

Afyonkarahisar’da Yerel Marketlerden Alınan Antep Fıstıklarında (*Pistacia vera* L.) Fungus İzolasyonu, Aflatoksin ve Okratoksin A. Varlığının Belirlenmesi

*Makale Bilgisi / Article Info

Alındı/Received: 25.06.2024

Kabul/Accepted: 30.09.2024

Yayımlandı/Published: xx.xx.xxxx

Fungus Isolation and Determination of the Presence of Aflatoxin and Ochratoxin A. in Pistachios (*Pistacia vera* L.) Purchased from Local Markets in Afyonkarahisar

Dilek AKYIL* 

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



© Afyon Kocatepe Üniversitesi

© 2025 The Author | Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 (CC BY-NC) International License

Öz

Gıda bozulmasına sebep olan pek çok fungus tarafından üretilen mikotoksinler, fungusların sekonder metabolitleridir. İnsanlarda basit alerjik reaksiyonlardan kansere ve ölüme kadar çeşitli olumsuz etkilere neden olabilirler. Yem ve gıdalardaki en önemli mikotoksinler; aflatoksinler (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2) ve okratoksin A'dır (OTA). Ticari açıdan değerli, lezzetli ve besin maddeleri açısından zengin olan antep fıstığı, üretim yöntemi ve diğer çevresel faktörler nedeniyle küf oluşumuna maruz kalan en önemli kuruyemişlerden biridir. Bu çalışmanın amacı; Afyonkarahisar'ın 10 farklı bölgesindeki yerel marketlerden toplanan antep fıstığı örneklerinden fungus izolasyonu, AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 ve OTA varlığını araştırmaktır. Elde edilen verilere göre fungus izolasyon çalışmalarında iki bölge dışındaki tüm örneklem alanlarından fungal koloniler elde edilmiş olup en yüksek koloni sayısı 4.46 ± 0.14 kob/ml ile Emirdağ 1. örneklem alanında tespit edilmiştir. Tüm bölgelerden izole edilen funguslar *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* ve *Polystanum* genuslarına aittir. Bu çalışmada analize gönderilen tüm örneklerdeki aflatoksin ve okratoksin A değerleri tespit sınırının altında kalmıştır ancak tespit sınırının altında kalan miktarların zamana bağlı olarak vücutta birikebilme potansiyeli olduğu bilinmektedir. Bu sebeple besinlerde mikotoksin varlığının belirlenmesini kapsayan risk değerlendirme çalışmaları günümüzde halen önemini korumaktadır.

Anahtar Kelimeler Aflatoksin; *Pistacia vera*; Okratoksin A; Kontaminasyon; Fungus, Mikotoksin

Abstract

Mycotoxins, produced by various fungi that cause food spoilage, are secondary metabolites of the fungi. They can cause a variety of adverse effects in humans, from simple allergic reactions to cancer and death. The most important mycotoxins in feed and food are; aflatoxins (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2) and ochratoxin A (OTA). Pistachios, which are commercially valuable, delicious and rich in nutrients, are one of the most important nuts exposed to mold formation due to the production method and other environmental factors. The purpose of this study; to investigate the presence of fungus isolation, AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 and OTA from pistachio samples collected from local markets in 10 different regions of Afyonkarahisar. According to the data obtained, fungal colonies were obtained from all sampling areas except two regions in the fungus isolation studies, and the highest number of colonies was detected in Emirdağ 1st sampling area with 4.46 ± 0.14 CFU/ml. Fungi isolated from all regions belong to the genera *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* and *Polystanum*. Aflatoxin and ochratoxin A values in all samples sent for analysis in this study remained below the detection limit, but it is known that the amounts below the detection limit have the potential to accumulate in the body over time. For this reason, risk assessment studies to determine the amount of mycotoxins in foods still maintain their importance today.

Keywords: Aflatoksin; *Pistacia vera*; Ochratoxin A; Contamination; Fungus, Mycotoxin

1. Giriş

Mikotoksin kontaminasyonu, insan ve hayvan sağlığına, dolayısıyla ekonomik ve ulusal etkilerine bağlı olarak önemli kayıplar vermesi nedeniyle küresel çapta dikkat çeken, dünya çapında bir gıda güvenliği sorunudur. Toksikite ve yaygınlıkları nedeniyle en önemli mikotoksinler; aflatoksinler (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2) ve okratoksin A (OTA) (Makun *et al.* 2009, Pandey *et al.* 2016, Pickova *et al.* 2021b)'dir. AFB1 günümüzde insanlar için en tehlikeli mikotoksinlerden biri olarak bilinmekte olup, kuruyemişler insanların bu mikotoksine maruz kalmasından sorumlu olan başlıca gıda kategorilerinden

biridir (Rastegar *et al.* 2017, Pustjens *et al.* 2022). AF'ler, başta *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* olmak üzere bazı *Aspergillus* türleri tarafından üretilen en tehlikeli mikotoksinler arasında yer almaktadır (Elsanhoty *et al.* 2014, Rossi *et al.* 2020). AFB1, insan ve hayvanlar için zararlı bir mikotoksin olarak kabul edilmektedir ve tüketimi insanlarda mutajenik, kanserojen, teratojenik, hepatotoksik ve immünsüpresif etkilere neden olabilmektedir (Baptista *et al.* 2004, Nazhand *et al.* 2020; Pickova *et al.* 2021b). AFB1, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı tarafından grup I kanserojen olarak listelenmiştir ve AFB1, genotoksik ve bağışıklık baskılayıcı etkileri olan en

tehlikeli mikotoksinlerdir (Rushing and Selim 2019). Bunlar, başta mısır ve sert kabuklu yemişler olmak üzere birçok tarım ürünüde hasat öncesi düzeyde tespit edilebilir, ancak hasat sonrası kontaminasyon, kontamine tanelerin varlığı ve uygunsuz kabuklu yemiş depolama yönetimi koşullarının kullanılması nedeniyle önemli ölçüde artabilir (Probst *et al.* 2007, Cotti *et al.* 2007, Probst *et al.* 2010). Dolayısıyla hepatokarsinojenik potansiyelleri nedeniyle AF'ler yüksek düzeyde yasal düzenlemeye tabidir. Avrupa Gıda ve Yem Hızlı Uyarı Sistemi'ne göre, 2014 yılında İran, Çin ve Türkiye'den fındık, sert kabuklu yemiş ürünleri ve tohumlardaki AF'lerle ilgili 125 rapor bulunmaktadır (Aldars-García *et al.* 2016).

OTA, *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsine ait çeşitli mantar türleri tarafından üretilen ve her yerde bulunan bir mikotoksindir (Alvarez *et al.* 2004). OTA, farklı hayvan türlerinde kanserojen potansiyele sahip potansiyel bir nefrotoksindir ve IARC tarafından Grup 2B insan kanserojeni olarak nitelendirilmiştir (IARC 1993, Malir *et al.* 2021). Ayrıca tahıllar, baharatlar, yeşil kahve, kurutulmuş meyveler, kuruyemişler, bira, şarap, üzüm ve üzüm suyu da dahil olmak üzere çok çeşitli gıdalarda kirletici olduğu rapor edilmiştir (Belli *et al.* 2006, Gonzalez *et al.* 2006, Ghali *et al.* 2009b).

Antep fıstığı (*Pistacia vera* L.) dünyadaki en popüler kuru meyvelerden biridir ve gıda kaynaklı hastalıklara, bozulmaya veya insan üzerinde toksik etkiye neden olabilecek farklı mikroorganizmalar tarafından enfeksiyona oldukça açıktır (Al-Moghazy *et al.* 2014). Bu mikroorganizmalar içinde *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* (Mojtahedi *et al.* 1979) en alakalı türlerdendir. Her iki tür de farklı suşlar tarafından üretilen ikincil metabolitler olan aflatoksinleri üretebilmekte (Georgiadi *et al.* 2012) ve besin maddelerinde birikebilmektedir. Türkiye'de antep fıstığında AF'lerin ve OTA kirliliğinin varlığına ilişkin çok sınırlı sayıda çalışma mevcut olup Afyonkarahisar'da bu konu ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma, Afyonkarahisar ve ilçelerdeki farklı yerel marketlerden toplanan antep fıstığındaki mikotoksin kontaminasyonlarının görülme sıklığına ilişkin ilk çalışma olması açısından önem arz etmektedir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Örnekler

Afyonkarahisar merkez ve ilçelerindeki yoğun talep gören 10 farklı yerel marketten rastgele toplam 100 adet antep fıstığı örneği toplanmıştır. Bu numuneler laboratuvara götürülmüş ve deneye kadar +4 °C'de saklanmıştır. Numunelerin tamamı blender ile homojen partikül

büyüklüğü elde edilecek şekilde öğütülmüş ve analize kadar plastik bir kaptaki buzdolabında saklanmıştır. Tüm numuneler ürünün raf ömrü içerisinde analiz edilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler Sigma Aldrich'ten temin edilmiştir.

2.2. Örneklerin Hazırlanması

Antep fıstığından AF'lerin ekstraksiyonu ve IAC temizliği AOAC Resmi Yöntemi 999.07'nin (Stroka *et al.* 2000) değiştirilmiş prosedürüne göre gerçekleştirilmiştir. 50 gr numune, 4 gr sodyum klorür (NaCl), 150 ml metanol ve 100 ml dH₂O blendera konularak yüksek hızda 1 dakika karıştırılarak numuneler homojen hale getirilmiştir. Daha sonra filtre kağıdından (Whatman No. 4) geçirilen 5 ml ekstrakta 15 ml fosfat tamponlu salin (PBS) çözeltisi ilave edilmiştir. Bu karışım vortekslenmiş ve bir immünoafinite kolonuna (IAC) alınmıştır. Kolon oda sıcaklığında stabilize edilmiş ve karışımın 20 mL'si kullanılarak daha da şartlandırılmıştır. Bu karışım daha sonra 3 mL/dakika akış hızında kolondan geçirilmiştir. Daha sonra AF'leri IAC'den ayırmak için aynı metanol akış hızında (1 mL, 1 mL/dak akış hızı) yerçekimi altında 20 ml deiyonize su geçirilmiştir. Bu numuneler HPLC analizi yapılmaya kadar 4-8 °C'de tutulmuş olup OTA ekstraksiyonunda da aynı yöntem kullanılmıştır.

2.3 HPLC Koşulları

Numuneler, bir floresans detektörü ile ODS-3 (C/N 4 µm, 3.9 x 150 mm) ters faz kolonuna sahip bir ters faz izokratik modda HPLC kullanılarak analiz edilmiştir. Mobil faz (asetonitril: metanol: su (20:30:60, h/h/v) 1 ml/dakika akış hızında kullanılmıştır. Ayrıca uyarılma ve emisyon dalga boyları sırasıyla 365 ve 442 nm'ye ayarlanmış ve sütun sıcaklıkları AF'ler için 30 °C'de ve OTA için 40 °C'de tutulmuştur.

AF analizi için mobil faz, 0.12 g l-1 potasyum bromit ve 350 µl l-1 nitrik asit (4 M) içeren karışık su-asetonitril-metanol (6:2:3, h/h/v) çözeltisi ve akış hızı 1 ml dk-1 idi. OTA analizi için mobil faz, 1 ml dk-1'de asetonitril-su-asetik asit (47:51:2, v/v/v) idi ve floresans dedektörü, 333 nm eksitasyon dalga boyuna ve 460 emisyon dalga boyuna ayarlanmıştır (Hepsag *et al.* 2014).

2.4. Analitik Kalite Parametreleri ve Validasyon Prosedürleri

Yöntem kalitesini sağlamak için aşağıdaki performans özellikleri değerlendirilmiştir; doğrusalık, doğruluk, kesinlik, tespit sınırları (LOD) ve nicelik belirleme (LOQ). AF karışımı için 0.1, 0.25, 0.50, 1, 5, 10 ve 20 ng ml₋₁ ve OTA için 0.5, 1, 5, 10 ve 20 ng ml₋₁ standart çözeltileri kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Numunelerin analizi öncesinde kalibrasyon eğrisi

oluşturulmuş, fındık numunelerinde AFB1 ve OTA ölçümü için doğrusal regresyon denklemleri kullanılmıştır (Taghizadeha *et al.* 2018). Yukarıdaki denklemlere dayanarak aflatoksinlere ilişkin LOD ve LOQ değerleri Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. HPLC analizi ile aflatoksin tayininin doğrulanması

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

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

2.5. Fungus İzolasyonu

Laboratuvara getirilen numuneler steril poşetlerinden çıkarıldıktan sonra her numune alanı için 100 gram numune tartılarak yüzey sterilizasyonu yapılmış ve numuneler tartıldıktan sonra yüzey sterilizasyonunun sağlanması için % 0.4'lük sodyum hipoklorit solüsyonunda 5 dakika bekletilmiştir. Yüzeyi sterilize edilen numuneler, sodyum hipoklorit çözeltisini uzaklaştırmak için steril distile su ile birkaç kez durulanmış ve kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan numuneler havan tokmağı yardımıyla steril torbalara konularak toz haline getirilmiştir. 1 gr toz fındık örneğine 100 ml steril distile su ilave edilmiş ve bu karışım vortekslenmiştir. Daha sonra bu karışımın 1 ml'si Rose Bengal Chloramphenicol Agar'a (RBCA) eklenmiştir. Örnekleme, tüm lokasyonlarda en az 5 tekrar ve 3 bağımsız deney ile gerçekleştirilmiştir. Ekim yapılmış petri fungus kolonilerinin büyümesi açısından karanlıkta oda sıcaklığında (25 °C) 7-14 gün süreyle inkübe edilmiştir. Her istasyon için alınan örnekler petri kaplarında sayılmış ve ml başına ortalama mantar sayısı CFU (koloni oluşturan birim) olarak belirlenmiştir.

2.6. Fungusların İdentifikasyonu

RBCA'da yetiştirilen fungus kolonileri 7-14 günlük inkübasyonun ardından identifikasyon amacıyla farklı besiyerlerine (Patato Dextrose Agar, Sabouraud Glucose Agar, Czapek-dox Agar, Malt Extract Agar) pasajlanmıştır. Türlerin tanımlanması için koloniler makroskopik ve mikroskopik olarak incelenmiş ve identifikasyon cins düzeyinde gerçekleştirilmiş ve cinslerin tanımlanması Barnett ve Hunter (1998)'a göre yapılmıştır. Fungusların mikroskopik incelemesinde Butler ve Mann (1959)'ın

selüloz bant yöntemi kullanılmış ve boyama laktofenol pamuk mavisi ile yapılmıştır.

3. Bulgular

Toplanan 10 adet antep fıstığı örneğinde öncelikle toplam AF'ler ve OTA konsantrasyonu açısından HPLC ile taranmış ve laboratuvara getirilen örneklerden fungus izolasyonu yapılmıştır. Analiz sonuçları Türk Gıda Kodeksi (TGK) esaslarına göre değerlendirilmiş olup buna ait tablo 2'de verilmiştir.

Elde edilen veriler incelendiğinde iki bölge hariç tüm bölgelerden mantar izolasyonu yapılmıştır. Koloni sayıları dikkate alındığında maksimum koloni sayısı Emirdağ 1. örneklem alanında 4.46 ± 0.14 CFU/ml olarak tespit edilmiş ve bu bölgede tanımlanan fungal genuslar *Cladosporium*, *Penicillium* ve *Polystanum* ile temsil edilmiştir. İkinci yüksek koloni sayısı ise 2.66 ± 0.08 CFU/ml ile Sultandağı 3. örneklem alanı olup, bu bölgede antep fıstığında *Aspergillus* ve *Penicillium* ait türler bulunmuştur. Maksimum koloni sayısı Emirdağ 1. Örneklem alanında olmasına karşın bu bölge üç farklı genus ile temsil edilmektedir ancak Şuhut 1. Örneklem alanında koloni sayısı 2.00 ± 0.05 CFU/ml olmasına karşın bu bölgede dört farklı genusa ait fungal kontaminasyon tespit edilmiştir. Koloni sayısının en az olduğu bölgeler Merkez 1. örneklem ve Sultandağı 2. örneklem alanları olup, her ikisinde de koloni sayısı 0.33 ± 0.02 CFU/ml olarak saptanmıştır. Bu bölgelerde bulunan fungal genuslar sırasıyla *Aspergillus* ve *Penicillium* türleriyle temsil edilmiştir. Tüm bölgelerden izole edilen fungal genuslar *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* ve *Polystanum* cinslerine ait türlerdir.

TGK'e göre antep fıstığında belirlenen limitler AFB1 için 8 ng/g, toplam aflatoksin için ise 10 ng/g'dır. Antep fıstığında OTA'nın varlığına ilişkin maksimum bir sınır belirlenmemiştir. Ancak Türk Gıda Kodeksi 2008 standardında OTA ile bulaşma riski taşıyan diğer gıdalar için 10 µg/l sınır değeri belirlenmiştir. Antep fıstığı, okratoksin A kontaminasyonuna duyarlı bir gıda matrisine sahiptir. Ancak bu çalışmada bölgelerden toplanan örneklerin hiçbirinde tespit limitinin üzerinde aflatoksin veya okratoksin A'ya rastlanmamıştır. Bu durumda tüm numunelerdeki aflatoksin ve okratoksin miktarları tespit sınırının altında olduğundan sayısal veri elde edilememiştir. Bölgelere göre izole edilen fungusların cins ve sayıları ile AF'ler ve OTA düzeyleri Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Afyonkarahisar ili antep fıstığında mantar izolasyonu, AF'ler ve OTA düzeyleri

Örneklem Alanı	Ortalama Koloni Sayısı (CFU/ml)	Fungal Genuslar	AFB1 (ppb, ng/ml)	AFB2 (ppb, ng/ml)	AFG1 (ppb, ng/ml)	AFG2 (ppb, ng/ml)	OTA (ppb, ng/ml)
M1	0.33±0.02	<i>Aspergillus</i>	*	*	*	*	*
E1	4.46±0.14	<i>Cladosporium</i> <i>Penicillium</i> <i>Polystanum</i>	*	*	*	*	*
E2	-	-	*	*	*	*	*
E3	0.33±0.03	<i>Penicillium</i>	*	*	*	*	*
S1	-	-	*	*	*	*	*
S2	0.33±0.02	<i>Penicillium</i>	*	*	*	*	*
S3	2.66±0.08	<i>Aspergillus</i> <i>Penicillium</i>	*	*	*	*	*
Ş1	2.00±0.05	<i>Aspergillus</i> <i>Cladosporium</i> <i>Penicillium</i> <i>Polystanum</i>	*	*	*	*	*
Ş2	0.66±0.05	<i>Alternaria</i> <i>Polystanum</i>	*	*	*	*	*
Ş3	0.66±0.04	<i>Cladosporium</i>	*	*	*	*	*

* tespit sınırının altında (M1:Merkez 1. örneklem alanı, E1-E3 Emirdağ 1.bölge-Emirdağ 3.bölge, S1-S3 Sultandağ 1.bölge-Sultandağ 3.bölge, Ş1-Ş3:Şuhut 1. bölge- Şuhut 3. bölge)

4. Tartışma ve Sonuç

Gıdaların AF'ler ve OTA ile kontaminasyonu taşıdığı riskler açısından halen bilim adamlarının ilgi odağı olmaya devam etmektedir. Kuruyemişler, bileşimleri ve saklama koşulları nedeniyle bu kontaminasyona duyarlı olan gıda örnekleri arasındadır. AF'lerin farklı türdeki kabuklu yemişler, fındık ve fındık içerikli ürünlerdeki görülme sıklığı, farklı ülkelerdeki pek çok araştırmacı tarafından incelenmiştir (Wagacha and Muthomi 2008, Siahi Shadbad *et al.* 2012, Fakoor Janati *et al.* 2012, Azaiez *et al.* 2015, Masood *et al.* 2015, Taghizadeh *et al.* 2018). Mikotoksinler gıda güvenliği açısından bir endişe kaynağıdır; Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), gıdaların %25'inin mikotoksinler tarafından kontamine olduğunu ve bunun sağlık açısından olumsuz sonuçları olduğunu ancak aynı zamanda gıda zincirinin her seviyesinde ekonomik kayıplara da yol açtığını tahmin etmektedir (Atroshi *et al.* 2002, Goessens *et al.* 2024). Mikotoksinler, gıda güvenliğine daha az önem verilen, kalite kontrolün yetersiz olduğu, sıcak havanın, yetersiz üretim tekniklerinin ve kötü ürün depolama koşullarının fungusların büyümesi için elverişli olduğu gelişmekte olan ülkelerde daha yaygındır (Daou *et al.* 2021). Gıda ve Yem için Hızlı Uyarı Sistemi (RASFF), 2018 yılında, ağırlıklı olarak kuru meyve grubunda ve fındık, antep fıstığı ve badem gibi kurutulmuş meyve ve tohumlardan elde

edilen mikotoksinler için 569 rapor bildirdi. En yaygın olarak bildirilen grup aflatoksinlerdir ve bunu okratoksin A takip etmektedir. Mikotoksinlere yönelik 588 rapor ile aynı eğilim 2019'da da devam etmektedir ve bu raporların %90'ı AB dışındaki ülkelerden, özellikle Türkiye ve Arjantin'den gelmektedir.

Bu çalışmada kontamine numunelerin analizinde HPLC yöntemi kullanılmıştır. Gıda maddelerinde AF'lerin ve OTA'nın analizi için çok sayıda yöntem geliştirilmiş olup bunlardan floresan tespiti kullanan HPLC en uygun olanı olarak seçilmiştir. Bu teknik, birçok ticari laboratuvarında gıda maddelerinde rutin AF'ler ve OTA analizi için benimsenmiş olup malzeme açısından nispeten ucuz olması, birden fazla numunenin analizine uyarlanabilmesi ve tekniğin uygulama kolaylığından dolayı daha çok tercih edilmektedir (Cavaliere *et al.* 2007).

Antep fıstığı AF'ler ve OTA kontaminasyonu açısından riskli ürünler olarak değerlendirilmektedir. Dolayısıyla antep fıstığı, insan sağlığına faydalı etkilerine rağmen aynı zamanda kimyasal tehlikelere de sahiptir ve güncel bir halk sağlığı sorunu oluşturan mikotoksinlere, özellikle de aflatoksinlere maruz kalmanın önemli bir kaynağını oluşturmaktadır. Antep fıstığının, büyük ölçüde olgunlaşmanın sonunda kabuk bölünmesi nedeniyle aflatoksinlerle kirlenme riski en yüksek olan tür olduğu

düşünülmektedir (Varga *et al.* 2013, Cheraghali *et al.* 2021).

Bu çalışmada, antep fıstığındaki mantarların izolasyonu ve bu mantarların cins düzeyinde tanımlanması yapılmış olup, HPLC üzerinde kalitatif ve kantitatif analizlerle örneklerin ekstraksiyonu, aflatoksin ve OTA analizleri yapılmıştır. Elde edilen veriler incelendiğinde Emirdağ 2. ve Sultandağı 1. örneklem alanı dışındaki tüm bölgelerden fungal izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Koloni sayılarına bakıldığında en fazla koloni Emirdağ 1. örneklem alanında bulunmuş olup, tüm bölgelerde en yaygın fungal cinsler *Penicillium* ve *Aspergillus*'tur. Daha önce yapılmış çalışmalarda antep fıstığında ağırlıklı olarak *Aspergillus flavus* türü tespit edilmiştir (Mojtahedi *et al.* 1979). Antep fıstığında hem *toksijenik A. flavus* hem de *A. parasiticus* suşlarını tespit etmelerine rağmen, *A. flavus*'un *A. parasiticus* kontaminasyonundan daha yaygın olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda fungus izolasyonu ve identifikasyonu sonucunda *Aspergillus* ve *Penicillium* daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak tüm bölgeler arasında dominant cins olmuştur (Siahi Shadbad *et al.* 2012). Yine Anelli *et al.* (2024) yaptıkları çalışmada Türk antep fıstığının *A. tubingensis* ve *A. flavus* türlerinin büyümesine duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir.

Kabuklu yemişler aflatoksin kontaminasyonuna duyarlı bir gıda matrisine sahiptir (Campane *et al.* 2011). Her ne kadar kabuk ürünleri korusa da, AF'ler ve OTA kontaminasyonu açısından halen risk altındadır ve AF kontaminasyonunu gösteren çeşitli çalışmalar rapor edilmiştir (Cheraghali *et al.* 2007, Bircan *et al.* 2008, Juan *et al.* 2008, Ghali *et al.* 2009a, Fernane *et al.* 2010). Bu çalışmada ise diğer çalışmalardan farklı olarak örneklem alanlarının tümünde AF'ler ve OTA tespit sınırının altında kalmıştır. Bunun nedeninin antep fıstığının depolanması ve hasat sırasında genel kurallara uyulması olduğu düşünülmektedir ve fungal kontaminasyon açısından örneklem alanlarındaki koloni sayılarının çok yüksek olmaması aflatoksin ve OTA varlığının az olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Sert kabuklu fıstıklarda kabuğun koruyucu özelliği olması nedeniyle kirlenme riski kabuksuz fıstıklara göre daha düşüktür.

Sedefoğlu (2013)'na göre aflatoksin ve okratoksin tespit edilen farklı çalışmalar bulunmasına rağmen bu çalışmaya benzer şekilde 19 örnekte herhangi bir toksine rastlanmamıştır. Abdulkadar *et al.* (2004) tarafından yapılan çalışmada Katar'da satılan 6 farklı antep fıstığından üçünün (Thuvander *et al.* 2001, Abdulkadar *et al.* 2004) İsveç'te yaptıkları çalışmada analiz edilen 21 antep fıstığından yalnızca yedisinin aflatoksin ile kontamine olduğu tespit edilmiş diğer numunelerde

herhangi bir kontaminasyona rastlanmamıştır (Thuvander *et al.* 2001). Taranan örneklerin büyük çoğunluğunun çalışmamıza benzer şekilde herhangi bir kontaminasyona maruz kalmadığı görülmektedir.

Yine bizim çalışmamıza benzer şekilde (Fernane *et al.* 2010), analiz ettikleri antep fıstıklarında 58 örnekte sadece birinde AF ve OTA kontaminasyonunun varlığını göstermişlerdir. Çeşitli bölgelerde farklı kuru yemiş örnekleriyle yapılan çalışmalarda AF ve OTA kontaminasyonu bakımında bu çalışmadaki sonuçlardan farklı olarak tespit limitleri içerisinde değişik düzeylerde kontaminasyon tespit edilmiştir. Tüm yapılan bu çalışmalarda farklı sonuçların elde edilmesinde; depolama koşulları, iç nem içeriği, ürünlerin kurutulma süresi, kirlenmiş antep fıstıklarını uzaklaştırmak için depolama öncesi ayırma ve hijyenik koşullar, hasat sonrası aflatoksin kontaminasyonunu etkileyen diğer çevresel faktörler gibi değişkenlerin etkili olabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda fıstık türü ve üretim sürecinin yanı sıra iklimsel ve bölgesel faktörlerin de önemli olduğu tahmin edilmektedir.

Özetle mikotoksinler çeşitli kimyasal yapıları, biyosentetik kökenleri ve biyolojik etkileri nedeniyle heterojen bir gruptur. Gıdalar birkaç farklı mikotoksinle kontamine olabilir çünkü koşullar fungal kontaminasyon için uygun olduğunda birden fazla fungal tür gıdayı kontamine edebilir veya tek bir fungal tür birçok toksik metabolit üretebilir. Her ne kadar AF ve OTA kontaminasyonu bu çalışmada fıstık için tespit sınırının altında olsa da, uzun süreli kuruyemiş tüketimi ile kronik olarak sağlık açısından risk oluşturabileceği unutulmamalıdır. Bu bağlamda bu çalışma, Afyonkarahisar'da yerel pazarlarda satılan fıstıklarda AF ve OTA tehlikesi hakkında temel yararlı bilgiler vermekte olup, bu bölge için bu konuda yapılan ilk tarama çalışmasıdır.

Etik Standartlar Bildirgesi

Yazarlar tüm etik standartlara uyduklarını beyan ederler.

Yazarlık Katkı Beyanı

Yazar : Kaynaklar, Araştırma, Deney, Yazma – orijinal taslak
Görselleştirme, Yazma – orijinal taslak

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarların bu makalenin içeriğiyle ilgili olarak beyan edecekleri hiçbir çıkar çatışması yoktur.

Verilerin Kullanılabilirliği

Bu çalışma sırasında oluşturulan veya analiz edilen tüm veriler, yayınlanan bu makaleye dahil edilmiştir.

5. Kaynaklar

- Abdulkadar, W.H.A., Al-Ali, A.A., Al-Kildi, M.A. and Al-Jedah, H.J. 2004. Mycotoxin in food products available in Qatar. *Food Control*, 15, 543-548. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2003.08.008>
- Aldars-García, L., Ramos, A.J., Sanchis, V. and Marín, S. 2016. Modelling the probability of growth and aflatoxin B1 production of *Aspergillus flavus* under changing temperature conditions in pistachio nuts. *Procedia Food Science*, 7, 76-79. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2016.02.091>
- Al-Moghazy, M., Boveri, S. and Pulvirenti, A. 2014. Microbiological safety in pistachios and pistachio containing products. *Food Control*, 36, 88-93. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.07.030>
- Alvarez, L., Gil, A.G., Ezpeleta, O., Garcia-Jalon, J.A. and Lopez de C.A. 2004. Immunotoxic effects of ochratoxin A in wistar rats after oral administration. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 825-834. RETRACTED: Antioxidant nutrients and mycotoxins. *Toxicology*, 180(2), 151-167. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.01.005>
- Anelli, P., Haidukowski, M., Ferrara, M., Kisikkaya, A., Pembeci, C., Ozer, H., Mulè, G., Loi, M., Moretti, A. and Susca, A. 2024. Monitoring fungi and mycotoxin potential in pistachio nuts of Turkish origin: A snapshot for climate change scenario. *Fungal Biology*, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2024.07.009>
- Azaiez, I., Font, G., Mañes, J. and Fernández-Franzón, M. 2015. Survey of mycotoxins in dates and dried fruits from Tunisian and Spanish markets. *Food Control*, 51, 340-346. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.033>
- Baptista, A.S., Horii, J., Calori-Domingues, M.A., Gloria, E.M., Salgado, J.M. and Vizioli, M.R. 2004. The capacity of manno-oligosaccharides, thermolysed yeast and active yeast to attenuate aflatoxicosis. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20, 475-481. <https://doi.org/10.1023/B:WIBI.0000040397.48873.3b>
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4th Ed. USA, Prentice-Hall, Inc. 218.
- Belli, N., Ramos, A.J., Coronas, I., Sanchis, V. and Marín, S. 2005. *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A production on a synthetic grape medium in relation to environmental factors. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 839-844. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02469.x>
- Bircan, C., Barringer, S.A., Ulken, Ü. and Pehlivan, R. 2008. Aflatoxin levels in dried figs, nuts and paprika for export from Turkey. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1492-1498. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01726.x>
- Butler, E.E. and Mann, M.P. 1959. Use of cellophane tape for mounting and photographing phytopathogenic fungi. *Phytopathology*, 49, 231-232. <https://doi.org/10.2307/3757050>
- Campone, L., Piccinelli, A.L., Celano, R. and Rastrelli, L. 2011. Application of dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in cereal products. *Journal of Chromatography*, 1218, 7648-7654. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.05.02>
- Cavaliere, C., Foglia, P., Guarino, C., Nazzari, M., Samperi, R. and Laganà, A. 2007. Determination of aflatoxins in olive oil by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 596, 141-148. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.05.055>
- Cheraghali, A.M., Yazdanpanah, H., Doraki, N., Abouhossain, G., Hassibi, M., Aliabadi, S., Aliakbarpoor, M., Amirahmadi, M., Askarian, A., Fallah, N., Hashemi, T., Jalali, M., Kalantari, N., Khodadadi, E., Maddah, B., Mohit, R., Mohseny, M., Phaghihy, Z., Rahmani, A., Setoodeh, L., Soleimany, E. and Zamanian F. 2007. Incidence of aflatoxins in Iran pistachio nuts. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 812-816. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.10.026>
- Chulze, S.N., Magnoli, C.E. and Dalcero, A.M. 2006. Occurrence of ochratoxin A in wine and ochratoxigenic mycoflora in grapes and dried vine fruits in South America. *International Journal of Food Microbiology*, 111, 5-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.02.006>
- Daou, R., Joubrane, K., Maroun, R.G., Khabbaz, L.R., Ismail, A. and Khoury, A.E. 2021. Mycotoxins: Factors influencing production and control strategies. *AIMS Agriculture and Food*, 6(1), 416-447. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2021025>
- Elsanhoty, R.M., Salam, S.A., Ramadan, M.F. and Badr, F.H. 2014. Detoxification of aflatoxin M1 in yoghurt using probiotics and lactic acid bacteria. *Food Control*, 43, 129-134. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.03.002>
- Fakoor Janati, S.S., Beheshti, H.R., Asadi, M., Mihanparast, S. and Feizy, J. 2012. Preliminary survey of aflatoxins and ochratoxin A in dried fruits from Iran. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88, 391-395. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0477-7>
- Fernane, F., Cano-Sancho, G., Sanchis, V., Marín, S. and Ramos A.J. 2010. Aflatoxins and ochratoxin A in pistachios sampled in Spain: occurrence and presence of mycotoxigenic fungi. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 3(3), 185-192. <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.497257>

- Georgiadou, M., Dimou, A. and Yanniotis, S. 2012. Aflatoxin contamination in pistachio nuts: a farm to storage study. *Food Control*, 26, 580-586. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.02.014>
- Ghali, R., Belouaer, I., Hdri, S., Ghorbel, H., Maaroufi, K. and Hedilli, A. 2009. Simultaneous HPLC determination of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in Tunisian sorghum and pistachios. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 751-755. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.04.009>
- Ghali, R., Hmaissia-Khlifa, K., Ghorbel, H., Maaroufi, K. and Hedili, A. 2009. HPLC determination of ochratoxin A in high consumption Tunisian foods. *Food Control*, 20, 716-720. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.09.004>
- Gonzalez, L., Juan, C., Soriano, J.M., Molto, J.C. and Manes, J. 2006. Occurrence and daily intake of ochratoxin A of organic and nonorganic rice and rice products. *International Journal of Food Microbiology*, 107, 223-227. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.10.001>
- Goessens, T., Mouchtaris-Michailidis, T., Tesfamariam, K., Truong, N. N., Vertriest, F., Bader, Y., Boevre, M. D., Saeger, S., Lachat, C. and De Boevre, M. 2024. Dietary mycotoxin exposure and human health risks: A protocol for a systematic review. *Environment International*, 184. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108456>
- Hepsag, F., Golge, O. And Kabak, B. 2014. Quantitation of aflatoxins in pistachios and groundnuts using HPLC-FLD method. *Food Control*, 38, 75-81.
- International Agency for Research on Cancer, IARC. 1993. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 56, 257-263.
- Juan, C., Zinedine, A., Moltó, J.C., Idrissi, L. And Mañes, J. 2008. Aflatoxins levels in dried fruits and nuts from Rabat-Salé area, Morocco. *Food Control*, 19, 849-853. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.08.010>
- Makun, H.A., Gbodi, T.A., Akanya, H.O., Salako, E.A. and Ogbadu, G.H. 2009. Fungi and some mycotoxins found in mouldy Sorghum in Niger State, Nigeria. *World Journal of Agricultural Sciences*, 5, 5-17.
- Malir, F., Louda, M., Toman, J., Ostry, V., Pickova, D., Pacovsky, J., Brodak, M. and Pfohl-Leskowicz, A. 2021. Investigation of ochratoxin A biomarkers in biological materials obtained from patients suffering from renal cell carcinoma. *Food Chemical Toxicology*, 158, 112-669. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112669>
- Masood, M., Iqbal, S.Z., Asi, M.R. and Malik, N. 2015. Natural occurrence of aflatoxins in dry fruits and edible nuts. *Food Control*, 55, 62-65. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.02.041>
- Mojtahedi, H., Rabie, C.J., Lübben, A., Steyn, M. and Danesh, D. 1979. Toxic aspergilli from pistachio nuts. *Mycopathology*, 67, 123-127.
- Nazhand, A., Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E.B. ve Santini, A. 2020. Characteristics, occurrence, detection and detoxification of aflatoxins in foods and feeds. *Foods*, 9, 644. <https://doi.org/10.3390/foods9050644>
- Pandey, A.K., Sonker, N. and Singh, P. 2016. Efficacy of some essential oils against *Aspergillus flavus* with special reference to Lippia alba oil an inhibitor of fungal proliferation and aflatoxin B1 production in green gram seeds during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 928-934. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13254>
- Pickova, D., Ostry, V., Toman, J. and Malir, F. 2021b. Aflatoxins: history, significant milestones, recent data on their toxicity and ways to mitigation. *Toxins*, 13, 399. <https://doi.org/10.3390/toxins13060399>
- Probst, C., Njapau, H. and Cotty, P.J. 2007. Outbreak of an acute aflatoxicosis in Kenya in 2004. Identification of the causal agent. *Application of Environmental Microbiology*, 73, 2762-2764. <https://doi.org/10.1128/AEM.02370-06>
- Probst, C., Schulthess, F. and Cotty, P.J. 2010. Impact of *Aspergillus* section *Flavi* community structure on the development of lethal levels of aflatoxins in Kenyan maize (*Zea mays*). *Journal of Applied Microbiology*, 108, 600-610. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04458.x>
- Pustjens, A.M., Castenmiller, J.J.M., te Biesebeek, J.D., de Rijk, T.C., van Dam, R.C.J. and Boon, P.E. 2022. Dietary exposure to mycotoxins of 1- and 2-year-old children from a Dutch Total Diet Study. *World Mycotoxin Journal*, 15, 85-97. <https://doi.org/10.3920/WMJ2020.2676>
- Rastegar, H., Shoeibi, S., Yazdanpanah, H., Amirahmadi, M., Khaneghah, A.M., Campagnollo, F.B. and Sant'Ana, S.S. 2017. Removal of aflatoxin B1 by roasting with lemon juice and/or citric acid in contaminated pistachio nuts. *Food Control*, 71, 279-284. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.06.045>
- Sedefoğlu, C. 2013. Antep Fıstıklarında Okratoksin A ve Aflatoksin Varlığının İncelenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Rossi, F., Gallo, A. and Bertuzzi, T. 2020. Emerging mycotoxins in the food chain. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 13, 7-27. <https://doi.org/10.3233/MNM-190345>
- Rushing, B.R. and Selim, M.I. 2019. Aflatoxin B1: A review on metabolism, toxicity, occurrence in food,

occupational exposure, and detoxification methods.
Food Chemical Toxicology, 124, 81–100.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.11.047>

Varga, E., Glauner, T., Berthiller, F., Krska, R., Schuhmacher, R. and Sulyok, M. 2013. Development and validation of a (semi-)quantitative UHPLC-MS/MS method for the determination of 191 mycotoxins and other fungal metabolites in almonds, hazelnuts, peanuts and pistachios. Analytical and Bioanalytical Chemistry Research, 405, 5087–5100.
<https://doi.org/10.1007/s00216-013-6831-3>