine etkileri.....	26
2.4.3. AFs'in yasal limitleri .....	29
2.4.4. Aflatoksin analiz yöntemleri.....	30



2.4.5. AFs açısından riskli gıda maddeleri.....	33
2.4.6. Bademde aflatoksin varlığı konusunda yapılan çalışmalar.....	34
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	37
3.1. Materyal.....	37
3.1.1. Badem .....	37
3.1.2. Kimyasal maddeler .....	38
3.1.3. Aflatoksin standardı.....	38
3.1.4. IAC.....	38
3.1.5. PBS hazırlanması.....	38
3.1.6. Aflatoksin standardının hazırlanması .....	39
3.2. Yöntem .....	39
3.2.1. Ekstraksiyon.....	39
3.2.2. HPLC-FLD analizi.....	40
3.2.3. Metot validasyonu.....	41
3.2.4. Maruz kalma düzeyi hesaplaması .....	42
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	43
4.1. Metot Performansının Değerlendirilmesi .....	43
4.2. Bademlerde Aflatoksin Varlığı/Miktarı .....	45
4.3. Maruziyet Değerlendirilmesi.....	50
5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	51
KAYNAKLAR .....	54
ÖZGEÇMİŞ .....	61

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Bademlerin besinsel bileşimi .....	10
Çizelge 2.2. Ülkeler itibariyle dünya badem üretim miktarı.....	12
Çizelge 2.3. Doğada sıklıkla bulunan mikotoksin tipleri, üretici küfler ve riskli gıda maddeleri .....	18
Çizelge 2.4. Mikotoksinlerin karsinojenik sınıflandırılması.....	19
Çizelge 2.5. 2002–2017 yılları arasında RASFF sisteminde yer alan toplam bildirim sayıları (tehlike gruplarına göre) .....	22
Çizelge 2.6. TGK AFs için gıdalardaki maksimum limitler .....	30
Çizelge 4.1. AFs için lineerite verileri .....	44
Çizelge 4.2. AFs için LOD, LOQ, geri kazanım ve tekrarlanabilirlik değerleri .....	45
Çizelge 4.3. Badem örneklerinde AFs'in varlığı ve miktarı.....	46

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. 2002–2017 yılları arasında ülkemiz orijinli gıda ürünleri kaynaklı RASFF bildirim oranları .....	22
Şekil 2.2. AFs'in kimyasal yapıları .....	26
Şekil 2.3. AFB <sub>1</sub> 'in metabolize edilmesi sonucu oluşan bileşiklerin toksik ve kanserojenik aktivitesi.....	28
Şekil 4.1. HPLC-FLD kromatogramı (1 µg l <sup>-1</sup> AFB <sub>1</sub> , 0,3 µg l <sup>-1</sup> AFB <sub>2</sub> , 1 µg l <sup>-1</sup> AFG <sub>1</sub> ve 0,3 µg l <sup>-1</sup> AFG <sub>2</sub> ) .....	43
Şekil 4.2. AFs için kalibrasyon eğrileri.....	44
Şekil 4.3. AFB <sub>1</sub> ile kontamine olmuş kavulmuş badem örneğine ait HPLC-FLD kromatogramı .....	46
Şekil 4.4. AFB <sub>1</sub> ile kontamine kavrulmamış badem örneğine ait HPLC-FLD kromatogramı .....	47
Şekil 4.5. Aflatoksin içermeyen badem örneğine ait HPLC-FLD kromatogramı .....	47
Şekil 4.6. AFB <sub>1</sub> , AFB <sub>2</sub> , AFG <sub>1</sub> ve AFG <sub>2</sub> içeren kavrulmamış badem örneğine ait HPLC-FLD kromatogramı .....	47

**RESİMLER DİZİNİ**

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
Resim 2.1. Badem meyvesinin görüntüsü .....	5
Resim 3.1. Partikül boyutu küçültülmüş badem örnekleri .....	37
Resim 3.2. AFs'in analizlerinde kullanılan HPLC cihazı .....	41



**SİMGELER VE KISALTMALAR****Simgeler**

$\mu\text{g}$	Mikrogram
$\mu\text{l}$	Mikrolitre
$\mu\text{m}$	Mikrometre
$a_w$	Su aktivitesi
$\text{CO}_2$	Karbondioksit
dk.	Dakika
g	Gram
KBr	Potasyum Bromit
kg	Kilogram
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	Susuz Disodyum Hidrojen Fosfat
NaCl	Sodyum Klorür
ng	Nanogram
nm	Nanometre
OH	Hidroksil
$R^2$	Korelasyon Katsayısı
$R_F$	Yürüme Hızı
v.a.	Vücut Ağırlığı

**Kısaltmalar**

AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AFB <sub>1</sub>	Aflatoksin B <sub>1</sub>
AFB <sub>2</sub>	Aflatoksin B <sub>2</sub>
AFG <sub>1</sub>	Aflatoksin G <sub>1</sub>
AFG <sub>2</sub>	Aflatoksin G <sub>2</sub>
AFM <sub>1</sub>	Aflatoksin M <sub>1</sub>
AFM <sub>2</sub>	Aflatoksin M <sub>2</sub>
AFs	Aflatoksinler
AOAC	Amerikan Resmi Analitik Kimyacılar Birliği
DON	Deoksinivalenol
EC	Avrupa Komisyonu
EEA	Avrupa Ekonomik Bölge Ülkeleri
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
ELISA	Enzime Bağlı İmmunosorbent Analizi
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FB <sub>1</sub>	Fumonisin B <sub>1</sub>
FUM	Fumonisinler
GAP	İyi Tarım Uygulamaları
GC	Gaz Kromatografisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi

GMP	İyi Üretim Uygulamaları
GSP	İyi Depolama Uygulamaları
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HPLC-FLD	Floresans Detektörlü Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IAC	İmmunoaffinity Kolon
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
KKH	Koroner Kalp Hastalığı
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LOD	Tespit Limiti
LOQ	Ölçüm Limiti
ML	Maksimum Limit
OTA	Okratoksin A
PBS	Fosfat Tamponu Çözeltilisi
RASFF	Gıda ve Yem için Hızlı Uyarı Sistemi
RSD	Bağıl Standart Sapma
SD	Standart Sapma
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UV	Ultraviyole
ZEA	Zearalenon

## 1. GİRİŞ

Badem (*Prunus dulcis*), dünyanın ticari olarak üretilen önemli sert kabuklu meyve çeşitlerinden biridir. Ülkemizde yeşil kabuklu çağla devresinden itibaren tüketilen badem, içinin tam gelişmiş ve sertleşmiş olduğu devredeki haliyle daha fazla önem kazanmaktadır (Nizamlioğlu ve Nas, 2015). Badem, lipid (% 50'nin üzerinde), karbonhidrat (% 15), protein (% 13), diyet lif, vitamin (E vitamini, niasin, riboflavin vb.), çeşitli mineraller (potasyum, fosfor, magnezyum ve kalsiyum vb.) ve polifenol bakımından zengin bir besin kaynağıdır.

Tarım ürünleri içerisinde yüksek bir ekonomik değere sahip olan badem, dünyada yıllık 3 milyon tonun üzerinde üretilmektedir. Dünya badem üretiminin % 62,3'ü Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde gerçekleştirilirken, İspanya (% 6,3) ve İran (% 4,6) badem üretiminde diğer önde gelen ülkeler arasında yer almaktadır. Ülkemizde ise yıllık 85 000 ton civarında kabuklu badem üretimi söz konusu olup, bu üretim miktarı dünya badem üretim oranının % 2,6'sı civarındadır. Ülkemizde badem üretimi Muğla, Manisa, Balıkesir, Antalya ve Mersin illeri başta olmak üzere Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde yoğunlaşmış durumdadır.

Badem ağacı ve meyvesi yetiştirme süreci boyunca çok çeşitli zararlıların etkisiyle randıman kaybı, meyve içinin boşaltılması, meyvelerin ve ağaçların küçük kalması ve ileri safhada fidan ve ağaçların kuruması gibi hastalıklara maruz kalabilmektedir. Bununla birlikte, badem meyveleri hasat öncesi veya hasat sonrası depolama aşamasında çeşitli küflerin istilasına uğrayabilmektedir. Bu aşamada herhangi bir şekilde kabuk kısmı hasar görmüş bademler küf istilası bakımından önemli risk altındadır.

Hasat öncesi, hasat işlemi sırasında ve özellikle de hasat sonrası depolama aşamasında kontamine olan küflerden bazıları toksijenik karakter taşımakta olup, mikotoksin adı verilen toksik ve karsinojenik metabolit sentezleyebilmektedir. Mikotoksinler, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Claviceps* cinslerine ait olan türler başta olmak üzere çeşitli küfler tarafından sentezlenen



ikincil metabolizma ürünleridir. Doğada 100'ün üzerinde küf türü tarafından sentezlenen 400 kadar metabolitin toksik etkiye sahip olduğu ve dünyada yetiştirilen tarım ürünlerinin dörtte birinin mikotoksinlerle kontamine edildiği belirtilmektedir. Doğada bulunma sıklığı, ekonomik açıdan yarattığı sorunlar ve sağlık üzerine gösterdiği olumsuzluklar göz önüne alındığında en önemli mikotokin türleri aflatoksinler (AFs), okratoksin A (OTA), fumonisinler (FUM), T-2 toksin, HT-2 toksin, deoksinivalenol (DON), zearalenon (ZEA) ve patulin'dir. Mikotoksinler içerisinde insanlara karşı karsinojenik aktivite gösterdiği kanıtlanmış (grup 1) tek mikotoksin olması nedeniyle en tehlikelisi ve üzerinde en fazla durulanı AFs'dir.

Halk sağlığını ilgilendiren ve gelecek nesillerin de sağlığını tehdit eden önemli bir problem olan AFs, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius*'un toksijenik türleri tarafından sentezlenmektedir. Genotoksik karsinojenler olarak bilinen AFs içerisinde farklı kimyasal yapıya sahip 18 farklı form bulunmakla birlikte, doğada en sık rastlanılanları aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), aflatoksin B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>), aflatoksin G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>) ve aflatoksin G<sub>2</sub> (AFG<sub>2</sub>)'dir. AFs karsinojenik, mutajenik, teratojenik ve bağışıklık sistemini baskılayıcı etkiler gösterebilmekte olup, günümüzde tarımsal açıdan en önemli mikotoksinler olarak değerlendirilmektedir. AFs mısır başta olmak üzere çeşitli tahıl ve işlem görmüş tahıl ürünlerinde, kurutulmuş meyve ürünlerinde (kuru incir, kuru üzüm), kırmızı biber (*Capsicum* spp.) ürünlerinde, süt ve süt ürünlerinde, kakao ürünlerinde, yer fıstığı ve sert kabuklu meyvelerde (fındık, Antep fıstığı, badem, ceviz vb.) bulunabilmektedir.

Sert kabuklu meyveler, orta ve yüksek oranda aflatoksin kontaminasyonu riskine sahip ürünlerdir. Bu ürünlerde hasat öncesi, hasat sırasında ve özellikle uygun olmayan depolama koşulları altında aflatoksijenik küf gelişimi ve aflatoksin oluşumu söz konusu olabilmektedir. Sert kabuklu meyvelerden fındık ve Antep fıstığında aflatoksin riskinin belirlenmesine yönelik olarak çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Buna karşın, bademlerde AFs'in varlığı, miktarı ve maruziyeti konusunda ise son derece sınırlı veri bulunmaktadır.

Bu çalışmada, ülkemizde farklı yaş grupları tarafından tüketilen bademlerde AFs'in varlığı ve miktarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında ayrıca, ülkemizde yaşayan bireylerin badem tüketimi yoluyla AFs'e maruz kalma düzeylerinin belirlenmesi de hedeflenmiştir.

Bu amaçlar doğrultusunda, orum ve İstanbul'da faaliyet gösteren çeşitli market ve kuruyemiş satış noktasından rastgele satın alınan toplam 80 adet kabuksuz badem rneği AFs'in varlığı ve miktarı yönünden araştırılmıştır. Bademlerde AFs analizi immunoaffinity kolon (IAC) ile ekstrakt temizleme sonrasında floresan detektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-FLD) sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1. Badem Hakkında Genel Bilgi

Sert kabuklu meyvelerden olan badem, *Rosaceae* familyasının *Prunus* cinsinin *Amygdalus* alt cinsinde yer almaktadır (Şimşek, 2015). Yaklaşık 4000 yıldır yetiştirilen bademin anavatanı güneydoğu Asya'dır (Ladizinsky, 1999; Nizamlioğlu ve Nas, 2015). Badem kuzey yarımkürede 30–44, güney yarımkürede ise 20–40 enlem dereceleri arasında yayılmıştır (Küden ve ark., 2014). Günümüzde badem ağacı kurak ve sıcak iklimlerin hüküm sürdüğü Akdeniz ülkeleri (İspanya, Fas, Türkiye, Suriye, İtalya, Cezayir, Tunus, Yunanistan, Libya vb.), ABD (Kaliforniya eyaleti başta olmak üzere), İran, Avustralya, Çin vb. iklim özelliklerine sahip ülkelerde yetiştirilmektedir (FAOSTAT, 2018).

Badem, Türkiye'de yeşil kabuklu çağla devresinden itibaren tüketilen bir meyve türüdür. Bu haliyle Şubat sonu ve Mart başında piyasaya ilk çıkan erken yazlık meyve türü olan badem, içinin tam gelişmiş ve sertleşmiş olduğu devredeki haliyle tüketim ve ekonomik açıdan daha büyük önem kazanmaktadır (Yavuz, 2011). Badem, Türkiye'nin iklim yapısına adapte olmuş, önemli sert kabuklular arasında yer almaktadır. Çok değişik tüketim alanları olan badem, geniş bir kullanım alanına da sahip olmasının yanı sıra, kanaatkâr bir tür olması, diğer sert kabuklu meyvelere göre uyum kabiliyetinin daha yüksek olması ve erken verim vermesi nedeniyle, yetiştiriciliğine olan talepler gün geçtikçe artış göstermektedir (Öztürk, 2016).

Tarımsal ürünler içerisinde yüksek bir ekonomik değere sahip olan badem meyvesi, botanik açıdan tüylü bir ekzokarp (deri), ince ama etli bir mezokarp (gövde) ve ayrıca sertleşmiş bir endokarp yapısı ile sert çekirdekli bir meyve olarak sınıflandırılmaktadır. Çekirdek kabuğunun sertliği, kabuğun çekirdeğe oranı (yüzde iç verimi), çekirdek kalitesi ve büyüklüğü çeşit seçiminde önemli faktörlerdir (Nizamlioğlu ve Nas, 2015). Badem meyvesinin görüntüsü Resim 2.1'de yer almaktadır.



**Resim 2.1.** Badem meyvesinin görüntüsü

Bademler çalı veya boyları 10 m'yi bulabilen ağaçlar oluşturmakta olup, yayvan veya dikine büyüebilmektedir (Küden ve ark., 2014). Badem ağacı, kazık köklü olması nedeniyle kurak şartlara uyum sağlayabilmektedir. Buna karşın, yıllık yağış miktarı 300 mm'nin altına düştüğünde verimde ciddi kayıplar görülmektedir. Bademin kış dinlenme ihtiyacı, diğer meyve ağaçlarına göre daha kısadır. Bunun için +5°C'nin altında 90–400 saatlik bir soğuklama yeterli olmaktadır. Badem yetiştiriciliğinde ilkbahar mevsimindeki hareketli hava şartları kritik bir rol oynamaktadır. Don olayları bakımından en kritik dönem çiçek ve körpe çağı dönemidir. Çiçeklenme zamanında -4, -5°C'ye dayanabilen çiçekler, bu devrenin sonunda -5°C ve körpe çağı döneminde -1°C'lerde zarar görmektedir. Dona dayanım bakımından çeşitler arasında da büyük farklılıklar bulunmaktadır (OGM, 2017).

Diğer meyve türleriyle kıyaslandığında badem ağaçları, hemen hemen tüm teknik işlemlerden (budama, sulama, gübreleme, hastalık ve zararlılarla mücadele vb.) yoksun bırakılmıştır. Hatta bu nedenle halk arasında susuz, kıraç topraklarda bademin iyi yetiştiği inancı mevcuttur. Oysaki genellikle bahçe kenarlarına sınır ağacı olarak düşünülen bademde, verim ve kaliteyi etkileyen budama, gübreleme, sulama gibi işlemler sınırlı düzeyde yapılmaktadır (Öztürk, 2016). Badem, toprak istekleri bakımından seçiciliği fazla olmayan bir ağaç türü olmakla birlikte, hafif, derin, süzek ve alüvyonlu topraklar badem için verimlidir. Bu gibi topraklarda kökler 3–5 m derine gitmektedir (OGM, 2017).

### 2.1.1. Bademin sınıflandırılması

Bademler pomolojik olarak tat durumlarına göre acı ve tatlı badem olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Tatlı bademler, genellikle herhangi bir ön işleme tabi tutulmadan doğrudan tüketime sunulur veya gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Acı bademler ise, siyanogenetik glukozitler içermesi nedeniyle toksiktirler ve nitrojen içeren bu ikincil metabolitler uzaklaştırılmadan tüketilemezler. Acı bademlerin içerdiği hidrojen siyanid (4–9 mg) nedeniyle, bu bademlerin yüksek miktarda tüketimi sonunda ölüm olayı görülebilmektedir. Bu nedenle, acı ve tatlı bademlerin hasat sonrası işleme sırasında karıştırılmaması gıda güvenirliliği bakımından büyük önem taşımaktadır. Acı bademlerin uçucu yağları, ilaç ve kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır (Nasirahmadi ve Ashtiani, 2017).

Tatlı badem çeşitleri kabuk sertliklerine göre ise; *el bademi*, *diş bademi*, *sert kabuklu badem* ve *taş badem* olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadır:

*El bademleri*: Çok ince kabuklu bademler olup, elle rahatlıkla kırılabilir. Bu tür bademlerin randımanı yaklaşık % 70'e varmaktadır.

*Diş bademleri*: Dişle kolaylıkla kırılabilmeleri nedeniyle bu isimle adlandırılmıştır. Randımanı % 50 civarındadır.

*Sert kabuklu bademler*: Dişle çok zor kırılmakta olup, kırmak için herhangi bir alet gerekmektedir. Randımanı % 40'a kadar varabilir.

*Taş bademleri*: Kabukları çok kalın olduğundan iç randımanı düşüktür (% 18–30 arasında).

Ülkemizde gerçekleştirilen seleksiyon çalışmaları sonucunda bazı yerli badem çeşitleri geliştirilmiştir. Ülkemizde sıklıkla yetiştirilen yerli badem çeşitleri ve özellikleri aşağıda sunulmuştur (Küden ve ark., 2014):

*48-1:* Oldukça kuvvetli büyüyen, erkenci bir çeşit olup, şubat ayının ilk yarısında çiçek açmaktadır. Kabuklu badem 3,95 g, iç badem 1,50 g ağırlığında olup, randımanı yaklaşık % 38'dir. İç badem 24,5 mm uzunluğunda ve 13,5 mm enindedir. Çift badem oranı yaklaşık % 6,7'dir. Çağla badem olarak da tüketilebilmektedir.

*Akbadem (48-2):* Kuvvetli büyüyen, erkenci bir badem çeşididir. Kabuklu badem 4,37 g, iç badem 1,80 g ağırlığındadır. İç badem 25,9 mm uzunluğunda, 13,1 mm enindedir. İnce kabuklu *Akbadem* çeşidinde, çift badem oranı % 26,7 iken, randımanı % 35,2 civarındadır.

*Hacı Alibey (48-5):* Çok erkenci bir çeşit olup orta kuvvetli ağaçlar oluşturmaktadır. Kabuklu badem 3,27 g, iç badem 1,15 g ağırlığındadır. Randımanı % 35,2 olup, çift badem oranı % 26,7'dir. İç badem 25,9 mm uzunluğunda ve 13,1 mm enindedir. Verimliliği çok iyi olup, periyodisiteye eğilimi yok denecek kadar azdır.

*Gülcan 1 (101-23):* Orta kuvvette ağaçlar oluşturmaktadır. Kabuklu badem 3 g ağırlığında, 23,4 mm uzunluğunda ve 16,3 mm enindedir. İç badem ise 0,85 g ağırlığında olup, 21 mm uzunluğunda ve 12,8 mm enindedir. Bu badem çeşidinde randıman % 28 civarında olup, çift oranı % 7,5–13,3 arasında değişiklik göstermektedir.

*101-9:* Kuvvetli büyüyen ağaçlar oluşturmaktadır. Kabuklu badem, 3,2 g ve iç badem 1 g ağırlığındadır. İç badem uzunluğu 21,7 mm ve eni 12 mm olup, randımanı % 31,9, çift badem oranı ise % 6,7'dir.

*101-13:* Kuvvetli büyüyen ağaçlar oluşturmaktadır. Kabuklu badem, 3,6 g ve iç badem 0,9 g ağırlığındadır. Randımanı % 26,1 olup, çift badem oluşturmamaktadır. İç badem 20,2 mm uzunluğunda ve 13 mm enindedir.

Badem üretim bölgelerinin çoğunda (Arjantin, Avusturalya, ABD, Güney Afrika, Şili), yumuşak kabuklu ve yüksek çıtlaklık yüzdesine sahip çeşitlerin üretimi tercih edilirken, geleneksel üretim bölgelerinde sert kabuklu ve düşük çıtlaklık yüzdesine

sahip çeşitler yaygındır. Çeşidin sert kabuklu olması böcek pestisitlerine karşı dirençliliği sağlamaktadır (Socias ve ark., 2005). Yabancı kökenli çok sayıda badem çeşidi bulunmakta olup, bunlardan dünyada en sık yetiştirilenleri ve özellikleri aşağıda belirtilmiştir (Küden ve ark., 2014):

*Ferragnes ve Ferraduel*: Fransız badem çeşitleridir. Her iki çeşit de geç çiçeklenen, tozlayıcı çeşit isteyen verimli ve kalitelidir. Ülkemizde yapılan adaptasyon denemelerinde öne çıkan çeşitlerdendir. Randımanları sırasıyla % 41 ve % 28 civarında olup, çift badem oluşturmamaktadır. Her iki çeşit birbirlerini tozlamaktadır.

*Nonpareil*: Kaliforniya grubu bademlerinin en önemlilerindedir. Ağaçları yayvan yüksek, verimli ve erkencidir. İnce kabuklu olup kuş zararına sıklıkla rastlanmaktadır. *Nonpareil* orta büyüklükte meyveye sahiptir. Elde edilen bademlerin ince kabuklu olması nedeniyle muhafazası son derece güçtür. Kabuklu badem 2,1 g ağırlığında, 33 mm uzunluğunda, eni 19 mm ve kalınlığı 12 mm'dir. Randıman % 60'ın üzerine, çift badem oranı ise % 25'lere kadar çıkabilmektedir.

*Teksas (Mission)*: Teksas civarında tespit edilen bu çeşidin en önemli özelliklerinden biri *Nonpareil*'e göre geç çiçeklenmesidir. Ağaçları yüksek verimlidir ve meyvelerinin ticari değeri yüksektir. Kabuğu yumuşak olup iç badem kalitesi orta ve çift badem oranı % 15–30 arasındadır. *Teksas* çeşidinde ağaçların büyümesi dikine olup ağaçlarının ömrü çok uzun değildir. İnce kabuklu olan bu çeşidin randımanı % 50 civarındadır. Kabuklu badem 3 g, iç badem ise 1,5 g ağırlığındadır.

*Ne Plus Ultra*: Erken çiçeklenen bir çeşit olup, uzun süren seleksiyonlar sonucunda elde edilmiştir. Özellikle meyveleri sanayiye uygun olan bir çeşittir. Kaliforniya grubu bademlerden olan bu çeşit su stresine karşı oldukça hassastır. Su stresinde tomurcuk ve meyve dökümlerine sıkça rastlanmaktadır. Yumuşak kabuklu verimli bir çeşit olan *Ne Plus Ultra* uzun ömürlüdür ve randımanı % 45–48 civarındadır.

*Peerles:* Kaliforniya-Davis bölgesinde selekte edilen bir çeşittir. Kabuğu ince ve ticari değeri yüksek olup, ağaçları orta iriliktir. Randımanı % 48–53, çift badem oranı ise % 8–10 civarındadır. Erken çiçeklenen bir çeşittir.

*Thompson:* *Nonpareil* x *Teksas* melezlenmesinden elde edilen geç çiçeklenen, yüksek verimli bir çeşittir. Bu çeşidin meyveleri orta irilikte olup, meyvelerin buket dalcıklarında yoğunlaştığı görülmektedir. Meyveleri parlak renktedir.

*Carmel Le:* *Nonpareil*'den hemen sonra çiçeklenmektedir. Ağaçlar, çoğunlukla dikine gelişme eğilimindedir. Meyvelerin soğuk zararına karşı dayanımı iyidir. Genç yaşta yüksek verimli olup, ileriki dönemlerde verim gittikçe düşmektedir. Kaliforniya grubu, bademler içerisinde pazarlama değeri yüksek olan bir çeşittir.

*Yaltinski:* Yugoslavya orijinli bir çeşittir. Geç çiçek açması ve ikiz meyve verme özelliğiyle bilinmektedir. Meyvelerinin iç kalitesi ve randımanı iyi olup, yabancı badem çeşitleri içerisinde en geç çiçek açan çeşitlerden biridir.

*Drake:* Çiçeklenme *Nonpareil* çeşidinden 5 gün sonra gerçekleşmektedir. Hasadı eylül ayı sonunda veya daha geç yapılmaktadır. Meyveleri sert kabuklu olup, orta iriliktir. Pazar değeri yüksek olan *Drake* çeşidi, pastacılık ve şekerleme sanayinde aranan bir çeşittir. Çok fazla çift meyve yapmamaktadır.

### **2.1.2. Bademin besinsel bileşimi**

Bademlerin besin içeriği Çizelge 2.1'de verilmiştir. Badem, lipid (tekli doymamış yağ asidi), protein, diyet lif, mineral, vitamin ve polifenol açısından zengin bir besin kaynağıdır. Bademlerin sağlığa sağladığı faydalar büyük oranda lipidlere ve vitaminlere atfedilmiştir. Çok sayıdaki klinik ve klinik öncesi denemeler ve epidemiyolojik çalışmalar, bademlerin düzenli olarak tüketilmesi sonucu düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), kolesterol, postprandial glisemi ve insülinemi (kan insülin düzeyi) önemli derecede azalttığı belirtilmektedir. Bununla birlikte, badem tüketiminin koroner kalp hastalığı (KKH) ve tip II diyabet gibi obezite ile ilgili



hastalıkların riskini de azalttığı belirtilmektedir. Günlük 100 g badem tüketiminin hiperkolesterolemik hastalarda LDL kolesterolünü % 12'ye kadar düşürdüğü rapor edilmiştir (Zhu ve ark., 2015).

**Çizelge 2.1.** Bademlerin besinsel bileşimi (Verkerk ve Claessens, 2006)

Besin içeriği	100 g
Enerji	579 kcal
Toplam lipid	49,93 g
Karbonhidrat	21,55 g
Protein	21,15 g
Diyet Lif	12,5 g
Su	4,41 g
Mineraller	
Potasyum	730 mg
Fosfor	481 mg
Magnezyum	270 mg
Kalsiyum	269 mg
Demir	3,71 mg
Çinko	3,12 mg
Soydum	1 mg
Vitaminler	
E vitamini	25,6 mg
Niasin	3,618 mg
Riboflavin	1,138 mg
Tiamin	0,205 mg
B6 vitamini	0,137 mg

Bademlerin lipid içeriğini belirlemek amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır. Badem çeşitlerine de bağlı olarak, lipid içeriklerinin % 50–62 arasında değişiklik gösterdiği görülmektedir (Sathe, 1993; García-López ve ark., 1996; Ruggeri ve ark., 1998).

Bademlerin mineral içeriği, ağaçların coğrafi konumu, toprak kompozisyonu, su kaynağı, ayrıca gübrelerin bileşenleri ve tarımsal üretimde kullanılan diğer

yardımcılar gibi çevresel faktör ve tarım uygulamalarından etkilenebilmektedir. Mineral içeriği, bir bitki türünün özelliklerinden ve bu bitki parçasının fizyolojik rolü için belirli dokulardaki dağılımdan etkilenebilmektedir. Bademlerde potasyum, kalsiyum, magnezyum, demir, fosfor ve çinko mineralleri bol miktarda bulunmaktadır (Zhu ve ark., 2015).

Badem, yüksek miktarda E vitamini içermekte olup, günde iki avuç badem tüketilerek günlük ortalama 15 mg E vitamini alınabilmektedir. Bademlerde E vitamini dışında, niasin, riboflavin, tiamin ve B6 vitamini de bulunmaktadır (Zhu ve ark., 2015).

Bademlerin polifenol içeriği bakımından da önemli bir kaynak olduğu belirtilmektedir. Bu konuda, Bolling ve ark. (2010) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 3 farklı hasat yılına ait bademlerin 4–10,7 mg/100 g arasında değişen oranda polifenol içerdikleri tespit edilmiştir.

### **2.1.3. Badem üretim, tüketim, ihracat ve ithalat değerleri**

Badem tarım ürünleri içerisinde ekonomik değeri yüksek bir üründür. Dünya badem (kabuklu) üretim miktarı 3 milyon tonun üzerindedir. Çizelge 2.2’de çeşitli ülkelere ait badem üretim miktarları verilmiştir (FAOSTAT, 2018). Badem üretim miktarları bakımından bir sıralama yapıldığında; ABD başı çekmektedir. 2016 yılı verilerine göre, ABD, dünya badem üretiminin % 62,3’ünü tek başına üretmektedir. Bunu sırayla % 6,3 üretim ile İspanya ve % 4,6 ile İran takip etmektedir.

ABD Kaliforniya eyaletinde toplam 1,1 milyon dönüm arazide yer alan 130 milyon ağaç ile badem yetiştiriciliği gerçekleştirilmekte olup, dünya badem üretiminin % 60’dan fazlası bu eyaletten sağlanmaktadır. Üretilen bademler Kaliforniya eyaleti ekonomisine yıllık 11 milyar dolar katkı sağlamaktadır. Kaliforniya eyaletinde yetiştirilen bademlerin % 55’i Güney, % 16’sı Kuzey ve % 29’u Orta Kaliforniya’da yetiştirilmekte olup, *Nonpareil* (% 37), *Monterey* (% 16), *Butte/Padre* (% 11) ve *Carmel* (% 6) çeşitleri başı çekmektedir (ABC, 2017).

Badem tüketimi ülkeler bazında ele alındığında; toplam tüketimin % 30'unun AB ülkeleri, % 28'nin ise ABD tarafından gerçekleştirildiği görülmektedir. Badem tüketiminde diğer önde gelen ülkeler ise; % 7,7 ile Hindistan, % 7,2 ile Çin ve % 6,3 ile Birleşik Arap Emirlikleri'dir. Endüstriyel ve gıda hizmetlerinde badem talebi, AB ve ABD dışında özellikle Çin ve Hindistan gibi gelişmekte olan ülkelerde geleneksel pazarlarda artmaya devam etmektedir (Yada ve ark., 2011).

**Çizelge 2.2.** Ülkeler itibariyle dünya badem üretim miktarı (ton) (FAOSTAT, 2018)

Ülkeler	2013 Yılı	2014 Yılı	2015 Yılı	2016 Yılı
ABD	1 732 800	1 545 500	1 787 033	2 002 742
Yunanistan	39 165	36 898	20 380	29 450
İran	155 527	136 338	146 000	147 863
İtalya	72 584	74 016	70 399	74 584
İspanya	149 000	195 704	211 084	202 339
Suriye	83 229	34 729	84 634	88 841
Tunus	52 000	66 700	70 500	6 100
<b>Türkiye</b>	<b>82 850</b>	<b>73 230</b>	<b>80 000</b>	<b>85 000</b>
Çin	43 000	44 158	46 125	47 875
Dünya	2 840 508	2 635 528	3 066 032	3 214 303

Türkiye, 2016 yılında 85 000 ton kabuklu badem üretim miktarı ile dünya üretiminin % 2,6'lık bir dilimine sahiptir. Ülkemiz aynı zamanda badem ithal eden bir ülke konumundadır. Badem ithalatının % 94 gibi çok önemli bir kısmı ABD tarafından karşılanırken, geri kalan kısmı İspanya ve diğer Akdeniz ülkelerinden sağlanmaktadır (Öztürk, 2016). Badem ithalatının ekonomik değerinin ise 100 milyon doları geçtiği rapor edilmiştir.

Ülkemizde 131 000 dekar alanda badem yetiştiriciliği yapılmakta olup, Ege ve Akdeniz Bölgeleri badem yetiştiriciliğinde başı çekmektedir. Bu bölgeleri sırasıyla Güneydoğu Anadolu, İç Anadolu ve Batı Marmara takip etmektedir. Badem alanlarının iller bazında dağılımında ise, Muğla 30 bin dekar ile toplam badem alanların % 23'üne sahiptir. Muğla'yı sırasıyla Manisa, Balıkesir, Antalya ve Mersin

illeri takip etmektedir. Bu illerin sahip olduğu badem alanları 60 bin dekar ile toplam badem alanlarının % 47'sini oluşturmaktadır (Yavuz, 2011).

Bununla birlikte, Ege ve Akdeniz Bölgeleri toplam kabuklu badem üretiminin % 61'ini karşılamaktadır. Ege Bölgesi, toplam badem alanlarının neredeyse yarısına (% 48) sahipken, ağaç başına düşen ortalama verimin (16 kg/ağaç) düşük olması nedeniyle kabuklu badem üretiminin % 38'ini karşılamaktadır. Buna karşın, Akdeniz Bölgesi badem alanları Ege Bölgesi badem alanlarının yarısı kadarken ağaç başına ortalama verimin (20 kg/ağaç) yüksekliğinden dolayı üretimden aldığı % 29 pay ile Ege Bölgesi üretimine yaklaşmıştır (Öztürk, 2016).

#### **2.1.4. Badem zararlıları ve bademlerde görülen hastalıklar**

Diğer tarımsal ürünlerde olduğu gibi badem yetiştiriciliğinde de çok sayıda zararlı randıman kayıplarına, meyve içinin boşaltılmasına, meyvelerin ve ağaçların küçük kalmasına ve ileri safhada fidan ve ağaçların kurummasına neden olabilmektedir. Bademde sıklıkla görülen zararlılar ve bu zararlıların neden olduğu hastalıklar aşağıda özetlenmiştir:

*İç kurdu:* Badem iç kurdu olarak bilinen Eurytomidae familyasına ait *Eurtoma emygdali*, bademlerde görülen en önemli zararlıdır. Badem iç kurdu ergini yumurtasını meyve üzerine bırakmakta ve larvalar meyve üzerinde hasara yol açarak meyvenin dökülmesine neden olmaktadır. Larvadan etkilenen meyve diğer meyvelere göre farklı renkte (sarımsı) olup kolayca ayırt edilebilmektedir. Larva, meyve ile beslenerek iç kısımlara doğru ilerlemekte ve beslenme sonucunda tamamını yiyerek meyvenin içini boşaltmaktadır. Zararının varlığı, meyvenin üzerinde açtığı yaklaşık 2 mm'lik delikten anlaşılabilir. Larvalar, beyaz renkli ve ayaksızdır (MEB, 2011).

*Fidan dip kurdu:* Hastalık etmeni *Capnodis tenepionis* adlı bir böcek türüdür. Meyve ağaçlarının yeşil kısımlarını yiyerek tahrip eden zararlı, özellikle 1-4

yaşındaki fidanlarda etkili olup, genç ağaç ve fidanların kurumasına neden olmaktadır (Küden ve ark., 2014).

*Kök Kanseri Hastalığı:* Hastalık etmeni *Agrobacterium tumefaciens* bakterisidir. Badem ağacı köklerinde böcek, nematod, don zararı, mekanik zarar vb. kaynaklı yaralanmalar sonucunda bakteri enfeksiyonu gerçekleşebilmekte ve kök boğazında ularlar oluşturabilmektedir. Hastalığa şiddetli yakalanan fidanlarda gelişimde yavaşlama, yapraklarda sararma, gövde ve dallarda sakız oluşumu, genç ağaçlarda kısa sürede kuruma, yaşlı ağaçlarda ise az ve kalitesiz meyve oluşumu görülebilmektedir (Eker, 2011).

*Kök Çürüklüğü:* Hastalık etmeni *Armillaria mellea* küfü olup, ağaçların köklerinde çürüklük ve yaprak kurumalarına neden olmaktadır. Hastalığa yakalanan ağaçlar ilk yıl çok az sürgün vermekte, ikinci yıl yapraklarda sararma ve dökülme görülmekte, üçüncü yıl dallarda kuruma başlamakta ve dördüncü yıl badem ağacı tamamen kurumaktadır (Küden ve ark., 2014).

*Klok hastalığı:* Hastalık yaprak kıvrıcıklığı ve et lekesi olarak da adlandırılmakta olup etmeni Taphrinaceae familyasına ait olan *Taphrina deformans* küfüdür. Küf genellikle yapraklara zarar vermekle birlikte, badem çiçeklerine, genç dalcıklara ve meyvelerine karşı da zarar gösterebilmektedir. İlkbaharda meydana gelen ilk yapraklar küf enfeksiyonu sonrası kalınlaşmaya başlamakta, üst kısımları şişmekte ve kıvrıcıklaşmaktadır. Yaprak kenarlıklarının alta doğru kıvrılmasıyla yaprak içi bükeyleşmekte ve hastalıklı yapraklar klorofil kaybı sonrası kırmızı, sarı ve açık pembe renge dönüşmektedir (Küden ve ark., 2014).

*Yaprak Delen (Çil) Hastalığı:* Hastalık badem ağaçlarında yaprak, meyve, tomurcuk ve genç dalları üzerinde oluşmakta olup, etmeni Coryneaceae familyasına ait *Coryneum beijerinckii* küfüdür. Hastalık kızıl leke ve çil adıyla da bilinmektedir. Yaprak üzerinde oluşan lekeler ilk önce 1 mm çapında, yuvarlak, yağ lekeli görünümünde olup, zamanla kenarları kırmızımtırak orta kısımları ise koyu kahverengine dönüşebilmektedir. Bu lekeli kısımlar sonradan dökülebilmekte ve

yaprakta delikler oluşmaktadır. Meyve üzerindeki lekeler 1–2 mm çapında, yuvarlak ve dağılmış şekildedir. Hastalık özellikle ilkbahar ve yaz başlangıcının nemli geçtiği dönemlerde görülmektedir (Anonim, 2013).

*Et Lekesi Hastalığı:* Hastalık etmeni badem yaprak patojeni olarak rol oynayan *Polystigma ochraceum* küfü olup, yaygın olarak görülebilmektedir. Yapraklarda et renginde lekelerin oluşması nedeniyle bu adı almıştır. Lekeler başlangıçta sarımsı renkte iken zamanla parlak kırmızımsı bir hal almaktadır. Hastalıklı yapraklar erken dökülmektedir (OGM, 2017).

*Bademlerde Tespit Edilen Diğer Fungal Hastalıklar:* Bademlerde görülen kök kanseri, kök çürüklüğü, klok, yaprak delen ve et lekesi hastalıkları dışında, *Stigmina carpophila* kaynaklı yaprak hastalığı, ince dal ve sürgünlerde çiçek yanıklığına neden olan *Monilinia laxa*, meyve kayıplarına yol açan *Glomerella cingulata*, ince dal ve sürgünlerde zayıflamaya ve gelişme geriliğine neden olan *Phomopsis amygdali* ve genç badem popülasyonlarında solgunluğa yol açan *Verticillium dahliae*'nin de birçok ülkede sorun olduğu bildirilmektedir (Kurbetli ve Hancıoğlu, 2008).

Gıda güvenilirliği bakımından bademlerde görülen en önemli sorunlardan biri de aflatoksjenik küf varlığı ve bu küflerin üretmiş olduğu ikincil metabolizma ürünleri olan AFs'dir.

## 2.2. Küfler Hakkında Genel Bilgi

Küfler, doğada oldukça yaygın olan heteretrof, ökaryotik organizmalardır. Küflerin sınıflandırılmasında genellikle eşeyli sporları dikkate alınmakta olup, Zygomycota, Ascomycota, Deuteromycota, Oomycota, Chytridiomycota ve Basidiomycota olmak üzere 6 sınıfa ayrılmaktadır (Deacon, 1997).

Küfler genellikle aerobik mikroorganizmalar olup, ortamdaki CO<sub>2</sub> konsantrasyonu % 10'un üzerine çıktığında küf gelişimi inhibe olmaktadır (Şanlı, 2002). Küfler 0–60°C gibi oldukça geniş bir sıcaklık aralığında gelişmelerine rağmen, genellikle psikrotrof

ya da mezofilik karakter göstermektedirler. Benzer şekilde, oldukça geniş bir pH aralığında (2–11) gelişim göstermelerine karşın, optimum olarak nötral veya hafif asidik ortamlarda (pH 5–6 civarında) gelişmektedirler. Küfler kurak ortam koşullarına oldukça dayanıklı olup, gelişebildikleri minimum su aktivitesi ( $a_w$ ) değerleri gıdalarda bulunan diğer mikroorganizmalara göre daha düşüktür (Kabak, 2007).

Küfler gelişebilmeleri için suyun yanı sıra karbon ve azot kaynaklarına ve çeşitli mineral maddelere ihtiyaç duymaktadır. Küfler, suda erimiş halde bulunan besinleri difüzyon yoluyla sağlarlar ve zengin enzim sistemleri sayesinde çok sayıda besin maddesinden yararlanabilirler. Küfler karbon ve enerji kaynaklarını karşılamak amacıyla diğer mikroorganizmalarda da olduğu gibi genellikle glikozdan yararlanırlar. Bunun yanı sıra, maltoz, sakaroz ve nişasta gibi kompleks karbon bileşikleri de küfler tarafından kullanılabilir. Bazı küfler yağ asitlerini, organik asitleri, gliserol, heksoz ve pentoz şeker türevlerini (üronik asit ve şeker alkollerini) de karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılabilir (Arda, 1997; Özkaya ve ark., 1999).

Küf kontaminasyonu ve gelişimi çevre koşullarına (özellikle nem ve sıcaklık) bağlı olarak hasat öncesinde tarlada, hasat sırasında, işleme, depolama ve nakliye sırasında oluşabilmektedir. Bununla birlikte, ürünün tarlada gelişme aşamasında çeşitli zararlılar (böcek, kemirici vb.) tarafından hasar görmesi veya mekanik hasara uğraması, küf istilasını kolaylaştırmakta ve hızlandırmaktadır.

Sert kabuklu meyveler de dahil olmak üzere gıda ürünlerine kontamine olan küfler geleneksel olarak tarla küfleri ve depo küfleri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Tarla küfleri tipik olarak % 70–90 nispi nem ve 20–25°C sıcaklık arasında gelişebilen küflerdir. Bu küfler genellikle  $a_w > 0,85$  değerinde gelişirken,  $a_w$  değeri 0,99'a yaklaştığı zaman optimum gelişim gösterirler. *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium* ve *Helminthosporium* geleneksel olarak tarla küfleri olarak sınıflandırılmaktadır. Diğer yandan, depo küfleri düşük nem seviyesi ve daha yüksek sıcaklıklarda gelişmektedir. *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsi gibi küfler bu grubun

başlıca temsilcileridir. *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin gelişimi için gerekli minimum  $a_w$  değeri diğer gelişme faktörlerine de bağlı olarak 0,75–0,85 arasında değişiklik göstermekte olup, 0,93–0,98  $a_w$  arasında optimum gelişim gösterdikleri bildirilmektedir (Rodrigues ve ark., 2012).

Küfler metabolik etkinlikleri sırasında birincil ve ikincil metabolitler olarak adlandırılan çeşitli ürünler sentezlemektedirler. Birincil metabolitler arasında yağ asitleri, steroller, proteinler ve aromatik amino asitler bulunmakta olup, organizmanın gelişimi için gereklilik taşımaktadır. İkincil metabolizma ürünlerinin ise, küflerin normal metabolik faaliyetleri açısından bir öneme sahip olmadığı ve logaritmik gelişme fazının sonlarında sentezlendiği ifade edilmektedir (Kabak, 2007). Diğer yandan, küfler tarafından üretilen bu ikincil metabolizma ürünlerinden mikotoksinler, gıda güvenilirliği ve halk sağlığı açısından son derece önem arz etmektedir.

### 2.3. Mikotoksinler

Mikotoksinler, bazı toksijenik küfler tarafından sentezlenen doğal oluşan toksik bileşiklerdir. Mikotoksin üreten küfler genellikle *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Claviceps* cinslerine aittir. Bugüne kadar 100'ün üzerinde küf türü tarafından sentezlenen 400'e yakın ikincil metabolitin hayvanlara karşı toksik etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Hussein ve Brasel, 2001). Halk sağlığı ve ekonomik açıdan yarattığı sorunlar nedeniyle AFs, OTA, FUM, trikotesenler (T-2 toksin, HT-2 toksin, DON vb.), ZEA ve patulin en çok üzerinde durulan mikotoksin gruplarıdır. Çizelge 2.3'de çeşitli toksijenik küf türleri ve bu küfler tarafından üretilen mikotoksinler verilmiştir.



**Çizelge 2.3.** Doğada sıklıkla bulunan mikotoksin tipleri, üretici küfler ve riskli gıda maddeleri (Smith ve ark., 2016)

Mikotoksin	Üretici Küfler	Riskli Gıda Maddeleri
AFs	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i>	Yer fıstığı, sert kabuklu meyveler (fındık, Antep fıstığı, badem vb.), tahıl ve tahıl ürünleri, kuru meyveler (kuru üzüm, incir vb.), baharat, kakao, süt ve süt ürünleri vb.
OTA	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>A. carbonarius</i> , <i>Penicillium verrucosum</i> .	Tahıl (buğday, pirinç vb.) ve tahıl bazlı ürünler, kuru üzüm, kuru incir, kahve ve kakao çekirdeği, şarap, bira, baharat vb.
DON	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i>	Tahıl (buğday, pirinç, arpa, mısır vb.) ve tahıl bazlı ürünler (ekmek, makarna vb.)
FUM	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. proliferatum</i>	Mısır başta olmak üzere tahıl ve tahıl bazlı gıdalar
T-2 ve HT-2 toksin	<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. culmorum</i>	Tahıl (buğday, pirinç, arpa vb.) ve tahıl bazlı ürünler (ekmek, makarna vb.)
ZEA	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. sporotrichioides</i>	Mısır başta olmak üzere tahıl ve tahıl bazlı gıdalar
Moniliformin	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. fujikuroi</i>	Tüm tahıllar ve tahıl bazlı ürünler
Sitrinin	<i>Penicillium citrinum</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. verrucosum</i>	Buğday, çavdar, pirinç, mısır, meyve suları
Patulin	<i>Penicillium expansum</i> , <i>P. patulum</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>A. terreus</i> , <i>Byssoschlamys fulva</i>	Elma suyu başta olmak üzere çeşitli meyve suları/ekstraktı

*Aspergillus* cinsi küfler tropikal ve subtropikal iklimlerin hüküm sürdüğü ekvatorun 26° ile 35° kuzey ve güney enlemleri arasında yoğun olarak bulunmaktadır. *Penicillium* cinsi küfler ise ılıman iklimin hüküm sürdüğü bölgelerde daha yoğun bulunmakta olup, genel olarak *Aspergillus* cinsinden daha geniş sıcaklık aralığında mikotoksin üretebilmektedir. Bu tür küflerin ürettiği en önemli mikotoksinler OTA,

sitrinin, patulin, penisilik asit, penitrem A ve siklopiazonik asit'tir. *Fusarium* cinsi küfler dünyada yaygın olarak bulunmakta olup önemli bitki patojenleri arasındadır. *Fusarium* cinsi küfler tarafından üretilen en önemli mikotoksin türleri; FUM, trikotesenler, ZEA ve moniliformin'dir (Rodrigues ve ark., 2012).

Mikotoksin tüketimine bağlı olarak hayvan ve insanlarda görülen toksik sendromlara "mikotokzikozis" adı verilmekte olup, bir veya birden fazla semptomla karakterize edilmektedir (Hazer, 2011). Kontamine olmuş yem ve gıda maddeleri yoluyla hayvan ve insanlar tarafından mikotoksinlere maruz kalınması sonrası akut, kronik, mutajenik ve teratojenik olmak üzere 4 çeşit toksik etki görülebilmektedir (Pitt, 2000). Mikotoksinlerin hayvan ve insanlara karşı toksik etkisi, maruz kalınan toksin tipine, doza, toksine maruz kalma süresine, birden fazla toksin varlığına, cinsiyete, yaşa, metabolizmaya ve savunma mekanizmasına bağlı olarak değişebilmektedir (Galvano ve ark., 1996; Hussein ve Brasel, 2001). Uluslararası Kansere Araştırma Ajansı (IARC) 1993 yılında mikotoksinleri karsinojenik potansiyellerine göre sınıflandırmıştır (Çizelge 2.4) (IARC, 1993). Buna göre, AFB<sub>1</sub> ve toplam aflatoksin "insan karsinojeni" (grup 1) olarak sınıflandırılırken, aflatoksin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>), OTA ve fumonisin B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) ise "olası insan karsinojeni" olarak değerlendirilmiştir.

**Çizelge 2.4.** Mikotoksinlerin karsinojenik sınıflandırılması (IARC, 1993)

Mikotoksin	IARC sınıflandırması	Açıklama
AFB <sub>1</sub> ve toplam AFs	Grup 1	İnsan karsinojeni
AFM <sub>1</sub>	Grup 2B	İnsanlara karşı olası karsinojen
OTA	Grup 2B	İnsanlara karşı olası karsinojen
FB <sub>1</sub>	Grup 2B	İnsanlara karşı olası karsinojen
DON	Grup 3	İnsanlara karşı karsinojenik olarak sınıflandırılmaz
ZEA	Grup 3	İnsanlara karşı karsinojenik olarak sınıflandırılmaz
Patulin	Grup 3	İnsanlara karşı karsinojenik olarak sınıflandırılmaz

Mikotoksinler küf gelişimine bağlı olarak genellikle ılıman ve tropikal bölgelerde oluşmaktadır. Küf kontaminasyonu ve mikotoksin üretimi, geliştikleri çevresel koşullara bağlı olarak büyük farklılıklar gösterdiğinden, hasat öncesi koşullar ve hasat sonrası depolama, nakliye ve işleme zincirindeki tüm aşamalarda izlenmesi gerekmektedir (Rodrigues ve ark., 2012). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), dünyada üretilen gıdaların yaklaşık % 25'inin mikotoksinlerle kontamine olduğunu bildirmiştir (Marin ve ark., 2013). Hububat ve hububat ürünleri, yer fıstığı, sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri, baharat (*Capsicums* başta olmak üzere) kahve, kakao, kurutulmuş meyveler (kuru incir, kuru üzüm vb.), meyve suyu, bira ve şarap gibi düşük alkollü içecekler mikotoksin açısından riskli gıda maddelerinin başında gelmektedir. Bununla birlikte, kontamineli yemlerin çeşitli hayvanlar tarafından tüketilmesi sonrasında süt başta olmak üzere çeşitli hayvansal ürünlerde de mikotoksinler bulunabilmektedir (Rodrigues ve ark., 2012).

Ham madde ve işlenmiş gıda ürünlerinde mikotoksin oluşumunun kontrol etmenin oldukça güç olması nedeniyle, çiftlikten çatala kadar çeşitli üretim aşamaları boyunca mikotoksin varlığının sürekli olarak değerlendirilmesi halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Rodrigues ve ark., 2012). Mikotoksinler, tüketici sağlığının yanı sıra dünya ticareti üzerine de önemli etkisi bulunan tehlikelerden biridir. Bu nedenle birçok ülke, mikotoksin maruziyetini sınırlamak ve ticarete sorun yaşanmaması için gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum limit (ML) değerleri belirlemişlerdir (Marin ve ark., 2013). Bu limit değerleri ülkelerin gelişmişlik düzeyine, halk sağlığına duyulan ilgi, sosyal ve politik yaklaşımlara göre farklılıklar gösterebilmektedir.

AB ülkeleri, dünyadaki en yüksek gıda güvenilirliği standartlarından birine sahiptir. Gıda zincirinde halk sağlığına yönelik risklerin tespitinde, hızlı bir şekilde bilgi akışının sağlanması için kullanılan Gıda ve Yem için Hızlı Uyarı Sistemi (Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF) bu amaçla kullanılan önemli araçlardan biridir. Kuruluşu 1979 yılına dayanan RASFF sistemi, 2002 yılında Komisyon Yönetmeliği (AB Regulation N° 178/2002) ile yasal temele oturtulmuştur. Günümüzde bu sistemde 28 Avrupa Birliği üyesi ülke, Avrupa Ekonomik Bölge

Ülkeleri (EEA) olan İzlanda, Lihtenştayn ve Norveç ile İsviçre dahil olmak üzere toplam 32 ülke yer almaktadır. Sistemde, üye ülkeler arasında bilgi paylaşımı etkin halde bulunmakta ve acil durum halinde bildirimler verimli bir şekilde gönderilmekte, alınmakta ve cevaplandırılmaktadır. RASFF bildirimleri gıda ve yem ürünlerinin piyasadan çekilmesine dahi yol açabilmektedir. Yıllar içinde olgunlaşmış sağlam bir sistem olan RASFF sistemi AB’de yaşayan insanların çok çeşitli gıda tehlikelerine (fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik) maruz kalmalarının önlenmesinde büyük rol oynamaktadır (RASFF, 2018).

Tespit edilen risklerin ve ürünün piyasaya sürülmesinin ciddiyetine göre, RASFF bildirimleri, Komisyon temas noktasında doğrulamadan sonra tüm ağ üyelerine iletilmekte olup portal, interaktif, araştırılabilir çevrimiçi veri tabanı sunmaktadır. RASFF bildirimleri; yüksek risk bulunduran durumlarda “*uyarı bildirimi*”, acil müdahale gerektirmeyecek düzeyde risk teşkil eden durumlarda “*bilgilendirme bildirimi*”, “*sınırdaki ret bildirimi*” ve diğer durumlara ilişkin “*haber bildirimi*” şeklinde sınıflara ayrılmaktadır. Bilgilendirme bildirimleri; hızlı bir işlem gerektirmeyen, riskin ciddi olarak değerlendirilmediği veya bildirim sırasında ürünün piyasaya sürülmediği bir gıda, yem veya gıda temas materyali ile ilgilidir. Komisyon Yönetmeliği (AB N° 16/2011) bilgi bildirimlerini iki alt tipte tanımlamaktadır; birincisi “*izleme amaçlı bilgilendirme bildirimi*” ikincisi ise “*başka bir üye ülkedeki piyasaya sürülen veya piyasaya sürülecek olan ürünle ilgili dikkat bildirimi*” dir.

RASFF sisteminin yasal temelini oluşturulduğu 2002 yılından 2017 yılının sonuna kadar geçen sürede bazı ülkelerden Avrupa’ya ihraç edilen ürünlerde sıklıkla saptanan tehlikelerle ilgili RASFF bildirim sayıları ve bildirim tipleri Çizelge 2.5’de verilmiştir.

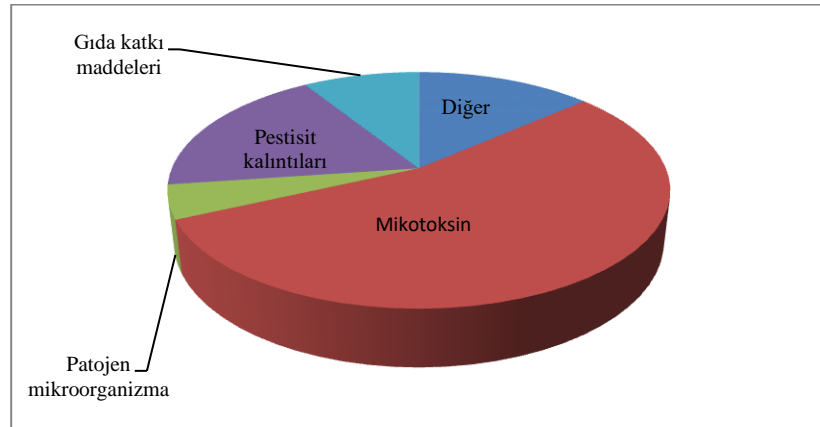
2002–2017 yılları arasında çeşitli ülkelerden AB ülkelerine ihraç edilen ürünler ile ilgili olarak toplam 47 827 bildirim verilmiştir. Bu bildirimlerin 22 075’i (% 46,1) “*bilgilendirme bildirimi*”, 10 982’si (% 23) “*uyarı bildirimi*”, 14 770’i (% 30,9) ise “*sınırdaki ret*” bildirimi olarak gerçekleşmiştir. Bildirimler tehlike grupları bakımından incelendiğinde ise; 2002–2017 yılları arasında en çok bildirim 10 434

bildirim (% 22) ile mikotoksin kaynaklı gerçekleştiği görülmektedir. Sıklıkla bildirim alınan diğer tehlike grupları ise 9 063 bildirim (% 19) ile patojen mikroorganizmalar ve 3 943 bildirim (% 8,2) ile pestisit kalıntılarıdır.

**Çizelge 2.5.** 2002–2017 yılları arasında RASFF sisteminde yer alan toplam bildirim sayıları (tehlike gruplarına göre)

Tehlike	RASFF bildirim sayıları			
	Uyarı	Bilgilendirme	Sınırdan Ret	Toplam
Ağır metaller	1 010	1 706	865	3 581
Aldatma/Hile	48	402	830	1 280
Alerjenler	789	238	20	1 047
Biokontaminantlar	237	342	93	672
Endüstriyel kontaminantlar	539	464	126	1 229
Gıda katkı maddeleri	494	1 468	593	2 555
GMO/yeni gıdalar	44	420	80	544
<b>Mikotoksinler</b>	<b>965</b>	<b>4 792</b>	<b>4 677</b>	<b>10 434</b>
Parazitler	150	304	186	640
Patojen mikroorganizmalar	3 062	4 054	1 947	9 063
Pestisit kalıntıları	355	1 660	1 928	3 943
Veteriner ilaç kalıntıları	454	1 329	314	2 097

Ülkemiz orijinli gıda ürünleri ilgili olarak 2002–2017 yılları arasında RASFF sisteminde toplam 4 070 bildirim yer almaktadır. Şekil 2.1’de ülkemiz orijinli gıda ürünleri ile ilgili olarak en sık bildirim alınan tehlike grupları gösterilmiştir.



**Şekil 2.1.** 2002–2017 yılları arasında ülkemiz orijinli gıda ürünleri kaynaklı RASFF bildirim oranları (tehlike gruplarına göre)

Şekil 2.1'in incelenmesiyle de görülebileceği gibi dünya genelinde olduğu gibi ülkemiz orijinli gıda maddelerinde de bildirimlerde ana tehlikeyi mikotoksinler oluşturmaktadır. RASFF sisteminde ülkemiz orijinli gıda maddelerinde mikotoksin kaynaklı toplam 2 223 bildirim yer almakta olup, toplam bildirimlerin (4 070 adet) % 54,6'sını oluşturmaktadır. Mikotoksinleri takiben diğer sıklıkla bildirim alınan tehlike grupları ise % 18,3 ile pestisit kalıntıları, % 8,9 ile gıda katkı ve aroma vericiler ve % 4,6 ile patojen mikroorganizmalardır.

Ülkemiz orijinli gıda ürünleri ile ilgili olarak RASFF bildirimlerinin detaylı incelemesi yapıldığında; mikotoksin kaynaklı toplam 2 223 bildirimden 1 150'sinin (oransal olarak % 51,7) sert kabuklu meyveler, 1 010'unun (% 45,4) ise kurutulmuş meyveler (kuru incir, kuru üzüm) kaynaklı olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, ülkemiz orijinli mikotoksin kaynaklı bildirimlerin % 94 gibi (2 090 adet) çok büyük bir kısmının AFs nedeniyle alındığı görülmektedir. Bu veriler, mikotoksinlerin ve özellikle de AFs'in hem ticarete sorunlara yol açabileceğine hem de gıda güvenilirliğini etkileyen tehlikelerin başında geldiğini net bir şekilde ortaya koymaktadır.

#### 2.4. AFs

AFs, difuranokumarin yapısında bileşikler olup, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius*'un toksijenik suşları tarafından üretilmektedir. Doğada *A. flavus* ve *A. parasiticus*'a sıklıkla rastlanırken, *A. nomius* nadiren bulunmaktadır. Bu küf türlerinden *A. flavus* yalnızca B grubu AFs'i ve siklopiazonik asit sentezleme yeteneğine sahipken, *A. parasiticus* hem B hem de G grubu AFs'i sentezleyebilmektedir (EFSA, 2004).

Bilinen mikotoksinler içerisinde AFs, insan sağlığı açısından en tehlikeli olanlarıdır. Bundan dolayı önemli bir yere sahip olan bu toksinler, 1960'lı yıllarda İngiltere'de çok sayıda kanatlı hayvanın ölümü ile sonuçlanan "Turkey X" hastalığı sonucunda keşfedilmiştir. Yüz binden fazla hindi ve diğer çiftlik hayvanının ölümüyle sonuçlanan salgınlar sonrasında yapılan analizler neticesinde, ölümlerin yer fıstığı

küspesi nedeniyle gerçekleştiği ortaya çıkarılmış ve keşfedilen bu metabolite “*A. flavus-toxin*” adı verilmiştir (Doyle ve ark., 1997; Moss, 2002).

Ülkemizde de AFs kaynaklı sorunlar ilk olarak 1960’lı yıllarda AFs’in keşfiyle ortaya çıkmaya başlamış, Kanada’ya ihraç edilen 10 ton fındık yüksek AFs içeriği gerekçesi ile sınırda ret edilmiştir. Sonraki yıllarda da ABD ve AB ülkelerine ihraç edilen Antep fıstığı, fındık, kuru incir, kırmızı pul biber vb. gıda ürünleri kaynaklı sorunlar yaşanmıştır. Benzer şekilde, RASFF sisteminin yasal temele oturtulduğu 2002 yılında bu yana da sert kabuklu meyveler ve kurutulmuş meyveler başta olmak üzere çeşitli ürünlerde yüksek miktarda AFs varlığıyla ilgili bildirimler sıklıkla yer almaktadır (Doyle ve ark., 1997).

AFs’in oluşumunda çok sayıda faktör rol oynamakla birlikte nem ve sıcaklık en önemli iki parametre olarak karşımıza çıkmaktadır. Aflatoksin sentezinin optimum olarak 25–30°C sıcaklık aralığında ve % 70’in üzerinde nispi nem değerlerinde gerçekleştiği vurgulanmaktadır. Küf gelişimi için gerekli olan sıcaklık ve  $a_w$  değerleri toksin oluşumu için gereksinim duyulan değerler ile aynı olmamakta ve türe göre de değişiklik göstermektedir. *A. parasiticus*’un gelişmesi için en düşük sıcaklık aralığı 6–8°C iken, 25–35°C’de optimum gelişme sağlanmaktadır. *A. flavus* için ise, en iyi gelişme aralığı 19–35°C olup, 12–42°C arasında toksin üretebilmektedir. Su aktivitesi açısından ise AFs üretiminin optimum olarak 0,98–0,99 değerlerinde gerçekleştiği,  $a_w$  değerinin 0,85 civarına düştüğünde ise toksin üretiminin durduğu belirtilmektedir (Doyle ve ark., 1997).

Tarımsal ürünlerde toksijenik küf istilasının ve AFs kontaminasyonunun iki aşamada gerçekleşebildiği bilinmektedir. Birinci aşama gelişmekte olan ürünün toksijenik küflerle enfeksiyonudur ve bu aşamada iklim önemli bir rol oynamaktadır. Gelişmekte olan bitkiler *A. flavus* kontaminasyonuna karşı dirençli olmakla birlikte, sıcaklığın yüksek olması ve kurak geçen sezonlar, ürünlerin toksijenik küf kontaminasyonuna karşı hassas bir hale gelmelerine neden olabilmektedir. Diğer yandan, aşırı yağışlı sezonlarda da AFs kontaminasyonunda artış gözlemlendiği belirlenmiştir. Bu nedenle, ürünlerin ekim/dikim zamanının iyi ayarlanması büyük

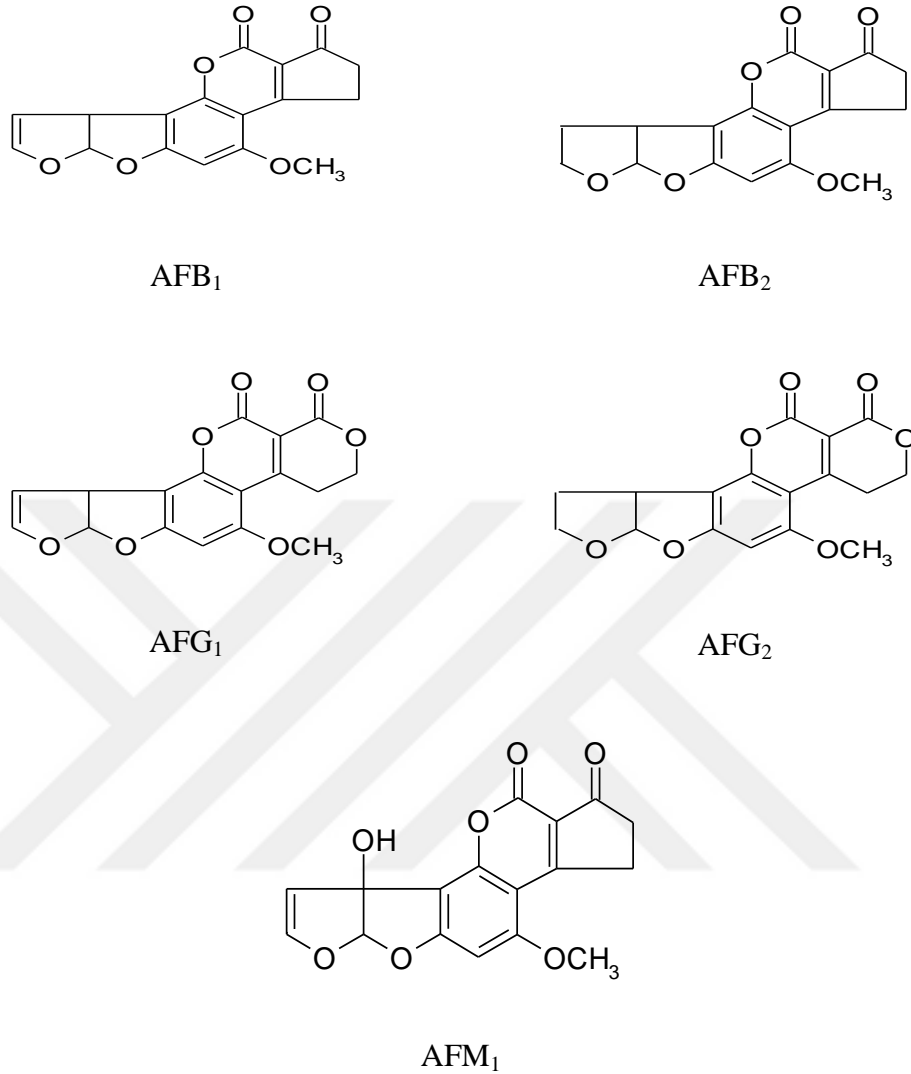
önem taşımaktadır. Bununla birlikte, kuş, kemirgen, böcek ve mekanik hasarın da tarla koşullarında ürünlere küf istilasında önemli bir rolü bulunmaktadır (Cotty ve Garcia, 2007).

Aflatoksin kontaminasyonunun ikinci evresi ise ürünün olgunlaşmasından tüketime kadar geçen süredir. Burada birinci aşamada kontamine olan küfler önemli bir rol oynamakla birlikte, özellikle nem ve sıcaklığa bağlı olarak küf istilasında ve mikotoksin biyosentezinde artış görülebilmektedir. Ürün hasadının gecikmesi, hasat öncesi veya hasat sırasında yağış görülmesi ise kontaminasyon şiddetinin artmasına neden olan faktörlerdir (Cotty ve Garcia, 2007).

#### **2.4.1. AFs'in kimyasal yapıları ve özellikleri**

Difuranokumarin yapısında olan AFs'in 18 farklı formunun bulunduğu belirtilmektedir. AFs grubu içerisinde doğada en sık rastlanılanları AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub>'dir. Bu moleküller, ultraviyole (UV) ışığı altında verdikleri floresans davranışlarına göre isimlendirilmektedir. AFB<sub>2</sub> ve AFG<sub>2</sub>, sırasıyla AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub>'in dihidro türevleridir. "B" ve "G" harfleri UV ışığı altında verdikleri "mavi (blue)" ve "yeşil (green)" floresansları nitelendirmektedir. Alt indis olarak belirtilen "1" ve "2" rakamları ise majör ve minör metabolitleri tanımlamak amacıyla kullanılmaktadır (Pitt, 2000). Kloroform–metanol hareketli fazında geliştirilen ince tabaka kromatografisi (TLC)'nde AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub> UV ışığı altında sırasıyla 0,4 ve 0,36 R<sub>F</sub> değeri (yürüme hızı) verirken, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> metabolitleri sırasıyla 0,34 ve 0,31 R<sub>F</sub> değerine sahip turkuaz yeşili floresans vermektedir (Desphande, 1994). Bununla birlikte, AFB<sub>1</sub> ile kontamine olmuş yem maddelerinin memeli hayvanlar tarafından tüketimi sonucunda, metabolizma faaliyeti olarak AFB<sub>1</sub>'in 4. karbon atomuna bir hidroksil (OH) grubu bağlanarak AFM<sub>1</sub> molekülü oluşmaktadır. AFM<sub>1</sub>, süt toksini olarak da bilinmektedir (EFSA, 2004). Süt veren hayvanlarda AFB<sub>1</sub>'in AFM<sub>1</sub>'e dönüşüm oranının % 0,5–6 arasında değişiklik gösterdiği saptanmıştır (Galvano ve ark., 1996). Şekil 2.2'de bazı önemli AFs'in kimyasal yapıları gösterilmiştir.





**Şekil 2.2.** AFs'in kimyasal yapıları (EC, 2011)

#### 2.4.2. AFs'in sağlık üzerine etkileri

AFs'in insan ve hayvanlara karşı toksik etkisi akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. AFs'in akut toksik etkide bulunabilmeleri için gıda ile birlikte yüksek miktarda alınmaları gerekmektedir. Bu nedenle günümüzde akut aflatoksikozis vakalarına nadiren rastlanmaktadır. 1967 yılında Tayvan'da  $200 \mu\text{g kg}^{-1}$  konsantrasyonunda AFB<sub>1</sub> ile kontamine olmuş pirinç tüketimi sonucu 26 kişide aflatoksikozis vakası meydana gelmiş ve 19 çocuktan 3'ü ölmüştür. 1974 yılında Hindistan'da AFs'le kontamine olmuş ürün tüketimi sonucu 400 kişi hepatit

hastalığından etkilenmiş ve bunlardan 100'ü ölmüştür (Doyle ve ark., 1997). Benzer şekilde, 2004 yılında Kenya'da yaşanan 317 akut aflatoksikozis vakasında 125 ölüm (ölüm oranı % 39,4) olayı görülmüştür. Bu vaka ile ilgili olarak yapılan araştırmalarda, insanlar tarafından tüketilen mısırların 20–80 000  $\mu\text{g kg}^{-1}$  arasında değişen miktarlarda AFs içerdikleri saptanmıştır (Probst ve ark., 2007).

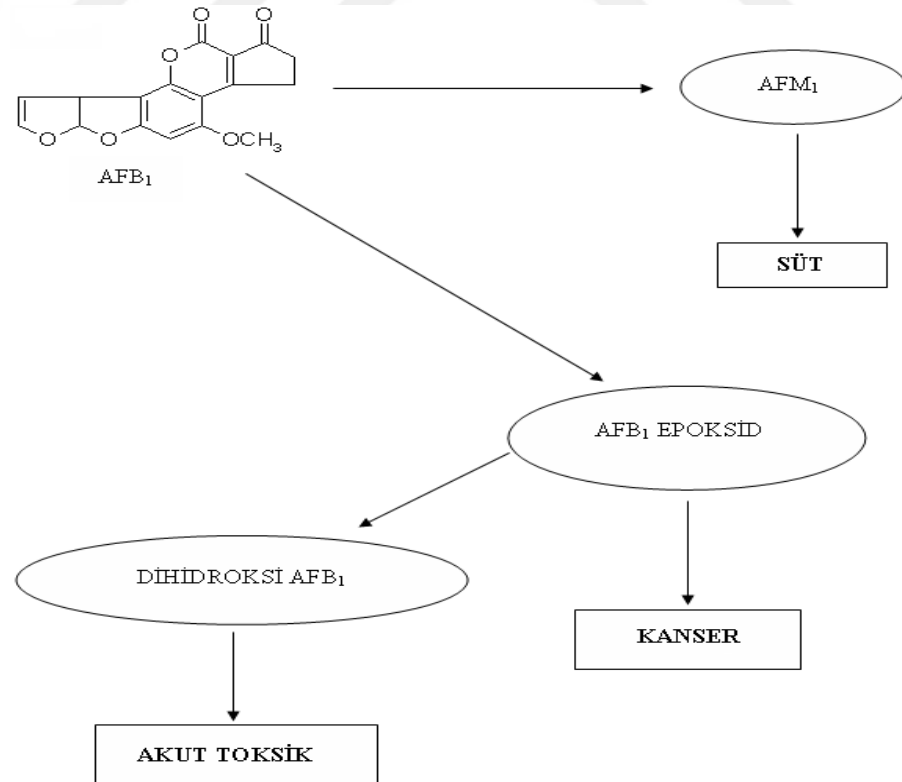
Akut insan zehirlenmeleri kusma, karın ağrısı, pulmoner veya serebral ödem, nekroz ve yağlı karaciğer ile karakterize edilmektedir. Akut zehirlenmedeki diğer belirtiler, anoreksiya, depresyon, sarılık, ishal ve ışığa duyarlılıktır. Diğer yandan, yemlerde AFs'in daha yüksek miktarda bulunmaları nedeniyle akut aflatoksikozis vakaları hayvanlarda insanlara göre daha sıklıkla görülmektedir. (Marin ve ark., 2013).

Kronik toksisite, aflatoksikozisin en yaygın görülen şeklidir ve toksik bileşiklere (nispeten daha düşük konsantrasyonlarda) uzun süre maruz kalınmasından kaynaklanmaktadır. Toksik etkiler yaş, cins, cinsiyet, beslenme durumu, doz ve maruz kalma süresi gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Kronik toksik etki sonucu hayvanlarda görülen semptomlar çoğunlukla spesifik özellik taşımamakta ve bu nedenle de tanıda zorluklar bulunmaktadır. Bununla birlikte sıklıkla görülen semptomlar, kilo kaybı, daha düşük yem dönüşümü, yumurta veya süt üretiminde azalma ve bulaşıcı hastalıklara duyarlılığın artması gibi parametrelerdeki azalmayla ilgilidir (Marin ve ark., 2013). AFs içinde en yüksek toksik aktiviteye AFB<sub>1</sub> sahip olup, toksik etkileri sırasıyla AFM<sub>1</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFM<sub>2</sub> ve AFG<sub>2</sub>'ye doğru azalma eğilimi göstermektedir (Jay, 1992; McLean ve Dutton, 1995).

AFs'e maruziyet sonucunda insan ve hayvanlarda karsinojenik, mutajenik, teratojenik ve bağışıklık sistemini baskılayıcı etkiler görülebilmektedir (Eaton ve Gallagher, 1994). AFs'in insanlara karşı gösterdiği en önemli kronik toksik aktivite karaciğer kanseri olarak bilinmekte olup, yoğun olarak Orta Afrika ve Güneydoğu Asya bölgelerinde görülmektedir. Bazı Afrika ülkelerinde ve Tayland'da yapılan epidemiyolojik çalışmalarda karaciğer kanseri ile AFs'e maruziyet arasında korelasyon görülmüştür (Doyle ve ark., 1997; Pitt, 2000). Diğer yandan, Afrika'da

yüksek oranda karaciğer kanseri vakası görülmesinde hepatit B enfeksiyonunun da etkili olduğu, hepatit B ve AFs'in sinerjik etki gösterebildiği öne sürülmektedir (Pitt, 2000; Moss, 2002). ABD'de yapılan çalışmalarda ise karaciğer kanseri ile aflatoksin maruziyeti arasında herhangi bir ilişki tespit edilememiştir (Pitt, 2000). IARC tarafından 1993 yılında yapılan sınıflandırmada AFB<sub>1</sub> ve toplam AFs (AFB<sub>1</sub>+AFB<sub>2</sub>+AFG<sub>1</sub>+AFG<sub>2</sub>) grup 1 (*insan karsinojeni*) olarak değerlendirilmiştir.

Genotoksik karsinojenlerden biri olan AFs'in yol açtığı DNA değişiklikleri, karaciğer hücrelerinin yavaş yavaş ölmesine ve malign tip tümör hücrelerinin oluşmasına neden olmaktadır. AFs'e maruziyet sonrası, hayvanlarda bağışıklık sistemini baskılayıcı etkiler görülmektedir. Memeli ve kanatlı deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda AFs'in özellikle de AFB<sub>1</sub>'in oldukça güçlü embriyotoksik etkilerinin olduğu belirlenmiştir (EFSA, 2007a). Şekil 2.3'de AFB<sub>1</sub>'in metabolize edilmesi sonucunda oluşan bileşiklerin toksik ve/veya karsinojenik özellikleri gösterilmiştir.



**Şekil 2.3.** AFB<sub>1</sub>'in metabolize edilmesi sonucu oluşan bileşiklerin toksik ve karsinojenik aktivitesi (Moss, 2002).

### 2.4.3. AFs'in yasal limitleri

1960'lı yıllarda AFs'in keşfinden beri tüketicileri mikotoksinlerin zararlı etkisinden korumak ve ticarete yaşanabilecek sorunları ortadan kaldırmak amacıyla bir çok ülkede mikotoksinler için gıdalarda bulunmasına izin verilen ML değerleri belirlenmiştir. Bu ML değerlerinin belirlenmesinde mikotoksinin toksisitesi, gıda tüketim düzeyi, mikotoksinlerin gıdada bulunma düzeyleri, analitik metot ve ekonomik faktörler gibi pek çok faktör rol oynamaktadır. Mikotoksinler açısından ilk ML değerleri AFs için oluşturulmuş olup, günümüzde 100'ün üzerinde ülkede çeşitli mikotoksinlerle ilgili gıdalarda bulunmasına izin verilen ML değerleri bulunmaktadır.

AB'de belirli bulaşanlar için gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen ML değerleri 2006 yılında "Commission Regulation 1881/2006" ile belirlenmiştir (European Commission (EC), 2006b). Bu düzenlemede, mikotoksinler içerisinde AFB<sub>1</sub>, toplam AFs (AFB<sub>1</sub>+AFB<sub>2</sub>+AFG<sub>1</sub>+AFG<sub>2</sub>), AFM<sub>1</sub>, OTA, DON, FUM (FB<sub>1</sub>+FB<sub>2</sub>), ZEA ve patulin için ML değerleri bulunmaktadır. Bununla birlikte, sonraki yıllarda bazı mikotoksinler ve gıda ürünleri için ML güncellemeleri de gerçekleştirilmiştir. AB'ye katılım müzakereleri sürecini yürütmekte olan ülkemiz "Fasıl 12- Gıda Güvenliği, Veterinerlik ve Bitki Sağlığı" kapsamında ML değerlerini AB ile uyumlu bir hale getirmiş olup, düzenlemeler 2011 yılında Türk Gıda Kodeksi (TGK) Bulaşanlar Yönetmeliği'nde yayımlanmıştır (TGK, 2011). AFs için TGK Yönetmeliği'nde yer alan ML değerleri Çizelge 2.6'da verilmiştir.

**Çizelge 2.6.** TGK AFs için gıdalardaki maksimum limitler (TGK, 2011)

Gıda Maddesi	Maksimum Limit ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		
	AFB <sub>1</sub>	Toplam AFs	AFM <sub>1</sub>
Yerfıstığı, diğer yağlı tohumlar ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	5	10	—
Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8	10	—
Fındık ve Brezilya fındığı (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)*Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	5	10	—
Sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	5	10	—
Kurutulmuş meyveler (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8	10	—
Çiğ süt, ısıtılmış süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	—	—	0,05
Baharatın aşağıdaki türleri için; Kırmızıbiber ( <i>Capsicum</i> spp.) (bunların kurutulmuş meyveleri, tüm ve öğütülmüş halleri dahil) Karabiber ( <i>Piper</i> spp.) (bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) Hintceviz/Muskat ( <i>Myristica fragrans</i> ) Zencefil ( <i>Zingiber officinale</i> ) Zerdeçal ( <i>Curcuma longa</i> ) Bunların bir veya birkaçını içeren karışım baharat	5	10	—

#### 2.4.4. Aflatoksin analiz yöntemleri

Çizelge 2.6'dan da görülebileceği gibi gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen maksimum limitler milyarda bir kaç kısım ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) gibi oldukça düşük miktarlardır. Bununla birlikte, mikotoksinlerin ve özellikle de AFs'in gıda güvenilirliğini etkileyen önemli kimyasal tehlikelerden biri olması nedeniyle, gıda maddelerinde bulunabilecek son derece düşük kontaminasyon seviyelerinin doğru, güvenilir, hassas, hızlı ve sağlam analiz metotlarıyla belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla AFs'in keşfinden beri analiz metotları üzerine çok sayıda araştırma yapılmış ve farklı ekstraksiyon ve analitik yöntemler geliştirilmiştir.

Mikotoksinlerin katı gıda maddelerinde özellikle de fındık, badem, incir gibi büyük hacme sahip ürünlerde heterojen bir dağılım göstermeleri nedeniyle numune alma ve numune hazırlama prosedürleri en az kullanılan analitik yöntem kadar önem taşımaktadır. Bu amaçla, AB’de gıda maddelerinde mikotoksin analizlerinde numune alma, numune hazırlama ve analiz yöntemi parametreleri belirlenmiştir (European Commission, 2006a). Benzer şekilde, AB ile müzakereler çerçevesinde 12. Fasıl olan “Gıda Güvenliği, Veterinerlik ve Bitki Sağlığı” uyum yasaları kapsamında “TGK Gıdalardaki Mikotoksin Seviyelerinin Resmi Kontrolü için Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği (Tebliğ No: 2018/10)” Resmi Gazete’de 15 Mart 2018 tarihinde yayımlanmıştır (TGK, 2018).

Mikotoksin analizlerinde ikinci aşamayı ekstraksiyon ve ekstrakt temizleme işlemleri oluşturmaktadır. Gıda materyallerinden aflatoksinlerin ekstraksiyonunda genellikle metanol/su çözümleri kullanılmaktadır. Ekstraksiyon çözeltilerinde kullanılan metanol/su oranları gıda maddesinin özelliğine (yağ içeriği vb.) ve analiz metoduna göre farklılıklar gösterebilmektedir.

Diğer yandan, mikotoksin tespitinde kullanılan analitik yöntemlerin çoğunda analitik cihazla tespit işlemi öncesinde etkili ekstrakt temizleme işlemlerinin yapılmasına gereksinim duyulmaktadır. Bu amaçla AOAC (Amerikan Resmi Analitik Kimyacılar Birliği) tarafından geliştirilen ilk ekstrakt temizleme yöntemleri AOAC Metot I (CB yöntemi) ve AOAC Metot II (BF yöntemi)’dir. Ekstrakt temizleme işlemleri CB yönteminde kromatografi kolonunda gerçekleştirilirken, BF yönteminde ise ayırma hunilerinde yapılmaktadır. Diğer yandan, çok sayıda solvent kullanılması, yoğun atık birikimi, etkili ekstrakt temizleme işlemlerinin yapılamaması, zaman alması ve güvenlik endişeleri nedeniyle zaman içinde kullanımı azalmıştır. Bu ekstrakt temizleme yöntemlerinin yerine sep-pak kartuş ve IAC kullanımı yaygınlaşmıştır. IAC yöntemi, antijen-antijen reaksiyonu temeline dayanan serolojik bir yöntem olup, son yıllarda HPLC ile tespit öncesi ekstrakt temizleme amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Var ve ark., 2004).

Mikotoksinlerin kalitatif ve kantitatif tespitinde kullanılan yöntemler; TLC, HPLC gaz kromatografisi (GC), gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GC-MS), sıvı kromatografisi kütle spektrometresi (LC-MS/MS), kapiler elektroforez, enzyeme-linked immunosorbent assay (ELISA), hızlı analiz kitleri ve biyosensörlerdir (Gilbert ve Anklam, 2002). Mikotoksin analizlerinde bu yöntemlerden özellikle HPLC ve LC-MS/MS yöntemleri üniversite, kamu ve özel laboratuvarlarında en yaygın olarak kullanılanlarıdır.

HPLC yöntemi, gıda ve yem maddelerinde bulunabilecek AFs'i algılamak ve tayin etmek için dünyada kullanılan en yaygın yöntemdir. AFs'in analizlerinde yaygın olarak floresans detektör kullanılmakla birlikte, diğer mikotoksinlerin tespitinde UV, photo diode array ve kütle spektrometresi detektörlerinden de yararlanılmaktadır (Espinosa-Calderón ve ark., 2005). Floresans detektörde hücreden hareketli faz içerisinde çözülmüş halde analitler geçerken üzerine uzun dalga boyunda monokromatik ışın gönderilmektedir. Analit tarafından absorbe edilen bu ışın daha sonra başka dalga boyunda geri verilmektedir. Floresans ölçümde bu emisyon analiz için değerlendirilmektedir (Var ve ark., 2004).

HPLC sisteminde hareketli faz seçiminde analiz edilen mikotoksin tipi önemli rol oynamakla birlikte AFs'in analizlerinde genellikle farklı oranlarda su/asetonitril/metanol karışımı kullanılmaktadır. Benzer şekilde, sabit faz seçiminde analiz edilen mikotoksin tipine bağlı olarak farklı dolgu materyali (silisyum dioksit, alüminyum oksit vb.) içeren kolonlar kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan kolonlarda, dolgu materyalinin partikül büyüklüğü, gözenek büyüklüğü, kolon iç çapı, kolon uzunlukları vb. özellikleri değişiklik göstermektedir.

HPLC sisteminde toplam AFs'in analizlerinde, her bir aflatoksin tipinin doğru ve hassas tespitinin sağlanması amacıyla türevlendirme işlemi gerçekleştirilmektedir. Bu amaçla, ya triflor asetik asit ile kolon öncesi türevlendirme yapılmakta ya da HPLC sistemine kolon çıkışı-detektör girişi arasına kolon sonrası türevlendirme ünitesi (Kobra cell vb.) dahil edilmektedir (Espinosa-Calderón ve ark., 2005).

AFs'in tespitinde IAC sonrası HPLC sisteminin kullanımının en önemli avantajları; doğru, güvenilir, hassas (düşük tespit ve ölçüm limiti) ve kesinliği yüksek analiz sonuçların ortaya çıkmasının sağlanmasıdır.

Son yıllarda, özellikle çoklu mikotoksinlerin aynı anda kalitatif ve kantitatif tayininde LC-MS/MS sistemi kullanılmaya başlanmıştır. Kütle spektrumu, analitlerin kolayca hareket edebilen iyonlara dönüştürülmesi ve bu iyonların kütle/yük oranına göre sıralanmasıyla elde edilmektedir. Diğer yandan, yatırım maliyetinin yüksek olması ve yüksek teknik donanım sahip personele gereksinim duyulması bu yöntemi sınırlandıran faktörler arasında yer almaktadır.

Bununla birlikte, özellikle tarımsal ürünlerde mikotoksin tespitine yönelik, ekipman, teknik personel ve donanımlı bir laboratuvar gerektirmeyen (tarla koşullarında dahi yapılabilen) ve çok hızlı sonuç alınabilen mikotoksin tarama yöntemleri üzerinde durulmaktadır. Bu amaçla geliştirilmiş sınırlı sayıda uluslararası firmaya ait kalitatif/yarı kantitatif hızlı mikotoksin tarama kitleri bulunmaktadır. Diğer yandan, bu yöntemlerin genellikle yarı kantitatif ve ölçüm limitlerinin yüksek olması bilimsel araştırmalarda kullanımını sınırlandıran en önemli faktörlerdir.

#### **2.4.5. AFs açısından riskli gıda maddeleri**

AFs açısından riskli gıda maddeleri arasında; mısır ve mısır ürünleri başta olmak üzere çeşitli tahıl ve tahıl bazlı ürünler, baharat, kuru incir, yerfıstığı, sert kabuklu meyveler (Antep fıstığı, fındık, ceviz, badem vb.), hindistan cevizi, kakao, süt ve süt ürünleri yer almaktadır (Hepsag ve ark., 2014). Sert kabuklu meyveler, AFs açısından yüksek/orta risk grubunda yer almakta olup, RASFF bildirimlerinden de görülebileceği gibi en sık bildirim alan grubu oluşturmaktadır. Sert kabuklu meyvelerde AFs konusunda yapılan çalışmalar genellikle Antep fıstığı ve fındık üzerinde yoğunlaşmış olup, bademlerde aflatoksin riski konusunda sınırlı veri bulunmaktadır.



#### 2.4.6. Bademde aflatoksin varlığı konusunda yapılan çalışmalar

Sert kabuklu meyveler arasında önemli bir ekonomik değere sahip olan bademde, küf florasını belirlemeye yönelik olarak çeşitli araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Phillips ve ark. (1979) ABD Kaliforniya eyaletinde marketlerden toplanan badem örneklerinde küf florasını belirlemek amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmada, satışa sunulan bademlerde en sık rastlanılan küf cinslerinin *Aspergillus* (% 100), *Eurotium* (% 30), *Penicillium* (% 27) ve *Rhizopus* (% 19) olduğunu tespit etmişlerdir.

Bu konuda yapılan diğer bir çalışmada, Abdel-Gawad ve Zohri (1993) Suudi Arabistan'dan satışa sunulan bademlerin küf florasının % 98'ini *A. flavus* Flavi, geri kalan % 2'sini ise *A. tamarii*'nin oluşturduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde, ABD Kaliforniya eyaletinde badem bahçeleri ve depolardan toplanan badem örneklerinin % 93'ünde *A. flavus*, % 7'sinde ise *A. tamarii* izole edilmiştir (Bayman ve ark., 2002).

Buna karşın, Jermini ve ark. (2006) tarafından İsviçre'de yapılan benzer bir çalışmada, satışa sunulan bademlerde *Ciboria bastiana*, *Penicillium* ve *Mucor hiemalis* küflerine rastlarken, örneklerde *Aspergillus* cinsi küflere rastlanılmamıştır. Benzer şekilde, Ali ve ark. (2009), Pakistan, Afganistan ve İran orijinli badem örneklerinde küf florasını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada *Fusarium*, *Alternaria*, *Eurotium*, *Aspergillus niger* ve *Penicillium* cinsi küflere rastlarken, örneklerin hiç birinde *A. flavus* bulunamamıştır.

Aflatoksin üreten *A. flavus* ve *A. parasiticus* suşlarının Kaliforniya eyaleti badem bahçelerinde oldukça yaygın olduğu hemen hemen her badem bahçesinde görülebildiği bildirilmektedir (ABC, 2017). Kaliforniya eyaletinin güney, doğu ve merkez bölgelerinde yer alan badem bahçelerinde *A. flavus*'un yaygın olduğu belirtilirken, *A. parasiticus*'un ise yalnızca Kaliforniya eyaletinin kuzey bölgelerinde yer alan badem bahçelerinde yaygın olarak görüldüğü belirtilmiştir (Michailides ve ark., 1996). Araştırmacılar ayrıca, *A. flavus/A. parasiticus* yoğunluğunun badem

bahçelerinde, Antep fıstığı ve incir bahçelerine göre daha yüksek olduğunu vurgulamışlardır.

Rodrigues ve ark. (2012), 21 Portekiz bademi örneğinin aflatoksijenik küf ve AFs kontaminasyon düzeylerini araştırmıştır. Badem örneklerinden *Aspergillus section Flavi*'ye ait toplam 352 küf izole edilmiştir. İzole edilen küflerin 127'si *A. flavus*, 196'sı tipik veya atipik *A. parasiticus* ve 29'u *A. tamarii* olarak tanımlanmıştır. İzole edilen *A. flavus*'ların % 28'inin B grubu AFs ürettiği, *A. parasiticus* suşlarının tümünün B ve G grubu AFs ürettiği, *A. tamarii*'nin ise nonaflatoksijenik karakter gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmacılar ayrıca, 21 örnekten yalnızca birinde AFs'e ( $4,97 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) rastlamışlardır.

Gallo ve ark. (2016), bademlerde aflatoksijenik küf gelişimi ve aflatoksin üretim koşullarını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, farklı sıcaklık (20, 28 ve 37°C) ve farklı  $a_w$  değerlerinin (0,90, 0,93, 0,96 ve 0,99) *A. flavus* gelişimi ve AFB<sub>1</sub> üretimi üzerine etkisini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, *A. flavus* gelişimi ve AFB<sub>1</sub> üretiminin 28°C ve 0,96  $a_w$  değerlerinde maksimum olarak gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir. Buna karşın, 20°C'de hem 0,90 hem de 0,93  $a_w$  değerlerinde badem örneklerinde *A. flavus* gelişimi ve AFB<sub>1</sub> tespit edilememiştir. Bu konuda Giorni ve ark. (2007) tarafından yapılan diğer bir çalışmada da mısırlarda *A. flavus* gelişiminin optimum olarak 0,99  $a_w$  ve 25–30°C sıcaklık aralığında gerçekleştiği belirtilmiştir.

Diğer yandan, bademlerde AFs varlığı/miktarı konusunda sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Schade ve ark. (1975), 74 adet kabuklu Kaliforniya bademini incelemiş ve badem örneklerinin 10'unda (% 13,5) 1–107  $\mu\text{g kg}^{-1}$  arasında değişen miktarlarda aflatoksin tespit etmişlerdir. Bu konuda yapılan diğer bir çalışmada, Pakistan'da satışa sunulan 10 adet kabuklu badem örneğinin 3'ünde ortalama 2,13  $\mu\text{g kg}^{-1}$  aflatoksin bulunmuştur (Lutfullah ve Hussain, 2011). Bahreyn'de sınırlı sayıda yapılan bir çalışmada ise, marketlerde satışa sunulan 3 badem örneğinin hiç birinde AFs'e rastlanılmamıştır (Musaiger ve ark., 2008).

Sugita-Konishi ve ark. (2010), Japonya’da yaşayan insanların diyetlerinde yer alan gıda ürünleri yoluyla AFs’e maruziyetini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, 2006 yılında marketlerden satın aldıkları 24 adet badem örneğinin 6’sında (örneklerin % 25’inde) 0,89  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ’e varan konsantrasyonlarda AFB<sub>1</sub>’e ve 1,06  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ’e varan miktarlarda toplam AFs’e rastlamışlardır.

Ülkemizde satışa sunulan badem örneklerinin aflatoksin içeriği konusunda yalnızca 3 adet çalışmaya rastlanmıştır. 2001–2002 yılları arasında Erzurum’da yapılan bir çalışmada, marketlerden satın alınan 13 adet badem örneğinin aflatoksin içeriği TLC tekniği ile incelenmiştir. Badem örneklerinin 10’unda 1–13  $\mu\text{g kg}^{-1}$  arasında değişen miktarlarda AFB<sub>1</sub>’e rastlanmıştır (Gürses, 2006). Benzer şekilde, Gürses ve Erdoğan (2004) tarafından diğer bir çalışmada, Erzurum piyasasından değişik market ve kuru yemiş satış noktalarından temin edilen 22 yer fıstığı, 13 Antep fıstığı ve 9 badem örneği AFB<sub>1</sub> varlığı yönünden TLC yöntemiyle analiz edilmiştir. Araştırmacılar, 22 yer fıstığı örneğinin 5’inde (oransal olarak % 22,7), 13 Antep fıstığı örneğinin 3’ünde (oransal olarak % 23,1) ve 9 badem örneğinin 2’sinde (oransal olarak % 22,2) AFB<sub>1</sub>’e rastlamışlardır. Yer fıstığı, Antep fıstığı ve badem örneklerinde saptanan AFB<sub>1</sub> miktarları ise 1,2–11,3  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , 1,1–1,5  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ve 2,9–4,7  $\mu\text{g kg}^{-1}$  arasında değişiklik göstermiştir.

Garipoğlu (2006) tarafından gerçekleştirilen yüksek lisans çalışmasında ise bazı baharat ve kuru yemiş örneklerinde AFB<sub>1</sub> varlığı ve toksin miktarı ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. Araştırmacı, 2004 hasat yılına ait 88 badem örneğinin 68’inde (oransal olarak % 77,3) 0,33–4  $\mu\text{g kg}^{-1}$  arasında değişen miktarlarda aflatoksin tespit ederken, 2005 hasat yılına ait 117 badem örneğinin 39’unda (oransal olarak % 33,3) 0,35–2  $\mu\text{g kg}^{-1}$  arasında değişen miktarlarda aflatoksin saptamıştır.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Badem

Araştırmada toplam 80 adet kabuksuz badem örneği AFs'in varlığı yönünden incelenmiştir. Badem örneklerinin 50'si kavrulmuş iken, 30'u çiğ badem olarak satın alınmıştır. Badem örnekleri Çorum ve İstanbul illerinde faaliyet gösteren çeşitli satış noktalarından (kuruyemiş satış noktaları, market vb.) numune alma prosedürüne uygun olarak temin edilmiştir. Badem örnekleri Avrupa Komisyonu 401/2016 no'lu örnekleme raporuna (EC, 2006a) uygun olarak en az 300 g olarak satın alınmış olup en kısa zamanda Hitit Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Laboratuvarı'na getirilerek  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

AFs'in ürüne heterojen dağılım göstermesi nedeniyle, homojen dağılımı sağlamak amacıyla badem örnekleri Waring blender (Waring Products Co., Torrington, Connecticut, USA) kullanılarak partikül boyutları küçültülmüş (Resim 3.1) ve en kısa sürede analize alınmıştır.



**Resim 3.1.** Partikül boyutu küçültülmüş badem örnekleri

### 3.1.2. Kimyasal maddeler

Araştırmada kullanılan metanol ve asetonitril çözeltileri HPLC saflığında olup Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) marka kullanılmıştır. Analitik saflıkta mono potasyum fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) ve susuz disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) kimyasalları da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) marka olup piyasadaki çeşitli firmalardan satın alınmıştır. Nitrik asit (% 65), sodyum klorür ( $\text{NaCl}$ ) ve potasyum bromit ( $\text{KBr}$ ) Merck (Darmstadt, Almanya) marka kullanılmıştır. Fosfat tamponu (PBS) hazırlığında kullanılan potasyum klorür ( $\text{KCl}$ ) (Leuven, Belçika) VWR firmasından temin edilmiştir. Araştırmanın tüm aşamalarında Millipore Direct- Q3 tarafından üretilen ultra saf su kullanılmıştır. Ekstraktları süzmek amacıyla ilk aşamada Whatman filtre kâğıdı ve ikinci aşamada cam mikrofiber filtre kâğıdı (VWR, Leuven, Fransa) kullanılmıştır.

### 3.1.3. Aflatoksin standardı

Araştırmada Supelco<sup>®</sup> firmasından temin edilen aflatoksin miks standardı (katalog no: 46304-U, Bellefonte, PA, USA) kullanılmıştır. Aflatoksin standardı (1  $\mu\text{g}$   $\text{AFB}_1$ , 0,3  $\mu\text{g}$   $\text{AFB}_2$ , 1  $\mu\text{g}$   $\text{AFG}_1$  ve 0,3  $\mu\text{g}$   $\text{AFG}_2$ ) 1 ml metanol içerinde çözünmüş olarak cam ampullerde temin edilmiştir.

### 3.1.4. IAC

Badem örneklerine ait ekstraktları temizlemek amacıyla AFs'e karşı spesifik antikorlar içeren AflaTest<sup>®</sup> VICAM marka IAC (ürün kodu:12022, Watertown, MA, USA) kullanılmıştır.

### 3.1.5. PBS hazırlanması

Badem ekstraktlarının temizlenmesi aşamasında 1 litre saf su için 0,2 g  $\text{KCl}$ , 0,2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1,16 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ve 8 g  $\text{NaCl}$  ile hazırlanan PBS kullanılmıştır.

### 3.1.6. Aflatoksin standardının hazırlanması

Supelco firmasından cam ampuller içinde temin edilen aflatoksin miks ( $AFB_1+AFB_2+AFG_1+AFG_2$ ) standart çözeltisi metanol kullanarak seyreltilmiş ve ikinci düzey stok standardı ( $0,1 \mu g ml^{-1} AFB_1$ ,  $0,03 \mu g ml^{-1} AFB_2$ ,  $0,1 \mu g ml^{-1} AFG_1$  ve  $0,03 \mu g ml^{-1} AFG_2$ ) hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisini oluşturmak amacıyla kullanılan standart çözeltiler, bu ikinci düzey stok standart çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Ekstraksiyon

Badem örneklerinde AFs'in varlığı/miktarı AOAC 999.07 Resmi yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (Stroka ve ark., 2001). Badem örneklerinden AFs'in ekstraksiyonu amacıyla uygulanan işlem aşamaları şu şekildedir:

- Waring blender'da parçalanarak partikül haline gelen badem örneklerinden 50 g alınarak üzerine 5 g NaCl ve 300 ml metanol-su ekstraksiyon çözeltisi (80:20, v/v) ilave edilmiş ve Waring blendırda yüksek hızda 3 dk. süreyle homojenize edilmiştir.
- İkinci aşamada karışım whatman kaba filtre kağıdı kullanarak süzülmüştür.
- Elde edilen filtrattan 10 ml alınarak 60 ml PBS ile dilue edilmiş ve  $1,6 \mu m$  gözenek çapına sahip cam microfiber filtreden geçirilmiştir.
- AFs'e karşı spesifik antikorlar içeren IAC (Vicam, Aflatest, USA) vakum manifold düzeneğine (Agilent, USA) yerleştirilmiş ve seyreltilen filtrat dakikada 2-3 ml olacak şekilde IAC'dan geçirilmiştir.
- Immunoaffinity kolonlar 2 defa 10 ml ultra saf su kullanarak yıkanmış ve vakum uygulanarak kurutulmuştur.
- Spesifik antikorlara bağlı halde bulunan olası  $AFB_1$ ,  $AFB_2$ ,  $AFG_1$  ve  $AFG_2$  kolondan 1000  $\mu l$  metanol ( $2 \times 500 \mu l$ ) geçirilerek HPLC viallerine alınmış ve üzerine 1 ml ultra saf su ilave edilmiştir.

- Son olarak 100 µl örnek HPLC cihazına enjekte edilerek AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> varlığı/miktarı tespit edilmiştir.

### 3.2.2. HPLC-FLD analizi

Badem örneklerinde kalitatif/kantitatif AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> tespitinde Shimadzu marka (RF-20AXL model) HPLC sistemi kullanılmıştır (Resim 3.2). Bu sistemde; LC20-AD izokratik pompa ünitesi, online vakum degaser (DGU-20A3), floresans detektör (RF-20AXL), otomatik enjektör ünitesi (SIL-20AHT), kolon fırını (CTO-20A) ve sistem kontrol ünitesi (CBM-20 Alite) yer almaktadır. HPLC cihazı kullanarak kalitatif ve kantitatif AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> tespitinde uygulanacak AFs analiz metodu, AOAC 999.07 Resmi yönteminden yararlanılarak ön denemeler neticesinde aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur:

*Kolon:* ODS-3 uzun kolon (250x4,6 mm, 5 µm inertsil®)

*Detektör:* Floresans, *excitation (tahrik dalga boyu):* 360 nm; *emission (yayım dalga boyu):* 440 nm

*Kolon sıcaklığı:* 35°C

*Hareketli faz:* su-asetonitril-metanol (6:2:3, v/v/v)

*Hareketli faz akış hızı:* 1 ml dk.<sup>-1</sup>

*Analiz süresi:* 20 dakika

*Enjeksiyon miktarı:* 100 µl

AFs analizinde ayrıca HPLC sisteminde kolon çıkışı-florensans detektörü girişi arasına, kolon sonrası türevlendirme ünitesi (Kobra cell) dahil edilmiştir. Türevlendirmede, iyonlaşmayı sağlamak için HPLC hareketli faz (1 000 ml'ye) içine 350 µl nitrik asit (4 M, HNO<sub>3</sub>) ve 120 mg KBr ilave edilmiştir.



**Resim 3.2.** AFs'in analizlerinde kullanılan HPLC cihazı

### 3.2.3. Metot validasyonu

AFs analizinde metot validasyonu amacıyla lineer ölçüm aralığı (doğrusallık/çalışma aralığı), tespit limiti (LOD), ölçüm limiti (LOQ), geri kazanım ve tekrarlanabilirlik çalışmaları yürütülmüştür.

Kalibrasyon eğrilerinin oluşturulması amacıyla 7 farklı konsantrasyonda aflatoksin standart çözeltisi ( $AFB_1$  ve  $AFG_1$  için  $0,5-25 \mu g l^{-1}$ ,  $AFB_1$  ve  $AFG_1$  için  $0,15-7,5 \mu g l^{-1}$ ) ile HPLC cihazına 3'er enjeksiyon gerçekleştirilmiş ve pik alanlarına göre her bir toksin için 7 farklı noktadan oluşan kalibrasyon (doğrusallık) eğrisi ve lineer eşitlik oluşturulmuştur.

$AFB_1$ ,  $AFB_2$ ,  $AFG_1$  ve  $AFG_2$ 'nin LOD ve LOQ değerleri geri kazanım çalışmalarıyla belirlenmiştir. Bu amaçla; aflatoksin içermeyen badem örneklerine düşük düzeyde aflatoksin standart çözeltisi ( $AFB_1$  ve  $AFG_1$  için  $0,5 \mu g kg^{-1}$ ,  $AFB_2$  ve  $AFG_2$  için  $0,15 \mu g kg^{-1}$ ) eklenerek 10 adet geri alma çalışması gerçekleştirilmiştir. Metodun uygulanmasıyla elde edilen sonuçların standart sapmasının (SD) 3 katı alınarak LOD değeri, 10 katı alınarak da LOQ değeri bulunmuştur.



Bademlerden AFs'i geri alma çalışması için, AFs'i içermediği tespit edilen badem örneğine aflatoksin standart çözeltisi (AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> miktarı: 5 µg kg<sup>-1</sup>, AFB<sub>2</sub> ve AFG<sub>2</sub> miktarı: 1,5 µg kg<sup>-1</sup>) ilave edilmiş ve toksinlerin gıda matriksine adsorbe olması için bir gece beklenmiştir (n=5). Daha sonra laboratuvarında kontamine edilmiş örnekler 3.2.1 ve 3.2.2'de belirtildiği şekilde AFs analizine tabi tutulmuştur. AFs'in geri kazanım değerleri Eş. 3.1 kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Geri kazanım} = \frac{\text{Standart eklenmiş örnek analiz sonucu } (\mu\text{g/kg})}{\text{Eklenen standart miktarı } (\mu\text{g/kg})} \times 100 \quad (3.1)$$

Tekrarlanabilirlik ölçüsü ise geri kazanım çalışmalarının yüzde bağıl standart sapması (% RSD) olarak hesaplanmıştır.

### 3.2.4. Maruz kalma düzeyi hesaplaması

Badem tüketimi yoluyla yetişkin bireylerin AFB<sub>1</sub> ve toplam AFs'e maruz kalma düzeyi Eş. 3.2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Maruz kalınan miktar} = \frac{\text{Toksin miktarı } (\mu\text{g/kg}) \times \text{Tüketim miktarı } (\mu\text{g/kg})}{\text{Vücut ağırlığı } (\text{kg})} \quad (3.2)$$

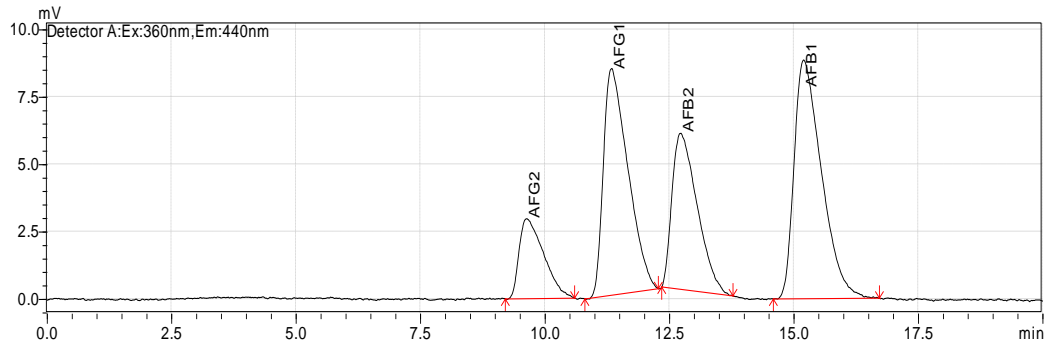
AFs'e maruz kalınan miktar hesaplamasında, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından da önerilen yetişkinler için 70 kg vücut ağırlığı (v.a.) uygulanmıştır (EFSA, 2012). AFs'e maruz kalma miktarlarının hesaplanmasında tespit edilemeyen numuneler için alt sınır "0", üst sınır değeri ise "LOD" olarak alınmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Metot Performansının Değerlendirilmesi

Bademlerde AFs'in varlığı ve miktarını belirlemek amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada öncelikle kullanılan analiz yönteminin performansı değerlendirilmiştir. Bu amaçla, lineer ölçüm aralığı, tespit limiti (LOD), ölçüm limiti (LOQ), geri alma ve tekrarlanabilirlik çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Şekil 4.1'de kalibrasyon eğrisi oluşturmak amacıyla HPLC cihazına enjekte edilen AFB<sub>1</sub> (1 µg l<sup>-1</sup>), AFB<sub>2</sub> (0,3 µg l<sup>-1</sup>), AFG<sub>1</sub> (1 µg l<sup>-1</sup>) ve AFG<sub>2</sub> (0,3 µg l<sup>-1</sup>) standartlarına ait HPLC-FLD kromatogramları yer almaktadır. AFG<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub> ve AFB<sub>1</sub>'in alıkonma zamanları sırasıyla 9,9 dk., 11,6 dk., 13,0 dk. ve 15,5 dk. olarak belirlenmiştir. AFs'in analizinde IAC kullanımı ile etkili bir ekstrakt temizleme işlemi gerçekleştirildiğinden, HPLC-FLD kromatogramlarında analitlerin alıkonma zamanlarında herhangi bir yabancı pik oluşumu görülmemiştir.



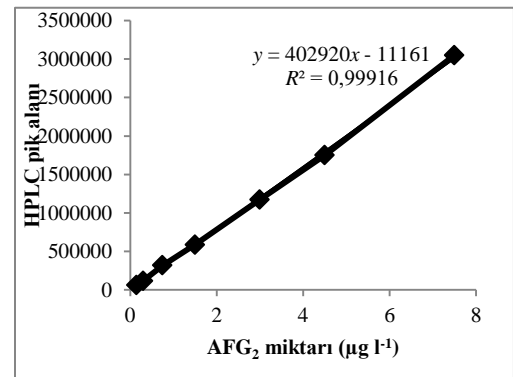
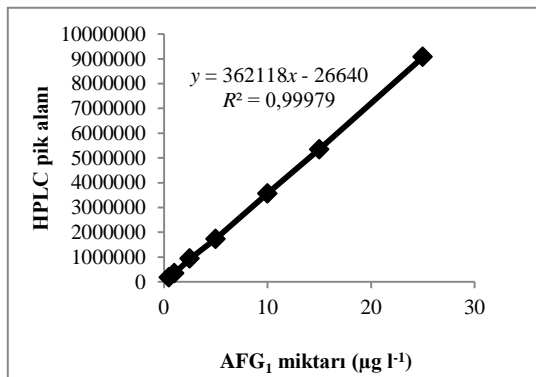
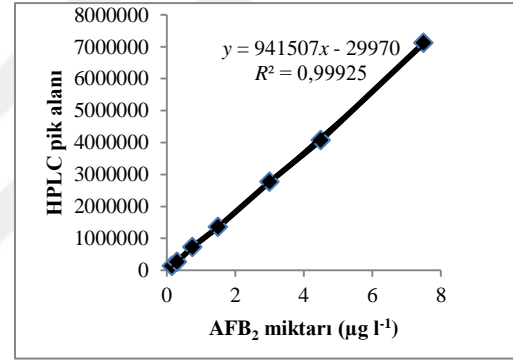
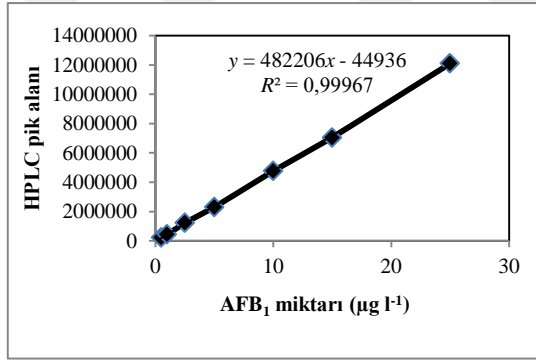
**Şekil 4.1.** HPLC-FLD kromatogramı (1 µg l<sup>-1</sup> AFB<sub>1</sub>, 0,3 µg l<sup>-1</sup> AFB<sub>2</sub>, 1 µg l<sup>-1</sup> AFG<sub>1</sub> ve 0,3 µg l<sup>-1</sup> AFG<sub>2</sub>)

HPLC cihazına enjekte edilen AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> standartlarına karşılık gelen pik alanlarına göre 7 farklı noktadan oluşan kalibrasyon eğrisi (Şekil 4.2) her bir toksin için ayrı ayrı oluşturulmuştur. Kalibrasyon eğrilerinin  $R^2$  (verilen veri noktaları boyunca Pearson çarpım moment korelasyon katsayısının karesi) değerleri > 0,99 bulunmuş olup,  $R^2$  verileri metot validasyonu çalışmaları için kabul edilebilir

olarak görülmüştür. AFs için elde edilen lineerite verileri Çizelge 4.1’de özetlenmiştir.

**Çizelge 4.1.** AFs için lineerite verileri

Toksin	Lineerite aralığı ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	Lineerite eşitliği	$R^2$
AFB <sub>1</sub>	0,5–25	$y = 482206x - 44936$	0,99967
AFB <sub>2</sub>	0,15–7,5	$y = 941507x - 29970$	0,99925
AFG <sub>1</sub>	0,5–25	$y = 362118x - 26640$	0,99979
AFG <sub>2</sub>	0,15–7,5	$y = 402920x - 11161$	0,99916



**Şekil 4.2.** AFs için kalibrasyon eğrileri

Metot validasyonu amacıyla gerçekleştirilen LOD, LOQ, geri kazanım ve tekrarlanabilirlik çalışmalarının sonuçları ise Çizelge 4.2’de özetlenmiştir.

**Çizelge 4.2.** AFs için LOD, LOQ, geri kazanım ve tekrarlanabilirlik değerleri

Toksin	LOD ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	Geri kazanım (%)	Tekrarlanabilirlik (% RSD)
AFB <sub>1</sub>	0,064	0,214	90,4	5,8
AFB <sub>2</sub>	0,053	0,177	92,9	3,4
AFG <sub>1</sub>	0,070	0,234	88,4	2,8
AFG <sub>2</sub>	0,061	0,202	91,2	3,9

Çizelge 4.2'nin de incelenmesiyle görülebileceği gibi, kullanılan analiz yöntemiyle bademlerde AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub>'nin LOD değerleri sırasıyla 0,064  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , 0,053  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , 0,070  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ve 0,061  $\mu\text{g kg}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Kullanılan ölçüm metodu ile kabul edilebilir kesinlikte ve doğrulukta ölçülebilen en düşük analit derişimi olarak da ifade edilebilen LOQ değerleri ise, AFB<sub>1</sub> için 0,214  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , AFB<sub>2</sub> için 0,177  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , AFG<sub>1</sub> için 0,234  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ve AFG<sub>2</sub> için 0,202  $\mu\text{g kg}^{-1}$  olarak hesaplanmıştır. AFs için elde edilen LOQ değerleri, AB ve TGK'nin bademler için belirlediği yasal limitlerden (AFB<sub>1</sub> için 8  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , toplam AFs için 10  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) oldukça düşük bulunmuştur.

Badem ekstraktından AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub>'nin geri kazanım değerleri sırasıyla % 90,4, % 92,9, % 88,4 ve % 91,2 olarak bulunmuştur. Tekrarlanabilirlik değerleri ise AFB<sub>1</sub> için % 5,8, AFB<sub>2</sub> için % 3,4, AFG<sub>1</sub> için % 2,8 ve AFG<sub>2</sub> için % 3,9 olarak tespit edilmiştir. AFs'in badem ekstraktından geri kazanım değerleri AB'nin belirlemiş olduğu analiz yöntemi parametrelerine (1–10  $\mu\text{g kg}^{-1}$  toksin konsantrasyonu için % 70–110 arasında) (EC, 2006a) uygun bulunmuştur. Tekrarlanabilirlik değerleri ise Horwitz eşitliği kullanılarak hesaplanan değerden (5  $\mu\text{g kg}^{-1}$  için % 24) oldukça düşük bulunmuş olup, tekrarlanabilirlik kriterini karşıladığı görülmüştür.

#### 4.2. Bademlerde Aflatoksin Varlığı/Miktarı

Araştırma kapsamında 80 adet kabuksuz badem örneği (30 adet çiğ badem, 50 adet kavrulmuş badem) AFs'in varlığı ve miktarı yönünden HPLC-FLD yöntemi ile analiz edilmiştir. Badem örneklerinde AFs'in varlığı ve saptanan konsantrasyonlar Çizelge 4.3'de özetlenmiştir.

**Çizelge 4.3.** Badem örneklerinde AFs'in varlığı ve miktarı ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )

Badem örneği	Parametre	AFB <sub>1</sub>	AFB <sub>2</sub>	AFG <sub>1</sub>	AFG <sub>2</sub>	Toplam AFs
Çiğ badem (n= 30)	Pozitif örnek sayısı (%) <sup>a</sup>	3 (10)	1 (3,3)	1 (3,3)	1 (3,3)	3 (10)
	Miktar aralığı (min-mak., $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	0,165-0,436	0,057	0,078	0,071	0,305-0,436
	Ortalama toksin miktarı ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) <sup>b</sup>	0,302	0,057	0,078	0,071	0,371
Kavrulmuş badem (n= 50)	Pozitif örnek sayısı (%)	9 (18)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	9 (18)
	Miktar aralığı (min-mak., $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	0,118-0,508	TE <sup>c</sup>	TE	TE	0,118-0,508
	Ortalama toksin miktar ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	0,302	TE	TE	TE	0,302

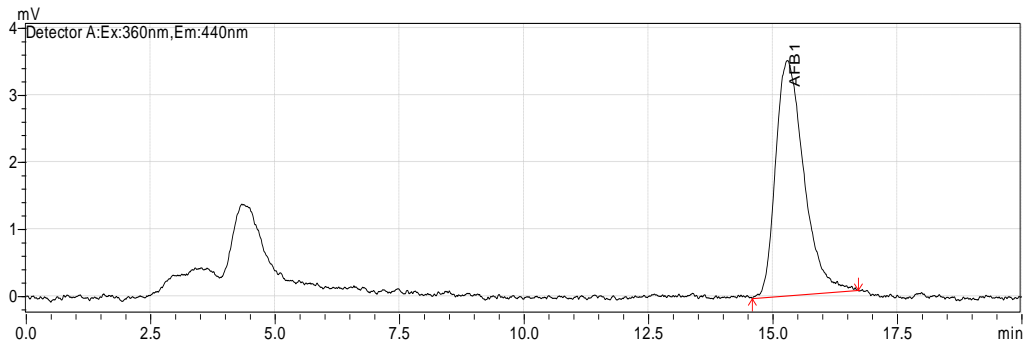
<sup>a</sup>Pozitif örnek sayısı (%): > LOD tespit edilen örnek sayısı (%)

<sup>b</sup>Ortalama toksin miktarı: Pozitif örneklerin ortalaması ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )

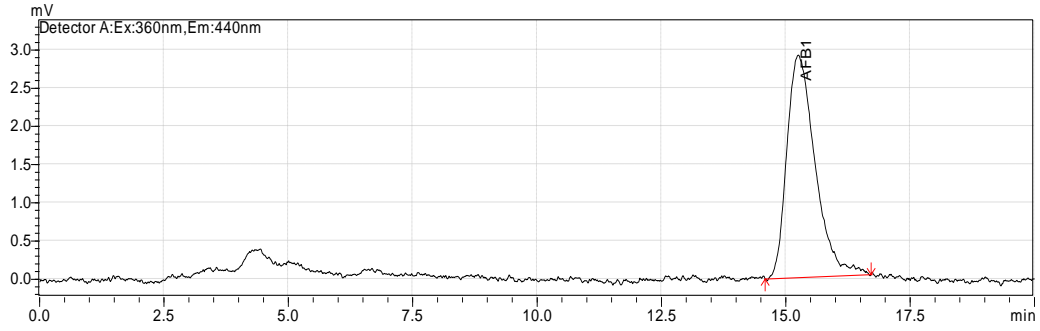
<sup>c</sup>TE: Tespit edilemedi (< LOD)

Çizelge 4.3'ün incelenmesiyle de görülebileceği gibi 80 adet badem örneğinin 12'sinde (oransal olarak % 15) tespit limitlerinin üzerinde AFs saptanırken, 68 örnekte (oransal olarak % 85) AFs bulunamamıştır. Badem örneklerinde saptanan AFs'in konsantrasyonları  $0,118 \mu\text{g kg}^{-1}$  ile  $0,508 \mu\text{g kg}^{-1}$  arasında değişiklik göstermiştir. Badem örneklerinde saptanan AFs'in konsantrasyonları AB ve TGK Yönetmeliği'nde yer alan ML değerinden (AFB<sub>1</sub> için  $8 \mu\text{g kg}^{-1}$ , toplam AFs için  $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) oldukça düşük bulunmuştur.

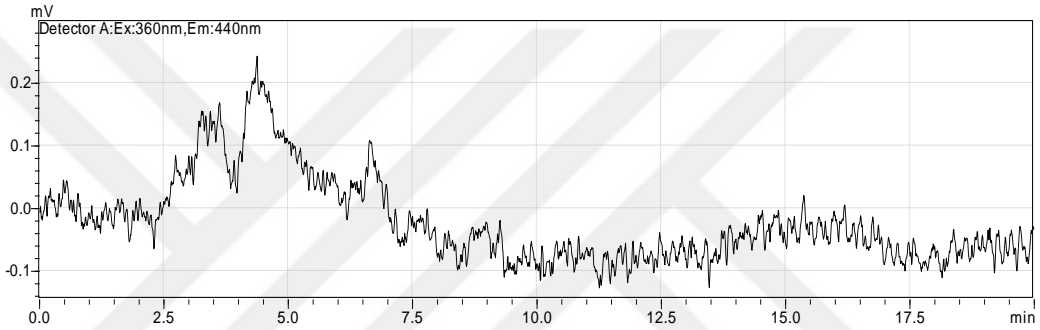
AFB<sub>1</sub> ile kontamine olmuş ve kavrulmamış badem örneklerine ait HPLC-FLD kromatogramları sırasıyla Şekil 4.3 ve 4.4'de gösterilmiştir. Şekil 4.5'de ise aflatoksin tespit edilemeyen badem örneğine ait HPLC-FLD kromatogramı verilmiştir.



**Şekil 4.3.** AFB<sub>1</sub> ile kontamine olmuş ve kavrulmamış badem örneğine ait HPLC-FLD kromatogramı (AFB<sub>1</sub>:  $0,508 \mu\text{g kg}^{-1}$ )

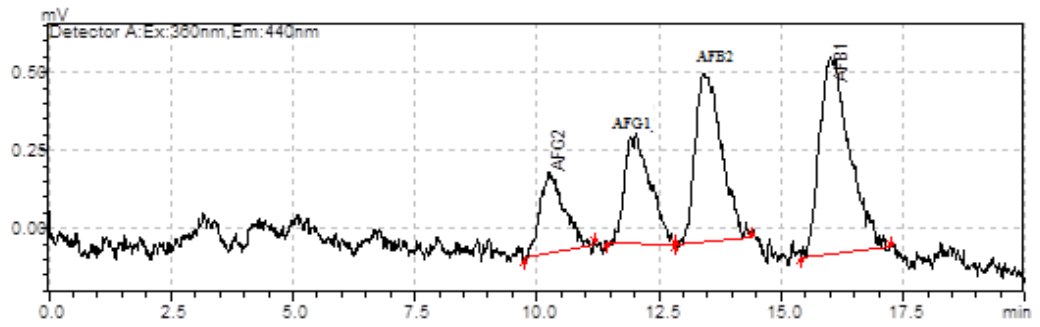


**Şekil 4.4.** AFB<sub>1</sub> ile kontamine olmuş kavrulmamış badem örneğine ait HPLC-FLD kromatogramı (AFB<sub>1</sub>: 0,436 µg kg<sup>-1</sup>)



**Şekil 4.5.** Aflatoksin içermeyen badem örneğine ait HPLC-FLD kromatogramı

Aflatoksin saptanan tüm badem örneklerinde AFB<sub>1</sub> bulunmuştur. Buna karşın, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> badem örneklerinin yalnızca birinde (oransal olarak % 1,3) tespit edilebilir limitlerin üzerinde bulunmuştur. Çiğ badem örneğinde tespit edilen AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub>'nin konsantrasyonları sırayla 0,165 µg kg<sup>-1</sup>, 0,057 µg kg<sup>-1</sup>, 0,078 µg kg<sup>-1</sup> ve 0,071 µg kg<sup>-1</sup>'dir (Şekil 4.6).



**Şekil 4.6.** AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> içeren kavrulmamış badem örneğine ait HPLC-FLD kromatogramı (AFB<sub>1</sub>: 0,165 µg kg<sup>-1</sup>, AFB<sub>2</sub>: 0,057 µg kg<sup>-1</sup>, AFG<sub>1</sub>: 0,078 µg kg<sup>-1</sup> ve AFG<sub>2</sub>: 0,071 µg kg<sup>-1</sup>)

Fındık ve Antep fıstığı gibi diğer sert kabuklu meyvelerde AFs'in varlığı ile ilgili olarak çok sayıda veri bulunmasına karşın, bademlerde AFs'in varlığı ve miktarı ile ilgili olarak sınırlı sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir. Elde edilen analitik sonuçlara göre, bademlerde saptanan aflatoksin varlığı Schade ve ark. (1975) tarafından Kaliforniya'da gerçekleştirilen araştırma sonucu ile benzerlik göstermesine karşın, bademlerde saptanan AFs'in miktarları Schade ve ark. (1975)'nin saptadığı miktarlara göre oldukça düşük düzeyde bulunmuştur. Schade ve ark. (1975) badem örneklerinin % 13,5'inde 1–107  $\mu\text{g kg}^{-1}$  arasında değişen miktarlarda AFs'e rastlamışlardır. Bu konuda yapılan diğer bir çalışmada ise badem örneklerinin % 30'unda ortalama 2,13  $\mu\text{g kg}^{-1}$  AFs'e rastlanmıştır (Lutfullah ve Hussain, 2011). Japonya'da gerçekleştirilen bir çalışmada ise, analiz edilen 24 badem örneğinin 6'sında (% 25) sırasıyla 0,89  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ve 1,06  $\mu\text{g kg}^{-1}$ 'e varan miktarlarda AFB<sub>1</sub> ve toplam AFs saptanmıştır (Sugita-Konishi ve ark., 2010).

Ülkemizde ise bademlerde aflatoksin riski konusunda yalnızca üç adet çalışmaya rastlanmış olup, bu çalışmalarda saptanan AFs'in varlığı ve miktarları gerçekleştirilen bu tez araştırması sonuçlarından yüksek bulunmuştur. Gürses ve Erdoğan (2004) Erzurum'da çeşitli satış noktalarından topladıkları 9 adet badem örneğinde AFB<sub>1</sub> varlığı ve miktarını TLC yöntemiyle araştırmışlardır. Araştırmacılar 9 badem örneğinin 2'sinde (oransal olarak % 22,2) 2,9  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ve 4,7  $\mu\text{g kg}^{-1}$  miktarlarında AFB<sub>1</sub>'e rastlamışlardır. Sonraki yıllarda, Gürses (2006) tarafından gerçekleştirilen araştırmada, Erzurum'da satışa sunulan 13 adet badem örneğinin 10'unda (oransal olarak % 77) 1–13  $\mu\text{g kg}^{-1}$  arasında değişen miktarlarda AFs tespit edilmiştir.

Bazı baharat ve kuruyemişlerin aflatoksin içeriklerinin ELISA yöntemiyle belirlenmesi amacıyla Garipoğlu (2006) tarafından gerçekleştirilen yüksek lisans çalışmasında ise, 2004 yılı sezonunda toplanan 88 badem örneğinin 68'inde (oransal olarak % 77,3) 0,33–4  $\mu\text{g kg}^{-1}$  arasında değişen miktarlarda AFs'e rastlanırken, 2005 sezonunda toplanan 117 badem örneğinin 39'unda (oransal olarak % 33,3) 0,35–2  $\mu\text{g kg}^{-1}$  arasında değişen miktarlarda AFs tespit edilmiştir.

Bademlerde AFs'in varlığı ile ilgili her yıl RASFF sisteminde çeşitli bildirimler yer almaktadır. 2002–2017 yılları arasında bademlerde AFs'in varlığı ile ilgili olarak RASFF sisteminde toplam 365 bildirim yer almaktadır. Bu bildirimlerin 287'si (oransal olarak % 78,6) ABD kaynaklı iken, ülkemiz orijinli yalnızca 4 adet (oransal olarak % 1,1) bildirim bulunmaktadır. Ülkemiz orijinli bademlerde AFs'in varlığı ile ilgili RASFF bildirimlerinde AFB<sub>1</sub> miktarının 50,9 µg kg<sup>-1</sup>, toplam AFs miktarının ise 57,1 µg kg<sup>-1</sup>'a kadar çıkabildiği görülmektedir. Bademlerde aflatoksin riski ile ilgili 2018 yılının ilk altı ayında ise yalnızca 8 adet RASFF bildirim bulunmakta olup, bu bildirimlerin tamamının ABD kaynaklı olduğu görülmektedir (RASFF, 2018).

Bu araştırma kapsamında aflatoksin saptanan 12 adet badem örneğinin 3'ü kavrulmamış (oransal olarak % 10), 9'u ise kavrulmuş badem (oransal olarak % 18)'dir. Kavrulmamış badem örneklerinde tespit edilen AFs'in konsantrasyonları 0,305–0,436 µg kg<sup>-1</sup> arasında bulunurken, kavrulmuş badem örneklerinde tespit edilen AFs'in miktarları 0,118–0,508 µg kg<sup>-1</sup> arasında değişiklik göstermiştir.

AFs yüksek sıcaklığa karşı oldukça stabil bileşikler olup, kavurma vb. ısı işlemlerle AFs'in tamamını parçalamak mümkün görünmemektedir. Kavurma işleminin AFs'in yıkımı üzerine etkisini belirlemek amacıyla Zivoli ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, bademlere 150°C'de 30–120 dk. arasında kavurma işlemi uygulanması sonrasında, ısı işlem süresine bağlı olarak AFB<sub>1</sub>'in % 55–84 , AFB<sub>2</sub>'nin ise % 20–69 arasında değişen oranlarda yıkıma uğradığı saptanmıştır. Bu konuda Lee ve ark. (1969) tarafından gerçekleştirilen diğer bir çalışmada, yer fıstıklarına kavurma işlemi uygulanması sonrasında AFs'in başlangıç konsantrasyonunun % 45–83 arasında değişen oranlarda azaldığı belirlenmiştir. Pluyer ve ark. (1978) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise yer fıstıklarına 150°C'de 30 dk. süreyle kavurma işlemi uygulandığında, AFs'in % 30–45 oranında yıkıma uğradığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Yazdanpanah ve ark. (2005) Antep fıstıklarının 90°C'de 120 dk., 120°C'de 60 dk. ve 150°C'de 30 dk. süreyle kavurulması sonrasında, başlangıç konsantrasyonuna ve ısı işlem parametrelerine bağlı olarak aflatoksin içeriğinin % 17–63 arasında değişen oranlarda azaldığını saptamışlardır.



### 4.3. Maruziyet Değerlendirilmesi

Bu tez kapsamında ayrıca, ülkemizde yaşayan yetişkin bireylerin badem tüketimi yoluyla AFB<sub>1</sub> ve toplam AFs'e tahmini maruz kalma miktarları hesaplanmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, bademlerdeki AFB<sub>1</sub>'in ortalama alt sınır ve üst sınır miktarları sırasıyla 0,045 µg kg<sup>-1</sup> ve 0,100 µg kg<sup>-1</sup>'dir. Toplam AFs için bademdeki alt sınır ve üst sınır miktarları ise sırasıyla 0,048 µg kg<sup>-1</sup> ve 0,259 µg kg<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır.

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) ürün denge tablosu verilerine göre; ülkemizde kişi başı badem tüketim miktarı yıllık 1,1 kg (3 g/gün) olarak verilmiştir (TÜİK, 2018). Bu veriler ışığında, ülkemizde yaşayan yetişkin bireylerin AFB<sub>1</sub>'e maruz kalma ortalama alt sınır ve üst sınır değerleri sırasıyla 0,0019 ng kg<sup>-1</sup> v.a. gün<sup>-1</sup> ve 0,0043 ng kg<sup>-1</sup> v.a. gün<sup>-1</sup>'dür. Benzer şekilde, yetişkin bireylerin badem tüketimi yoluyla toplam AFs'e tahmini alt sınır ve üst sınır maruz kalma miktarları sırasıyla 0,002 ng kg<sup>-1</sup> v.a. gün<sup>-1</sup> ve 0,011 ng kg<sup>-1</sup> v.a. gün<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır.

Sugita-Konishi ve ark. (2010) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, bademlerdeki AFB<sub>1</sub>'in tahmini ortalama alt sınır miktarı 0,09 µg kg<sup>-1</sup>, üst sınır miktarı ise 0,13 µg kg<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir.

Bu konuda Kabak (2016) tarafından yapılan bir çalışmada ise, fındık tüketimi yoluyla AFB<sub>1</sub>'e tahmini ortalama alt sınır ve üst sınır maruz kalma miktarları sırasıyla 0,25 ng kg<sup>-1</sup> v.a. gün<sup>-1</sup> ve 0,29 ng kg<sup>-1</sup> v.a. gün<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır. Toplam AFs'e alt sınır ve üst sınır maruz kalma miktarları ise 0,32 ng kg<sup>-1</sup> v.a. gün<sup>-1</sup> ve 0,42 ng kg<sup>-1</sup> v.a. gün<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Bu veriler ile tez kapsamında elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, fındıkların bademlere göre toplam maruz kalma miktarlarına daha yüksek katkısının olduğu ortaya çıkmaktadır.

AB Gıda Bilimsel Komitesi tüm gıda kaynaklarından AFs'in maruziyetinin mümkün olduğu kadar en düşük düzeyde olması gerektiğini, kg vücut ağırlığı başına günde 1 ng AFs alımının dahi karaciğer kanseri oluşum riskine katkı sağladığını belirtmişlerdir (EFSA, 2007b).

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada, ÷lkemizde sıklıkla tüketlenen sert kabuklu meyvelerden biri olan bademlerde aflatoksin riski araştırılmıştır. Bademlerde AFs'in miktarının belirlenmesi amacıyla kullanılan analiz yöntemi, AB'nin belirtmiş olduğu metot validasyon parametrelerini karşılamıştır. AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub>'ye ait LOD değerleri sırasıyla 0,064 µg kg<sup>-1</sup>, 0,053 µg kg<sup>-1</sup>, 0,070 µg kg<sup>-1</sup> ve 0,061 µg kg<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. AFs'in LOQ değerleri ise AFB<sub>1</sub> için 0,214 µg kg<sup>-1</sup>, AFB<sub>2</sub> için 0,177 µg kg<sup>-1</sup>, AFG<sub>1</sub> için 0,234 µg kg<sup>-1</sup> ve AFG<sub>2</sub> için 0,202 µg kg<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır. Badem ekstraktından AFs'in geri kazanım oranları % 88,4–92,9 arasında bulunurken, tekrarlanabilirlik değerleri % 2,8–5,8 arasında değişiklik göstermiştir.

Metot validasyonu gerçekleştirilen analiz yöntemiyle analiz edilen 80 adet badem örneğinin 68'inde (oransal olarak % 85) AFs tespit edilememiştir. Badem örneklelerinin 12'sinde (oransal olarak % 15) tespit limitlerinin üzerinde AFs'e rastlanırken, örneklelerde saptanan AFs'in miktarları 0,118–0,508 µg kg<sup>-1</sup> arasında değişiklik göstermiştir. Badem örneklelerinin hiç birinde AB ve TGK Yönetmeliği'nce bademler için belirtilen ML değerinin (AFB<sub>1</sub> için 8 µg kg<sup>-1</sup>, toplam AFs için 10 µg kg<sup>-1</sup>) üzerinde AFB<sub>1</sub> ve toplam AFs'e rastlanmamıştır.

AFB<sub>1</sub>, kontamineleli tüm badem örneklelerinde (12 adet) bulunurken, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> badem örneklelerinin yalnızca birinde (oransal olarak % 1,3) LOD değerinin üzerinde, LOQ sınırının ise altında tespit edilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre; kavrulmuş badem örneklelerinde AFs'in bulunma sıklığı çiğ badem örneklelerine göre daha yüksek bulunmuştur. AFs ile kontamineleli badem örneklelerinin 3'ü çiğ badem (oransal olarak % 10), 9'su ise kavrulmuş badem (oransal olarak % 18)'dir. Çiğ ve kavrulmuş badem örneklelerinde AFB<sub>1</sub> miktarları sırasıyla 0,305–0,436 µg kg<sup>-1</sup> ve 0,118–0,508 µg kg<sup>-1</sup> olarak saptanmıştır.

Bademlerde AFs kontaminasyonunun hasat öncesi tarla aşamasında veya daha çok hasat sonrası sert kabukları ayrılmış iç bademlerin özellikle nem içeriği yüksek

depolarda muhafaza edilmesi aşamasında gerçekleştiği düşünülmektedir. Tarla aşamasında kontamine olan *A. flavus* ve/veya *A. parasiticus* küflerinin, kabuklarından ayrılmış bademlere istilası sonrasında nem ve sıcaklığa bağlı olarak AFs oluşabilmektedir.

Kavurma, pişirme vb. ısı işlem prosesleri, uygulanan sıcaklığa ve süreye bağlı olarak AFs'in bir kısmını yıkıma uğratsa da, gıdada bulunan AFs'in tamamen parçalanması çoğunlukla mümkün görünmemektedir. Bu nedenle ham maddenin AFs'le kontamine olması durumunda, işlem görmüş gıda maddelerinde de AFs'e rastlanabilmektedir. Buradan yola çıkarak, kavurulmuş bademlerde AFs'e rastlanması, kavurma prosesinin AFs'in yıkımına önemli bir etkisinin bulunmadığını veya kavurmada kullanılan çiğ bademlerin daha yüksek miktarda AFs içerdiği olabileceği olasılığını güçlendirmektedir.

Araştırma sonuçlarından elde edilen veriler ışığında, ülkemizde yaşayan yetişkinlerin badem tüketimi yoluyla AFB<sub>1</sub>'e tahmini alt sınır ve üst sınır maruz kalma miktarları sırasıyla 0,0019 ng kg<sup>-1</sup> v.a. gün<sup>-1</sup> ve 0,0043 ng kg<sup>-1</sup> v.a. gün<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır. Toplam AFs için badem tüketimi yoluyla maruz kalınan tahmini alt sınır ve üst sınır değerleri ise sırasıyla 0,002 ng kg<sup>-1</sup> v.a. gün<sup>-1</sup> ve 0,011 ng kg<sup>-1</sup> v.a. gün<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur.

AFs genotoksik karsinojenler olduklarından, maruziyet değerleri ile ilgili olarak herhangi bir eşik değer bulunmamaktadır. Diğer bir ifade ile maruziyet değerinin ancak sıfır olması durumunda riskin bulunmadığı anlamı ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, örneklerin hiç birinde AB ve TGK'nin belirlemiş olduğu ML değerlerinin üzerinde AFB<sub>1</sub> ve/veya toplam AFs rastlanmamasına karşın, bu durum sağlık açısından hiç bir riskin bulunmadığı anlamına gelmemektedir.

Çevre koşullarının badem ve diğer tarımsal ürünlerde AFs oluşumu üzerine önemli bir etkisinin bulunması nedeniyle, badem ve yüksek risk grubunda yer alan diğer sert kabuklu meyvelerin (findık, Antep fıstığı vb.) rutin olarak analizlerinin gerçekleştirilmesi halk sağlığı bakımından büyük önem taşımaktadır. Badem ve diğer

sert kabuklu meyvelerde AFs'in oluşunun engellenmesi veya miktarının azaltılması amacıyla İyi Tarım Uygulamaları (GAP), İyi Üretim Uygulamaları (GMP) ve İyi Depolama Uygulamalarının (GSP) gerçekleştirilmesi aflatoksin riskinin azaltılmasına katkı sağlayacaktır.



## KAYNAKLAR

- Abdel-Gawad, K.M., Zohri, A.A., 1993. Fungal flora and mycotoxins of six kinds of nut seeds for human consumption in Saudi Arabia. *Mycopathologia*, 124(1), 55-64.
- Ali, E., Saleemullah, F., Anjum, F., Khan, B.A., Zubair, A., 2009. Aflatoxin contamination and mineral profile of almond seeds. *Mycopathologia*, 7(1), 39-44.
- Almond Board of California (ABC), 2017. Almond Almanac 2017 Annual Report, [http://newsroom.almonds.com/sites/default/files/pdf\\_file/Almond%20Almanac%202017.pdf](http://newsroom.almonds.com/sites/default/files/pdf_file/Almond%20Almanac%202017.pdf) (20.05.2018).
- Anonim, 2013. Kayısı Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara.
- Arda, M., 1997. Temel Mikrobiyoloji. Medisan Yayıncılık, Isparta, 498 s.
- Bayman, P., Baker, J.L., Mahoney, N.E., 2002. *Aspergillus* on tree nuts: incidence and associations. *Mycopathologia*, 155(3), 161–169.
- Bolling, B.W., Blumberg, J.B., Oliver-Chen, C.Y., 2010. The influence of roasting, pasteurisation, and storage on the polyphenol content and antioxidant capacity of California almond skins. *Food Chemistry*, 123(4), 1040-1047.
- Cotty, P.J., Garcia, R.J., 2007. Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination. *Food Microbiology*, 119(1-2), 109-115.
- Deacon, J.W., 1997. Modern Mycology. Third Edition, Blackwell Science Ltd., 312 p.
- Desphande, S.S., 1994. Immunodiagnosics in agricultural, food and environmental quality control. *Food Technoloji*, 6, 136-139.
- Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J., 1997. Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. ASM Press, Wasngington D.C., 768 p.
- Eaton, D.L., Gallagher, E.P., 1994. Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 34, 72-135.
- Eker, M.M., 2011. Erik-Badem Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Ankara.
- Espinosa-Calderón, A., Contreras-Medina, L.M., Muñoz-Huerta, R.F., Millán-Almaraz, J.R., Girelli, A., Mattei, E., 2005. Application of immobilized

enzyme reactor in on-line high performance liquid chromatography: a review. *Journal of Chromatography B*, 819(1), 3-16.

European Commission (EC), 2006a. Commission regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L 70, 12-34.

European Commission (EC), 2006b. Commission regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, L 364, 5-24.

European Commission (EC), 2011. Mycotoxins Factsheet. JRC Technical Notes, JRC 66956, 10 -11 October, Geel, Belgium, 36 p.

European Food Safety Authority (EFSA), 2004. Opinion on the scientific panel on contaminants in the food chain on request from the commission related to zearalenone as undesirable substance in animal feed. Question no EFSA-Q2003-037, *The EFSA Journal*, 89, 1-35.

European Food Safety Authority (EFSA), 2007a. EFSA Statement on the Fate of Recombinant DNA or Proteins in Meat, Milk and Eggs from Animals Fed with GM Feed, [https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa\(05.06.2018\)](https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa(05.06.2018)).

European Food Safety Authority (EFSA), 2007b. Opinion on the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to the potential increase of consumer health risk by a possible increase of the existing maximum levels for aflatoxins in almonds, hazelnuts and pistachios and derived products. *The EFSA Journal*, 446, 1–127.

European Food Safety Authority (EFSA), 2012. Guidance on selected default values to be used by the efsa scientific committee, scientific panels and units in the absence of actual measured data. *EFSA Journal*, 10(3), 2579.

FAOSTAT, 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Statistical Databases and Data Sets, [www.fao.org/faostat](http://www.fao.org/faostat) (13.03.2018).

Gallo, A., Solfrizzo, M., Epifani, F., Panzarini, G., Perrone, G., 2016. Effect of temperature and water activity on gene expression and aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus flavus* on almond medium. *International Journal of Food Microbiology*, 217, 162-169.

Galvano, F., Galofaro, V., Galvano, G., 1996. Occurrence and stability of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products: a worldwide review. *Journal of Food Protection*, 59(10), 1079-1090.

- García-López, C., Grane-Teruel, N., Berenguer-Navarro, V., Garcia-Garcia, J.E., Martin-Carratal, M.L., 1996. Major fatty acid composition of 19 almond cultivars of different origins. A chemometric approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), 1751-1755.
- Garipoğlu, H., 2006. Bazı Baharat ve Kuruyemişlerin Aflatoksin İçeriğinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Gilbert, J., Anklam, E., 2002. Validation of analytical methods for determining mycotoxins in foodstuffs. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(6-7), 468-486.
- Giorni, P., Magan, N., Pietri, A., Bertuzzi, T., Battilani, P., 2007. Studies on *Aspergillus* section Flavi isolated from maize in northern Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 113(3), 330-338.
- Gürses, M., 2006. Mycoflora and aflatoxin content of hazelnuts, walnuts, peanuts, almonds and roasted chickpeas (leblebi) sold in Turkey. *International Journal of Food Properties*, 9(3), 395-399.
- Gürses, M., Erdoğan, A., 2004. Erzurum piyasasında satılan yerfıstığı, Antepfıstığı ve bademlerin aflatoksin B<sub>1</sub> bakımından incelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35 (1-2), 75-78.
- Hazer, A., 2011. Denizli ve Aydın İllerinde Elde Edilen Çiğ Sütlerde Aflatoksin M<sub>1</sub> Prevalansı ve Miktarının Aranması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Hepsag, F., Golge, O., Kabak, B., 2014. Quantitation of aflatoxins in pistachios and groundnuts using HPLC-FLD method. *Food Control*, 38, 75-81.
- Hussein, H.S., Brasel, J.M., 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 167(2), 101-134.
- International Agency for Research on Cancer (IARC), 1993. Some Naturally Occurring Substances, Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins, World Health Organization, Lyon, France, 489 p.
- Jay, J.M., 1992. *Modern Food Microbiology*. Chapman and Hall, London, 675 p.
- Jermi, M., Conedera, M., Sieber, T.N., Sassella, A., Schärer, H., Jelmini, G., 2006. Influence of fruit treatments on perishability during cold storage of sweet chestnuts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 877-855.
- Kabak, B., 2007. Bazı Mikotoksinlerin Detoksifikasyonunda *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* Suşlarının Kullanımı. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü/Gıda Mühendisliği ABD, Adana.

- Kabak, B., 2016. Aflatoxins in hazelnuts and dried figs: occurrence and exposure assessment. *Food Chemistry*, 211, 8-16.
- Kurbetli, İ., Hancıoğlu, Ö., 2008. Isparta ilinde bademlerde tespit edilen fungal hastalıklar. *Bitki Koruma Bülteni*, 48(3), 43-55.
- Küden, A.B., Küden, A., Bayazit, S., Çömlekçioğlu, S., İmrak, B., Dikkaya, R., 2014. Badem Yetiştiriciliği. TAGEP Proje No: 5.2.3.1.
- Ladizinsky, G., 1999. On the origin of almond. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46(2), 143–147.
- Lee, L.S., Cucullu, A.F., Franz, A.O., Pons, W.A., 1969. Destruction of aflatoxins in peanuts during dry and oil roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17(3), 51–453.
- Lutfullah, G., Hussain, A., 2011. Studies on contamination level of aflatoxins in some dried fruits and nuts of Pakistan. *Food Control*, 22(3-4), 426–429.
- Marin, S., Ramos, A.J., Cano-Sancho, G., Sanchis, V., 2013. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 218-237.
- McLean, M., Dutton, M.F., 1995. Cellular interactions and metabolism of aflatoxin: an update. *Pharmacology & Therapeutics*, 65(2), 163-192.
- Michailides, T.J., Morgan, D.P., Subbarao, K.V., 1996. Fig endosepsis. An old disease still a dilemma for California growers. *Plant Diseases*, 80(8), 828-841.
- Milli Eğitim Bakanlığı (MEB), 2011. Badem Yetiştiriciliği, Ankara, 52 s.
- Moss, M.O., 2002. *Aspergillus* and *Penicillium*. *Mycologist*, 16(3), 116-119.
- Musaiger, A.O., Al-Jedah, J.H., D'souza, R., 2008. Occurrence of contaminants in foods commonly consumed in Bahrain. *Food Control*, 19(9), 854-861.
- Nasirahmadi, A., Ashtiani, S.H., 2017. Bag-of-feature model for sweet and bitter almond classification. *Biosystems Engineering*, 156, 51-60.
- Nizamlioğlu, N.M., Nas, S., 2015. Kinetic of color changes in almond (Akbadem variety) during roasting and storage. *International Journal of Food Properties*, 19(10), 2363–2376.
- Orman Genel Müdürlüğü (OGM), 2017. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Baden Eylem Planı 2013-2017.



- Özkaya, Ş., Taydaş, E.E., Başaran, A., Avcı, B., Hızlı, S., 1999. Tarım ve Köy işleri Bakanlığı Ankara İl Kontrol Laboratuvarı Aflatoksin Analiz Kurs Notları, 7-14 Ağustos, Ankara.
- Öztürk, B., 2016. Dünya Badem Üretimi. Ordu Ticaret Borsası Yayın Organı, 3(11).
- Phillips, D.J., Mackey, B., Ellis, W.R., Hansen, T.N., 1979. Occurrence and interaction of *Aspergillus flavus* with other fungi on almonds. *Phytopathology*, 69, 829–831.
- Pitt, J.I., 2000. Toxigenic fungi and mycotoxins. *Food Science Australia*, 56(1), 184-192.
- Pluyer, H.R., Ahmed, E.M., Wei, C.I., 1978. Destructions of aflatoxins on peanuts by oven and microwave-roasting. *Journal of Food Protection*, 50(6), 504–508.
- Probst, C., Njapau, H., Cotty, P.J., 2007. Outbreak of an acute aflatoxicosis in Kenya in 2004, identification of the causal agent. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(8), 2762–2764.
- Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF), 2018. <https://ec.europa.eu/food/safety/rasffen> (15.03.2018).
- Rodrigues, P., Venâncio, A., Lima, N., 2012. Mycobiota and mycotoxins of almonds and chestnuts with special reference to aflatoxins. *Food Research International*, 48(1), 76-90.
- Ruggeri, S., Cappelloni, M., Gambelli, L., Carnovale, E., 1998. Chemical composition and nutritive value of nuts grown in Italy. *Italian Journal of Food Science*, 10(3), 243-252.
- Sathe, S.K., 1993. Solubilization, electrophoretic characterization and in vitro digestibility of almond (*Prunus amygdalus*) proteins. *Journal of Food Biochemistry*, 16(4), 249-264.
- Schade, J.E., McCreevy, K., King, A.D., Mackey, B., Fuller, G., 1975. Incidence of aflatoxin in California almonds. *Applied Microbiology*, 29(1), 48–53.
- Smith, M.C., Madec, S., Coton, E., Hymery, N., 2016. Natural co-occurrence of mycotoxins in foods and feeds and their in vitro combined toxicological effects. *Toxins*, 8(4), 94-130.
- Socias, I., Company, R., Gomez Aparas J., Alonso, J.M., 2005. Year and enclosure effects on fruit set in an autogamous almond. *Scientia Horticulturae*, 104, 369-377.
- Stroka, J., Anklam, E., Joerissen, U., Gilbert, J., 2001. Determination of aflatoxin B<sub>1</sub> in baby food (infant formula) by immunoaffinity column cleanup liquid

chromatography with postcolumn bromination: collaborative study. Journal of AOAC International, 84(4), 1116-1123.

Sugita-Konishi, Y., Sato, T., Saito, S., Nakajima, M., Tabata, S., Tanaka, T., Norizuki, H., Itoh, Y., Kai, S., Sugiyama, K., Kamata, Y., Yoshiike, N., Kumagai, S., 2010. Exposure to aflatoxins in Japan: risk assessment for aflatoxin B<sub>1</sub>. Food Additives and Contaminants, Part A, 27(3), 365-372.

Şanlı, Y., 2002. Veteriner Klinik Toksikoloji. Medipres Yayıncılık, Malatya, 816 s.

Şimşek, M., 2015. Türkiye’de badem yetiştiriciliğinin durumu ve yapılan seleksiyon çalışmaları konusunda bir araştırma. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4(2), 95-100.

Türk Gıda Kodeksi (TGK), 2011. TGK Bulaşanlar Yönetmeliği. Resmi Gazete, 29 Aralık 2011, sayı 28157, Ankara, Başbakanlık Basımevi.

Türk Gıda Kodeksi (TGK), 2018. TGK Gıdalardaki Mikotoksin Seviyelerinin Resmi Kontrolü için Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği. Resmi Gazete, 15 Mart 2018, sayı 30361, Ankara, Başbakanlık Basımevi.

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), 2018. Bitkisel Ürün Denge Tabloları: Meyveler, Sert Kabuklular ve İçecek Bitkileri, <http://tuik.gov.tr> (05.05.2018).

Var, I., Kabak, B., Özkarslı, M., 2004. Mikotoksin aranmasında kullanılan analiz yöntemleri. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 2(11), 1-11.

Verkerk, M., Claessens, J.J.G., 2006. Plate with almonds, <https://happyforks.com/food/almonds/4012> (02.02.2018).

Yada, S., Lapsley, K., Huang, G., 2011. A review of composition studies of cultivated almonds: macronutrients and micronutrients. Journal of Food Composition and Analysis, 24(4), 469–480.

Yavuz, G.G., 2011. Badem. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü, Eskişehir.

Yazdanpanah, H., Mohammadi, T., Abouhossein, G., Majid Cheraghali, A., 2005. Effect of roasting on degradation of aflatoxin in contaminated pistachio nuts. Food and Chemical Toxicology, 43(7), 1135-1139.

Zhu, Y., Wilkinson, K.L., Wirthensohn, M.G., 2015. Lipophilic antioxidant content of almonds (*Prunus dulcis*): a regional and varietal study. Journal of Food Composition and Analysis, 39, 120-127.

Zivoli, R., Gambacorta, L., Perrone, G., Solfrizzo, M., 2014. Effect of almond processing on levels and distribution of aflatoxins in finished products and byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 5707–5715.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : KANIK, Tuğçe  
Uyruğu : T.C.  
Doğum tarihi ve yeri : 28.12.1993 - Çorum  
Medeni hali : Bekar  
Telefon : 553 628 74 16  
e-mail : tugcekanik93@gmail.com

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Hitit Üniversitesi Kimya Bölümü	2015
Lise	Özdemir Sabancı Emirgan Anadolu Lisesi	2011

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2013	Hitit Üniversitesi Erol Olçok Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Stajyer
2014	Ahlatçı Kuyumculuk	Stajyer
2017-2018	Hitit Üniversitesi Alaca Meslek Yüksek Okulu	Öğretim Görevlisi

**Yabancı Dil** İngilizce