

75515

KIRMIZI PUL BİBERLERDE MİKROFLORA VE AFLATOKSİN
OLUŞUMUNA BÖLGENİN ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gıda Müh. Özlem C. ERMİŞ
(F695Y097)

75515

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih :11 Ocak 1999

Tezin Savunulduğu Tarih :05 Şubat 1999

Tez Danışmanı

:Prof.Dr. Dilek HEPERKAN

D. Hepar

Diğer Jüri Üyeleri

:Prof. Dr. Muammer UĞUR (İ.Ü.)

muammer

Doç.Dr. Necla ARAN

necla

ŞUBAT 1999

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÖNSÖZ

Ülkemiz ihracatına sağladığı katkı kadar, gıda sektöründe de oldukça geniş bir kullanım alanına sahip olan kırmızı pul biber önemli bir baharatımızdır. Kırmızı biberin kurutulup, öğütülmesiyle elde edilen Kırmızı Pul Biber uygun ekolojik koşullara sahip olan Türkiye’de, özellikle Güney ve Güneydoğu Bölgelerinde yetiştirilerek, işlenir. Ancak yeterli sanitasyon ve koşullarının sağlanmadığı ortamlarda işlenen kırmızı biberlerde, yetiştiği ortamdan bulaşan mikroorganizmaların özellikle küflerin gelişme göstermesiyle, ürün bozulabilmekte ve toksik bir etki yaratabilmektedir. Yapılan bu çalışmanın amacı, çeşitli illerimizde üretilen kırmızı pul biberlerin mikolojik kalitesini, değişik bağıl nem ortamlarında incelerken, örneklerdeki aflatoksin varlığını da tespit etmektir.

Bu amaçla yapılan araştırmada, çalışmalarımı yöneten ve yönlendiren Sayın Prof. Dr. Dilek HEPERKAN’a, manevi katkılarını esirgemeyen annem ve babama, laboratuvar çalışmalarında yardımlarından dolayı Sayın Levent DİNÇER’e teşekkür ederim. Saygılarımla.

ŞUBAT, 1999

Özlem Ceyda ERMIŞ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
ÖNSÖZ	ii
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	xi
 BÖLÜM 1. GİRİŞ	 1
 BÖLÜM 2 . LİTERATÜR ÖZETİ	 2
2.1. Kırmızı Biber Üretim ve Ticareti	2
2.1.1. Kırmızı Biberin Tarihçesi	2
2.1.2. Tanım-Sınıflandırma	3
2.1.3. Bileşimi-Besin İçeriği	5
2.1.4. Kırmızı Biber İşleme Teknolojisi	7
2.1.5. Kırmızı Biber Ürünleri ve Kullanım Alanları	10
2.1.6. Türkiye’de Kırmızı Pul Biber Üretimi	11
2.2. Kırmızı Biberlerde Mikoflora ve Aflatoksin Oluşumu	13
2.2.1. Kırmızı Biberin Mikoflorası	13
2.2.2. Aflatoksin Tanımı ve Özellikleri	16
2.2.3. Kırmızı Pul Biberlerde Aflatoksin Oluşumu	17
 BÖLÜM 3 MATERYAL - METOT	 20
3.1. Materyal	20
3.2. Metot	20
3.2.1. Kimyasal Analizler	20
3.2.1.1. pH Tayini	20
3.2.2. Mikrobiyolojik Analizler	21
3.2.2.1. Direkt Örneklerde Toplam Küf Sayımı ve <i>Aspergillus flavus</i> Tespiti	21
3.2.2.2. Örneklerde Mikoflora Tespiti	23
3.2.2.3. %75, %85 ve %100 Bağıl Nem Ortamlarının Hazırlanması ve Örneklerde Toplam Küf Sayımı ve <i>Aspergillus flavus</i> Tespiti	25
3.2.3. Direkt Örneklerde HPLC ile Aflatoksin Analizi	25
3.2.3.1. Örnek Hazırlama	25
3.2.3.2. Ekstraktın Seyreltilmesi	26
3.2.3.3. Kolon Kromatografisi	26

BÖLÜM 4 SONUÇLAR - TARTIŞMA	<u>Safya no</u> 27
4.1. Direkt ve Farklı Bağıl Nem Koşullarında Depolanan Örneklerdeki pH Değerleri	27
4.2. Direkt ve Farklı Bağıl Nem Koşullarında Depolanan Örneklerde Toplam Küf Sayısı	29
4.3. Direkt ve Farklı Bağıl Nem Koşullarında Depolanan Örneklerde Mikoflora	32
4.4. Direkt ve Farklı Bağıl Nem Koşullarında Depolanan Örneklerde <i>Aspergillus flavus</i> Sayısı ve Direkt Örneklerde Aflatoksin Oluşumu	36
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ	43



TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. : Örneklerde ortalama küf sayısı (cfu/g) ve % bulaşma oranları.....	ix
Tablo 2. : Örneklerdeki ortalama <i>A.flavus</i> sayısı ve % bulaşma oranı.....	x
Table 1. : The contamination rations and average total fungal counts (cfu/g) in regions.....	xiii
Table 2. : The contamination % rations and total counts (colony/g) with <i>Aspergillus flavus</i> in regions.....	xiv
Tablo 2.1.: 100 g acı kırmızı biberin besin içeriği	5
Tablo 2.2.: Kırmızı pul biberin sınıf özellikleri.....	6
Tablo 2.3.: Acı ve tatlı kırmızı biberde istenen “Ortalama Kalite” özellikleri (%, en çok).....	7
Tablo 2.4.: Türkiye’nin yıllara göre kırmızı biber ihracatı.....	12
Tablo 2.5.: Kırmızı biberlerde bakteri florası.....	14
Tablo 2.6.: Kırmızı biberlerde küf florası.....	15
Tablo 4.1.: Adana yöresi pH analiz sonuçları.....	27
Tablo 4.2.: Antep yöresi pH analiz sonuçları.....	27
Tablo 4.3.: Maraş yöresi pH analiz sonuçları.....	28
Tablo 4.4.: Urfa yöresi pH analiz sonuçları.....	28
Tablo 4.5.: Kırmızı pul biber örneklerinde toplam küf sayıları (cfu/g).....	30
Tablo 4.6.: Direkt örneklerde mikoflora.....	32
Tablo 4.7.: % 75 bağıl nemli ortamda depolanan örneklerde mikoflora.....	33
Tablo 4.8.: % 85 bağıl nemli ortamda depolanan örneklerde mikoflora.....	34
Tablo 4.9.: % 100 bağıl nemli ortamda depolanan örneklerde mikoflora....	35
Tablo 4.10.: Direkt ekilen örneklerde <i>Aspergillus flavus</i> sayısı ve aflatoksin varlığı.....	37

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1. : Dilüsyon tekniği ile toplam küf sayımı.....	22



KIRMIZI PUL BİBERLERDE MİKOFLORA VE AFLATOKSİN OLUŞUMUNA BÖLGENİN ETKİSİ

ÖZET

Baharatlar, sahip oldukları çeşitli özellikleri nedeniyle yüzyıllardır kullanılmaktadır. Geçmiş zamanlarda baharatlar, o kadar değerliymiş ki uzun yıllar para yerine kullanılarak, insanların birçok ihtiyaçlarını giderebilmelerini sağlamıştır. Baharatlar sadece gıdalara aroma ve lezzet verici olarak katılmakla kalmayıp, parfümeri, kozmetik ve sağlık gibi geniş kullanım alanına sahiptirler.

Kırmızı biber dünyada oldukça önemli bir baharat topluluğunu temsil etmektedir. Kırmızı pul biber ise *Solanaceae* ailesinin *Capsicum annuum* türüne ait olan kırmızı biberin kurutulması sonucu elde edilen bir baharattır.

Türkiye sahip olduğu ekolojik koşullar nedeniyle, özellikle Güney ve Güneydoğu bölgelerinde kırmızı biber üretimine uygun toprak ve iklime sahiptir. Gaziantep ve Kahramanmaraş başlıca kırmızı pul biber üretilen illerimizdendir. Yıllık pul biber üretimimiz 12.000 ton civarında olup, Türkiye bu bakımdan dünyada üçüncü sırada yer almaktadır. Dünya üzerinde Türkiye'nin kırmızı pul biber ihracatı yaklaşık 60 ülkeye ulaşmış bulunmaktadır. Ağırlıklı olarak ihracat yapılan ülkeler Malezya, Meksika, Almanya, Hollanda, Amerika ve Fransa'dır.

Türkiye, modern işleme alanlarının oluşturulmasıyla, dünya pazarına daha iyi kalitede ürün sunabilme imkanı kazanmıştır ve baharat ihracatında uluslararası Amerikan Baharat Ticaret Kuruluşu'nun standartlarını uygulamaktadır.

Kırmızı pul biber, nem ve ılık ortamın hakim olduğu yetersiz hijyen koşullarında üretilir. Bu koşullar, potansiyel mikrobiyolojik kontaminasyonun olduğu toprak ile direkt temas halinde olan yerlerdir. Özellikle bu metot geleneksel kurutma yöntemi olarak ülkemizde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Genel olarak, baharatlarda rastlanan mikroorganizma miktarı $10^3 - 10^6$ / g arasındadır. Mikrobiyal florasında çoğunlukla *Bacillus* gibi spor oluşturan aerobik bakteriler, daha az sıklıkla koliform ve *Streptococcus* cinsi bakteriler bulunmuş, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* ve mayalara da rastlanmıştır. *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ve mikotoksin üreten küfler gibi patojen ve sağlığa zararlı mikroorganizmaların varlığı da baharatlarda belirlenmiştir.

Yapılan araştırmalar sonucunda kırmızı biberlerde mikrobiyal floranın büyük bir bölümünü *Aspergillus* spp. ve *Penicilium* spp. küflerinin oluşturduğu tespit edilmiş ve özellikle, *A.glaucus*, *A.flavus*, *A.nidulans*, *A.niger* ve *A.versicolor* gibi mikotoksin üreten küflerin gelişmesi içinde kırmızı pul biberin iyi bir substrat olduğu saptanmıştır.

Çeşit küfler uygun koşullarda gelişme gösterirken insan ve hayvan sağılığına zararlı mikotoksin denilen toksik etkili metabolitleri de oluştururlar. Bu metabolitlerin insan ve hayvanlarda oluşturdukları hastalık tablolarına da “mikotoksikozis” adı verilmektedir. Aflatoksinler; *A. flavus*, *A. paraciticus* ve *A. nomius* küfleri tarafından üretilen, bifuran halkası ve lakton bağı içeren kumarin bileşiklerdir. Halen 18 değışik aflatoksin tipi tanımlanmış olup, B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂ en yaygın olanlarıdır. Aflatoksinler arasında ise aflatoksin B₁ en yüksek toksik özelliğe sahiptir. Toksin üretimi, direkt olarak küfün üremesi ile ilgilidir. *Aspergillus flavus* cinsinin toksin üretebilmesi için optimum koşullar 33°C, pH 5.0 ne a_w 0.99’dur. Aflatoksinler insan sağılığı için tehlike oluşturduklarından çok sayıda araştırmalara konu olmakta ve ürünlerde bulunabilecek en yüksek miktarlar yasa ve tüzüklerle sınırlandırılmaktadır. Ülkemizde ise gıda maddelerinin standartlarına, izin verilen en yüksek aflatoksin B₁ üst sınırı 5 ppb ve toplam aflatoksin üst sınırı 10 ppb olarak yerleştirilmiştir.

Geleneksel olarak, aflatoksin analizleri genellikle kloroformun kullanıldığı çözgen ekstraksiyonu ile yapılır. Bunu öncelikli olarak ince tabaka veya HPLC silika jel kromatografisi kullanılan örnek temizleme işlemi izler. Son günlerde daha hızlı ve güvenilir sonuçlar veren immunoaffinity metodları uygulanmaya başlamıştır. Bu yaklaşımda örnek çözgen karışımının temizliğinde anti-aflatoksin antitodisi içeren kolonlar kullanılmaktadır. Uygulanan teknik, çeşitli gıda matrikslerinin 1 tek adımda analize hazır olmalarını sağlamada kolaylık getirmiştir.

Bu çalışmada; Adana, Antep, Maraş ve Urfa illerine ait kırmızı pul biberlerde mikoflora ve aflatoksin oluşumuna bölgenin etkisi incelenerek, yöre ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesi karşılaştırılmıştır. Bu amaçla; çoğunluğu söz konusu olan illerden az bir kısmı ise İstanbul’da ilgili il ürünlerini satan özel marketlerden 8 adet Antep, 6 adet Adana, 8 adet Maraş, 6’sı adet İso (yağda kavrulmuş) 14 adet Urfa olmak üzere, toplam 36 adet kırmızı pul biber örneğı materyal olarak kullanılmıştır. Direkt ve değışik bağıl nem koşullarında 15 gün depolanan kırmızı pul biber örneklerinde pH, mikoflora ve *Aspergillus flavus* tespiti, direkt örneklerde aflatoksin analizi yapılmıştır. % 75, % 85 ve % 100 bağıl nemli ortamlar sırasıyla NaCl, KCl ve saf su kullanılarak hazırlanmıştır.

Kırmızı pul biber örneklerinin pH değıerleri direkt ve farklı bağıl nem ortamlarında depolananlarda 4 – 6 arasında bulunmuştur.

Kırmızı pul biber örneklerinde toplam küf sayısı, mikoflora ve *Aspergillus flavus* tespiti için dilüsyon yönteminden yararlanılmıştır. Dilüsyon sonucunda sırasıyla Dichloran Rose Bengal Chloramphenical agar (DRBC) katı besiyerine 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ ve 10⁻⁵ yayma plak yöntemi ile ekim yapılarak 25°C’de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda üreme gösteren koloniler sayılarak toplam küf sayısı tespit edilmiştir. Örneklerin küf sayısı ortalamaları Tablo 1 ‘de verilmiştir. Direkt ekim, %75, %85 ve %100 bağıl nem koşullarında ortalama küf sayıları sırasıyla, 2×10² - 3×10⁵ cfu/g, 1×10² - 1×10⁵ cfu/g, 2×10² - 3×10⁷ cfu/g ve 1×10² - 7×10⁷ cfu/g arasında bulunmuştur.

Tablo 1. Örneklerde ortalama küf sayısı (cfu/g) ve % bulaşma oranları

İL ADI	DİREKT EKİM		%75 B.N.*		%85 B.N.		%100 B.N.	
	(cfu/g)	(%)	(cfu/g)	(%)	(cfu/g)	(%)	(cfu/g)	(%)
ADANA	2×10^4	50	2×10^4	80	2×10^5	70	3×10^5	100
ANTEP	1×10^4	100	1×10^4	90	8×10^4	60	8×10^5	80
MARAŞ	1×10^5	90	0	0	9×10^6	80	2×10^7	80
URFA	8×10^2	30	9×10^1	20	1×10^3	40	6×10^5	60

(*) Bağlı nem

İsot'un direkt ekim ortalama küf sayısı 0 cfu/g; % 75 bağlı nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 20, ortalama küf sayısı 2×10^2 cfu/g; % 85 bağlı nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 50 olup, ortalama küf sayısı 2×10^3 cfu/g, % 100 bağlı nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 50 olup, ortalama küf sayısı 8×10^5 cfu/g olarak tespit edilmiştir.

Toplam küf sayısı ve % bulaşma oranını yöre bazında incelediğimizde; Urfa yöresinin direkt ekim ve farklı bağlı nem ortamlarında diğer yörelere göre daha iyi sonuç verdiği, özellikle İsot'un direkt ekilen örneklerinde küf gelişimi olmadığı gözlenmiştir. Diğer yörelerde de bağlı nem arttıkça bulaşma oranının arttığı tespit edilmiştir.

Aspergillus flavus, DRBC katı besiyerinde verdiği tipik sarımsı yeşil ,yuvarlak görüntüsü ile teşhis edilirken, diğer küfler Malt Ekstrakt Agar (MEA)'a alınmış ve 25°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu üreme gösteren *Penicillium* spp. türlerinin tespiti için Czapek Yeast Autolysate Agar (CYA) katı besiyerinde 5°C, 25°C ve 35°C'de, %25 Gliserol Nitrat Agar (G25N) katı besiyerinde 25°C'de ve MEA katı besiyerinde 3 nokta tekniği ile ekim yapılarak 25°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda üreyen koloniler makroskopik ve mikroskopik olarak incelenerek ve literatür ile karşılaştırılarak identifiye edilmiştir. Üreme gösteren *Eurotium* spp. türlerinin tespiti için % 20 şekerli Malt Ekstrakt Agar katı besiyerine steril öze ile sürme ekim yapılarak 25°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda üreyen *Eurotium*'ların conidia ve ascosporları mikroskopik olarak incelenerek ve literatürde karşılaştırılarak tür düzeyinde identifiye edilmiştir.

Direkt ekilen örneklerde mikoflora, *Aspergillus* spp. (*A.flavus*, *A.nidulans*, *A.niger*, *A.oryzae*, *A.sclerotia*, *A.terreus*, *A.versicolor*), *Eurotium* spp. (*E.amstelodami*, *E.chevalieri*), *Penicillium* spp. (*P.brevicompactum*, *P.griseofulvum*, *P.viridicatum*), *Monascus ruber* teşhis edilirken, % 75 bağlı nem ortamında depolanan örneklerde mikoflorada *Aspergillus* spp. (*A.flavus*, *A.niger*, *A.sclerotia*), *Eurotium* spp. (*E.amstelodami*, *E.chevalieri*, *E.repens*), *Penicillium* spp. (*P.viridicatum*), *Scopulariopsis brevicaulis*; % 85 bağlı nem ortamında depolanan örneklerde

mikoflorada *Aspergillus* spp. (*A.flavus*, *A.niger*, *A.sclerotia*), *Eurotium* spp. (*E.amstelodami*, *E.chevalieri*, *E.repens*), *Penicillium* spp. (*P.brevicompactum*, *P.viridicatum*); % 100 bağıl nem ortamında depolanan örneklerde mikoflorada *Aspergillus* spp. (*A.flavus*, *A.niger*, *A.sclerotia*, *A.terreus*), *Eurotium* spp. (*E.amstelodami*, *E.chevalieri*, *E.rubrum*), *Penicillium* spp. (*P.crustocum*, *P.viridicatum*), *Scopulariopsis brevicaulis*, tüm örneklerde Zygomycetes sınıfına ait küflere de rastlanmıştır.

Yöre bazında ortalama üreme gösteren *Aspergillus flavus* sayısı ve % bulaşma oranı Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Örneklerdeki ortalama *A.flavus* sayısı ve % bulaşma oranı

İL ADI	DİREKT EKİM		% 75 B.N.*		% 85 B.N.		% 100 B.N.	
	(cfu/g)	(%)	(cfu/g)	(%)	(cfu/g)	(%)	(cfu/g)	(%)
ADANA	4×10 ³	33	1×10 ²	33	8×10 ¹	16	7×10 ¹	33
ANTEP	2×10 ³	88	0	0	4×10 ²	37	1×10 ²	13
MARAŞ	2×10 ⁴	62	0	0	0	0	5×10 ⁴	25
URFA	5×10 ¹	21	0	0	0	0	0	0

(*) Bağıl nem

Direkt ekilen örneklerde *Aspergillus flavus* sayısı ortalama olarak 7×10³ koloni/g, bulaşma oranı ise % 47 olarak tespit edilmiştir.

Kırmızı pul biber örneklerinde aflatoksin analizi, kırmızı pul biber için özel geliştirilmiş Afla Test Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi yöntemi uygulanarak saptanmıştır. Yöntemde hareketli faz olarak % 5 asetonitril ve %95 metanol : su (45:55) kullanılmıştır. Akış hızı 1 ml/dakika, floresans dedektörün emisyonu ise 453 nm olarak seçilmiştir.

Direkt ekim yapılan örneklerde aflatoksin varlığı % 14 olarak tespit edilmiştir. *Aspergillus flavus* tespit edilen 17 örnekten sadece 5 ‘inde aflatoksin bulunmuş olup, Antep’ten bir örnekten 20.77 ppb aflatoksin B₁ ve Maraş’tan bir örnekten 10.50 ppb aflatoksin B₁ saptanmıştır.

Çalışma sonuçlarına göre Antep ve Maraş Bölgelerinde, Adana ve Urfa’ya göre *A.flavus* bulaşma oranının daha yüksek olduğu görülmektedir. Bulgular aflatoksin açısından değerlendirildiğinde tüm bölgelerde aflatoksinli örnek sayısının düşük olduğu, ancak aflatoksin miktarının limitlerin üzerinde olduğu görülmektedir.

THE EFFECT OF THE REGION ON MYCOFLORA AND AFLATOXIN FORMATION IN RED PEPPERS

SUMMARY

Spices have been used for a variety of functions for centuries. In ancient times, spices were so valuable that they were used as a form of money and for many years, were so expensive that they were available only to the very rich. Not only were the spices used to season foods, but they were often used as perfumes, cosmetics and aphrodisiacs.

Red pepper products represent some of the most important spice commodities in the world. Red pepper is a spice which is get by drying and grinding the fruit of that belong to *Solanaceae* family which are inside in *Capsicum annuum* species.

Owing to Turkey's climatic and ecological conditions many spices are cultivated or gathered from the natural vegetation just like in some parts of the world. Red pepper is important spice in Turkey. Gaziantep and Kahramanmaraş are the main production provinces. Annual production of red pepper is around 12.000 tons and Turkey is the third country in red pepper production. Turkey's red pepper export drive has reached around 60 countries in the world. The majority of exports are destined to Malaysia, Mexico, Germany, the Netherland, USA and France.

Modern processing plants have enabled Turkey to offer a wide range of quality and clean products to world markets. Natural drying, classification by hand and machine and grinding are the general steps of red pepper processing. In Turkish spice exports, American Spice Trade Association (ASTA) standards which have international credibility are applied if requested.

Red pepper are grown and harvested in poor sanitary conditions in areas in abundant warmth and humidity. Such conditions lay the groundwork for potential microbiological contamination. Especially this method is still in practice in Turkey as a traditional drying method. Numerous studies have indicated high microbial loads in red peppers which could pose a problem for food manufactures.

The microbial load of red pepper is between $10^3 - 10^6$ /g. *Bacillus* spp, moulds and spor formers aerobic bacteria constitute the mycoflora. Frequently, Coliforms, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. and

Salmonella also exist. Yeasts are rarely found, but there are several species of molds, including *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Scopulariopsis* and others.

However, investigations shows that *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. are the main components of the mycoflora. Especially, red pepper is available for potential mycotoxin-producing moulds, such as *Aspergillus flavus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus glaucus*, *Penicillium* spp.

Many strains of molds, while growing in a suitable environment, produce metabolites that are toxic to humans, animals and birds, and are grouped as mycotoxins. Consumption of foods containig mycotoxins causes mycotoxicosis. The aflatoxins are a group of mycotoxins produced by the food spoilage fungi *Aspergillus*, particularly *flavus* and *paraciticus*. There are four naturally occuring aflatoxins; aflatoxin B₁, B₂, G₁ and G₂, and all have varying degrees of biological activity. Aflatoxin B₁ is the most potent and has been shown to be a toxin, mutagen and animal carcinogen. Toxin production, in general, is directly related to the growth of a mold strain. In microbiological media suitable for growth of molds, the *Aspergillus flavus* strain is capable of producing optimum concentrations of aflatoxin at 33°C, pH 5.0, and a_w 0.99. Most countries in the Western world have introduced regulations controlling the level of aflatoxins in human and animal food. Also Turkey has put forward a rule in legal regulations that the maximum level for aflatoksin B₁ is 5 ppb and the maximum level for total aflatoxin (B₁+B₂+G₁+G₂) is 20 ppb.

Traditionally aflatoxin analysis has been performed using solvent extraction, usually with chloroform, followed by sample clean-up by silica gel chromatography, prior to either Thin Layer Chromatography (TLC) or High Pressure Lipid Chromatography (HPLC) analysis. More recently immunological methods have been introduced which permit more rapid and reliable aflatoxin analyses to be conducted. The immunoaffinity approach offers a simple means of specifically concentrating aflatoxin from blended food sample solvent extracts using columns containing an anti-aflatoxin antibody. The technique enables a wide variety of food matrices to be analysed using a one-step extraction protocol without the need to use halogenated hydrocarbon solvents for extraction.

In this study; a total of 36 samples of red pepper grown in Adana, Antep, Maraş and Urfa was examined to determine mycoflora and aflatoxin formation in direct planting and different relative humidities. 75 %, 85 % and 100 % relative humidity (RH) was supplied with NaCl, KCl and pure water, respectively. pH, mycoflora, growth of *Aspergillus flavus* and the presence of aflatoxin was determined in 6 Adana, 8 Antep, 8 Maraş and 14 Urfa (8 of 14 was İsoT which was added oil while producing.) direct samples and samples which was stored in different relative humidity in 15 days.

The pH value of samples were found to be in between 4 – 6 for direct and stored in different relative humidity.

Dilution method was appilied for determined total fungal count and detection of mycoflora and *Aspergillus flavus*. The molds was enumerated using spread plates with Dichloran Rose Bengal Chloramphenical agar (DRBC) as a standard medium.

DRBC plates were incubated at 25°C for 7 day. After incubation, colonies in DRBC medium was enumerated and total fungal count was established.

Total fungal counts were found to be between in 2×10^2 - 3×10^5 cfu/g, 1×10^2 - 1×10^5 cfu/g, 2×10^2 - 3×10^7 cfu/g ve 1×10^2 - 7×10^7 cfu/g for original and stored in different relative humidity, respectively. The contamination rations of samples with fungal flora and average total fungal counts for regions are shown in Table 1.

Table 1. The contamination rations and average total fungal counts (cfu/g) in regions

REGION	ORIGINAL SAMP.		75% R.H.		85% R.H.		100% R.H.	
	(cfu/g)	(%)	(cfu/g)	(%)	(cfu/g)	(%)	(cfu/g)	(%)
ADANA	2×10^4	50	2×10^4	80	2×10^5	70	3×10^5	100
ANTEP	1×10^4	100	1×10^4	90	8×10^4	60	8×10^5	80
MARAŞ	1×10^5	90	0	0	9×10^6	80	2×10^7	80
URFA	8×10^2	30	9×10^1	20	1×10^3	40	6×10^5	60

The contamination rations and total fungal counts of Isot with fungal flora were determined 0 % for original, 20 % and 2×10^2 cfu/g for 75 % relative humidity, 50 % and 2×10^3 for 85 % relative humidity, 50 % and 8×10^5 cfu/g for 100 % relative humidity.

As shown above Urfa region has the best result in total fungal counts when compared with the others. Especially, it was observed that no fungal growth in the original samples of Isot. In the others regions, it was determined that fungal counts was increased with the rising of relative humidity.

Aspergillus flavus were identified using Dichloran Rose Bengal Chloramphenical Agar (DRBC) and Malt Extract agar (MEA), produced yellow- green color on the media. For detection of *Penicillium* spp. Czapek Yeast Autolysate agar (CYA), 25% Gliserol Nitrat agar (G25N) and MEA were used as standard mediums. 3 point method was applied and CYA plates were incubated at 35°C, 25°C, 5°C; G25N plates were incubated at 25°C; MEA plates were incubated at 25°C for 7 days. After incubation *Penicillium* spp. were detected according to literature.

For detection of *Eurotium* spp. Malt Extract agar with 20 % saccharose was used. After incubation at 25°C for 7 days, species was detected according to literature.

In general, the mold flora were dominated by *Aspergillus* spp. and *Eurotium* spp. If the conditions were examined; the fungal mycoflora *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sclerotia*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus versicolor*, *Eurotium amstelodami*, *Eurotium chevalieri*,

Penicillium brevicompactum, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium viridicatum*, *Monascus ruber* were determined for original samples.

Aspergillus flavus, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sclerotia*, *Eurotium amstelodami*, *Eurotium chevalieri*, *Eurotium repens*, *Penicillium viridicatum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Zygomycetes* were determined as the fungal mycoflora for samples stored in 75 % relative humidity.

The fungal mycoflora for samples stored in 85 % relative humidity were *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sclerotia*, *Eurotium amstelodami*, *Eurotium chevalieri*, *Eurotium repens*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium viridicatum*, *Zygomycetes* spp.

Aspergillus flavus, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sclerotia*, *Aspergillus terreus*, *Eurotium amstelodami*, *Eurotium chevalieri*, *Eurotium rubrum*, *Penicillium crustocum*, *Penicillium viridicatum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Zygomycetes* spp. were determined as the fungal mycoflora for samples stored in 100 % relative humidity.

The contamination ratios of original samples with *Aspergillus flavus* were determined 47 % and the average *Aspergillus flavus* count was found 7×10^3 colony/g.

The contamination ratios and total counts with *Aspergillus flavus* for regions are shown in Table 2.

Table 2. The contamination % ratios and total counts (cfu/g) with *Aspergillus flavus* in regions

REGION	ORIGINAL SAMP.		75 % R.H.		85 % R.H.		100 % R.H.	
	(cfu/g)	(%)	(cfu/g)	(%)	(cfu/g)	(%)	(cfu/g)	(%)
ADANA	4×10^3	33	1×10^2	33	8×10^1	16	7×10^1	33
ANTEP	2×10^3	88	0	0	4×10^2	37	1×10^2	13
MARAŞ	2×10^4	62	0	0	0	0	5×10^4	25
URFA	5×10^1	21	0	0	0	0	0	0

Aflatoxins were analysed by high-performance liquid chromatography (HPLC) using with Afla-Test columns. For HPLC set-up: mobile phase was choosed as %5 asetonitryl and %95 methanol:water (45:55), flow rate was 1 ml/minute. Fluorescence detector had excitation 365 nm and emission 453 nm.

The aflatoxin detection rations of original samples were determined 14 %. Only 5 of 17 which were determined *Aspergillus flavus*, were found aflatoxin formation. 20.77 ppb aflatoxin B₁ was found from Antep and 10.50 ppb aflatoxin B₁ was found from Maraş. According to the Turkish Codex the maximum aflatoxin B₁ level for spices are 5 ppb. Therefore the results are not suitable for consumption by people.

As a result of the research, contamination of *A.flavus* in Antep and Maraş regions is higher than that of Adana and Urfa. The number of samples with aflatoxin is quite low, but the level is above the limits.



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Kırmızı biber, *Solanaceae* familyasına ait olan *Capsicum annuum* türüne dahil bir sebzenin kurutularak öğütülmesi sonucu elde edilen, yemeklere lezzet ve acılık vermek amacıyla kullanılan bir baharattır. Türkiye sahip olduğu ekolojik koşullar nedeniyle, özellikle Güney ve Güneydoğu bölgelerinde kırmızı biber üretimine uygun toprak ve iklime sahiptir. Türkiye ihracatına da katkısı olan kırmızı biber, üretimi ve depolanması sırasında uygun koşullar sağlanmazsa küf gelişmesini teşvik edici bir üründür. Küf bulaşmasının, dalında başladığı kırmızı biberler, ülkemizin bir çok yöresinde geleneksel olarak yerde kurutulmakta, bunun sonucunda küf kontaminasyonu ve buna paralel olarak da aflatoksin oluşumu önlenememektedir.

Aflatoksin, insan ve hayvan sağlığı üzerinde zararlı etki yaratan ve küfler tarafından oluşturulan bir toksik metabolittir. Aflatoksinlerin doğal olarak bulunduğu ürünler arasında yağlı tohumlar, sert kabuklu meyveler, baklagiller, tahıllar, yemler, baharat gibi birçok ürün sayılabilmektedir. Literatürde *Capsicum* cinsine ait kırmızı biber türlerinin, aflatoksin oluşumu yönünden riskli ürünler arasında yer aldığı yapılan araştırmalar sonucu ortaya konmuştur.

Bu çalışmada; Adana, Antep, Maraş ve Urfa illerine ait kırmızı pul biberlerde mikoflora ve aflatoksin oluşumuna bölgenin etkisi incelenerek, yöre ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesi karşılaştırılmıştır. Ayrıca ürünlerde, değişik bağıl nem ortamlarında küf gelişimini incelemek amacıyla; NaCl, KCl ve saf su kullanılarak sırasıyla, % 75, % 85 ve % 100 bağıl nemli ortamlar oluşturulmuş ve mikoflora oluşumu takip edilmiştir.

BÖLÜM 2

LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 KIRMIZI BİBER ÜRETİM VE TİCARETİ

2.1.1 Kırmızı Biberin Tarihçesi

Baharatların tarihi neredeyse insanlık tarihi kadar eskidir. Genellikle Güney ve Güneydoğu Asya'dan kaynaklanan ve yaklaşık 7 bin yıldan beri bilinen baharatların ticaretine hakim olmak her zaman önemli olmuştur.

Kutsal kitaplarda sık sık bahsedilen baharatların ülkelerin kaderinde, dünya ticaretinde ve tarihinde, keşiflerde büyük etken olduğu görülmektedir. İskenderiye, Venedik, Cenova gibi tarihi merkezler baharat ticaretiyle zenginleşmişlerdir. Tropik Asya'dan kervanlar ve gemilerle Ortadoğu'ya, oradan da Batı'ya getirilen baharatlar, "İpek yolu, Baharat yolu, Kral yolu" gibi adlar verilen ticaret yollarının en değerli ürünlerini oluşturmuşlardır. Başlangıçtan beri baharat ticaretinin merkezi Ortadoğu'dur. Bu bölgedeki milletlerin en önemli gelir kaynağı, diğer egzotik ürünlerle birlikte baharatlar olmuştur (Akgül, 1993).

Cenovalı Christophe Colomb, Hindistan'a ulaşacak en kısa deniz yolunu bulmak amacıyla İspanya adına 1492'de çıktığı seferinde, Karayip Denizindeki adaları ve Amerika kıtasını keşfetmiştir. Aslında Yeni Dünya'nın keşfinde Colomb'un bulduğu en büyük hazine kırmızı biber yani *Capsicum* türleridir. Çünkü bu seferden sonra kırmızı biber Avrupa'da tanınmaya başlamıştır (Akgül, 1993; Charalambous, 1994).

Capsicum, Yeni Dünya’da medeniyetin oluşmasından beri bilinmektedir ve tarihçesi Yeni Dünya’nın keşfi ile birleştirilir. Milattan önce 7500 yılından beri insan beslenmesinde yeri vardır. *Capsicum* cinsi oldukça geniş bir bitki grubunu temsil eder ve dünyada en çok tüketilen baharatları içine alır. Kırmızı biber gıda üretiminde renk ve aroma verici, kozmetik sanayinde renklendirici ve ilaç sektöründe katkı maddesi olarak kullanılmaktadır.

Son 20-30 yılda, gerek bireysel içi gerek endüstriyel çapta, gıdalarda kırmızı biber kullanımı büyük artış göstermiştir. Değişen ve gelişen beslenme alışkanlıkları, etnik yemeklere ve ilginç damak zevklerine yönelik, yeni gıda ürünlerinin ortaya çıkması ve bazı teknolojik gerekler, kırmızı biberden yararlanılmasını gündeme getirmiştir. Kırmızı biberin pul ve toz olarak gıdalara katılması hala önemini korumaktadır.

2.1.2 Tanım - Sınıflandırma

Colomb’un keşfine kadar, kırmızı biber Eski Dünya’da bilinmeyen bir ürün idi. Asya’ya, gemi ile Avrupa’nın batısından ulaşacağını düşünen Colomb, yeni bir kıta keşfettiğinde, kara biberin acılığında bir bitki ile karşılaşmıştır. Colomb bu bitkiyi renginin kırmızı olmasından dolayı kırmızı biber olarak adlandırmıştır. Bulunan bitki daha sonra *Capsicum* adı altında sınıflandırılmıştır.

Capsicum terminolojisi oldukça karışıktır. *Capsicum* cinsi altındaki bitkiler Chili, chile, chilli, aji, paprika, pepper gibi oldukça çeşitli isimlerde adlandırılırlar. Araştırmacılar ise genellikle chile, pepper veya aji isimlerini kullanmaktadırlar. Kaynak bitki veya ülkeye göre, acı kırmızı biberler ticarete de Chillies, Cayenne, Hontaka, Tabasco, Sport, Cherry, Bell, Tomato, Sandia gibi değişik isimlerle anılmaktadır (Akgül, 1993; Charalambous, 1994). Bugün bile, hem ticari hem de bilimsel sınıflandırmada bir liste üzerinde anlaşma sağlanamamıştır.

Capsicum’un, karabiber cinsi ile bir ilgisi bulunmayıp; *Capsicum* kelimesi, Yunanca’da anlamı ısırarak olan *kapko* sözcüğünden gelmektedir. Chile adı ise Avrupa’dan Hindistan, Çin ve Japonya’ya kadar yaygın olarak kullanılmaktadır.

Kırmızı Biber; *Capsicum* cinsinin domates, patates, tütün ve petunya bitkilerini içeren *Solanaceae* ailesine dahil bir üyesidir. Acı kırmızı biberin botanik adı

Capsicum frutescens L., tatlı kırmızı biberin botanik adı ise *Capsicum annuum L.*’ dir. Kırmızı biber, duyuşal özelliğine göre de Yakıcı baharat sınıfına girmektedir.

KIRMIZI BİBER (ACI): Bitkisi Güney Amerika, Orta Amerika ve Karayip kökenlidir. 1-3 yıllık, çalımsı, sık dallı, küçük yapraklı, 1 m boylu, yeşilimsi sarı küçük çiçeklidir. Ilıman, sıcak ve tropik iklimlerde, bütün kıtalarda yetiştirilir. Tohumla üretilir. Yukarıda belirtilen tür ve yüzlerce varyete mevcuttur. Orta Amerika, Güney Amerika, Tropikal Afrika, Güney Asya; Hindistan, Pakistan, Endonezya, Meksika, Çin; Tayland, Japonya, Tunus, Uganda, Nijerya, Etiyopya, ABD, Jamaika, Guyana, Türkiye başlıca üretici ülkeleridir.

Baharatı ise bitkinin meyvesidir. Tür, varyete ve iklime göre son derece farklı büyüklük, şekil, renk, aroma ve acılığa sahiptir. Acı kırmızı biber tatlının tersine acılığı için kullanılan baharattır. Genel olarak, 0.5-15 cm uzunluk ve 0.2-7 cm genişliktedir. Şekli düz veya kıvrık, silindirik veya yassı, yuvarlak, konik veya ucu sivri ya da küttür. Rengi yeşilimsi sarı, sarı, turuncu, kırmızı veya kahverengimsi kırmızıdır (Akgöl, 1993).

KIRMIZI BİBER (TATLI): Bitkisi Karayip kökenlidir. Yıllık yetişir. Çalımsı, büyük yapraklı, beyaz küçük çiçeklidir. Ilıman ve sıcak bölgelerde, Amerika, Avrupa, Asya ve Kuzey Afrika’da, çok sayıda varyetenin tarımı yapılır. Tohumla üretilir. Macaristan, İspanya, Bulgaristan, Türkiye, Romanya, Yugoslavya, Çekoslovakya, Şili, Arjantin başlıca üretici ülkeleridir.

Varyeteye göre çok çeşitli büyüklük, şekil, renk, koku ve lezzettedir. Genel olarak 8x5 cm boyutlarında, dikdörtgenimsi, sarımsı-kahverengimsi kırmızı, hafif kokuludur. Bazıları hafif acıdır. Sap ve tohumlar ayrılarak kurutulup öğütölen meyve baharattır. Baharat ticari olarak irilik, renk ve lezzet açısından çok sayıda kalite sınıflarına ayrılmıştır.

Tatlı kırmızı biber, başta renk özelliğinden dolayı baharat olarak kullanılır. Yüksek sıcaklık, nem ve doğrudan güneş ışığı baharatın renk ve kokusunu süratle bozar. Öğütölmüş üründe tohumların bulunması kaliteyi düşürür. *Capsicum annuum L. var. Grossum Sendt.*’un yeşil ve tatlı meyveleri, dünya çapında çok yaygın olup, C vitaminince zengindir (Akgöl, 1993).

TS 3706/Ekim 1986 numaralı Türk Standardında Kırmızı Biber-Acı, Pul (Yaprak) *Capsicum annuum L.* türüne giren kültür bitkilerinin tam olgunlaşmış acı meyvelerinin iyice kurutulup, saplı veya sapı alındıktan sonra, çekirdekli veya çekirdeksiz, yarı öğütülerek pul (yaprak) haline getirilmiş, belirli oranlarda yemeklik sıvı bitkisel yağ ve yemeklik tuz ile karıştırılıp su ile tavllanmış şekli olarak tanımlanmıştır. Pul kırmızı biberler özelliklerine göre 1.sınıf ve 2.sınıf olmak üzere sınıflara; parçacık iriliklerine göre de ince, orta ve iri olmak üzere boylara ayrılmaktadırlar.

2.1.3 Bileşimi – Besin İçeriği

Kırmızı biberin kullanım amacı doğrudan beslenme değildir ve genellikle birkaç gram gibi çok az kullanıldıkları için besin elemanlarının temininde önemli bir kaynak sayılmaz. Kırmızı biberin özelliğini veren, başta aromayı sağlayan bileşikler ile, uçucu olmayan renk ve tat maddeleridir.

Baharatların depolanmasında ve kalitesinde büyük önem taşıyan nemin, mikrobiyolojik bozulmayı önlemek için % 14'ten fazla olmaması gerekir ki kırmızı biberin nem içeriği en çok % 11-13 'dir. Toplam kül en çok % 8, asitte çözünmeyen kül en çok % 1.5 olmalıdır. Öğütülmüş veya pul biberlerin en az % 95'i 8 numaralı elekten geçmelidir (Akgül, 1993).

100 g acı kırmızı biber baharat; 318 kcal enerji verirken, Tablo 2.1'de acı kırmızı biber besin içeriği verilmiştir (Akgül, 1993).

Tablo 2.1 100 g acı kırmızı biberin besin içeriği (Akgül, 1993)

SU	8.1 g	Ca	148 mg	Zn	2 mg
PROTEİN	12 g	Fe	8 mg	C vit.	76 mg
YAĞ	17.3 g	Mg	152 mg	Riboflavin	1 mg
KARBONHİDRAT	56.6 g	P	293 mg	Niasin	9 mg
LİF	24.9 g	K	2014 mg	A vit.	41610 IU
KÜL -	6 g	Na	30 mg		

Acı kırmızı biber % 60 etanolde % 20-30 ve asetonda % 10 ekstrakt verir. Uçucu olmayan eter ekstratının en az % 15 olması istenir. Bu ürün, tohumlarının miktarına göre % 4-16 sabit yağ içerir. Kırmızı biberin tipik aroması özellikle, çok sayıdaki özgün ester ile pirazin, tiazol ve alkol bileşiklerinden kaynaklanır. Renk başta kapsantin olmak üzere, karoten, kapsorubin, zeaksantin, kriptoksantin ve lutein gibi karotenoitlerden ileri gelir. Acılığı veren kapsaisinoit bileşiklerden kapsaisin en fazla bulunanıdır. Saf kapsaisin, 65°C’de eriyen beyaz kristalin bileşiktir; daha yüksek sıcaklıklarda uçucudur ve buharları tahriş edicidir (Akgül, 1993).

TS 3706 Kırmızı pul biber standardına göre sınıf bazında istenen özellikler Tablo 2.2’de belirtilmiştir.

Tablo 2.2 Kırmızı pul biberin sınıf özellikleri (TS 3706)

ÖZELLİKLER	1.SINIF	2.SINIF
1)Yabancı madde, ağırlıkça % en çok	0.5	0.8
2)Toplam kül, ağırlıkça % en çok	15	17
3)HCL’de çözünmeyen kül; kuru maddede ağırlıkça % en çok	1	1.5
4)Eter ekstraktı, kuru maddede ağırlıkça % en az	15	15
5)Uçucu yağlar , ağırlıkça % en az	0.3	0.25
6)Renk	Koyu kırmızı	Açık kırmızı

Tablo 2.2’deki bilgilere ek olarak standartta kırmızı pul biberlerde ağırlıkça bulunabilecek olan rutubet % 24’ü, yemeklik tuz % 6’yı, yemeklik sıvı bitkisel yağ % 8’i, kendinden olan sap ve kılçık parçaları % 1.5’i geçmemesi gerektiği belirtilmiştir.

Standartların dışında bazı araştırmacılar baharatlarda ortalama kalite özellikleri belirlemişlerdir. Buna göre; acı ve tatlı kırmızı biberde istenen “Ortalama Kalite” özellikleri ise Tablo 2.3’de verilmiştir.

Tablo 2.3 Acı ve tatlı kırmızı biberde istenen “Ortalama kalite” özellikleri (%) , en çok) (Akgül, 1993)

BİBER ÇEŞİDİ	TOPLAM KÜL	ASİTTE ÇÖZÜNMEYEN KÜL	HAM SELÜLOZ	SU	UÇUCU YAĞ (%V/W.ORT.)
ACI K.BİBER	8	0.1	28	7	-
TATLI K.BİBER	6	0.4	23	-	-

2.1.4 Kırmızı Biber İşleme Teknolojisi

Kırmızı pul biberin kalitesi sahip olduğu acılık, aroma ve kırmızı rengi ile ölçülür. Kaliteli pul biber elde etmek için, kırmızı biber uygun şekilde işlenmeli ve depolanmalıdır. Geleneksel olarak kırmızı biber güneş ışığında yere veya çatılara serilerek kurutulmakta idi. Ancak böcek, kuş, mikroorganizma kontaminasyonu sonucu ürün kalitesinin düşmesi nedenleriyle, zemin üzerinde kurutma yerine kırmızı biberleri iplere geçirip, asarak kurutma yöntemleri geliştirilmiştir. Daha sonraları bu metot yerini yapay kurutma sistemlerine bırakmıştır. Ancak hala Anadolu'nun birçok yöresinde bahsi geçen kurutma yöntemleri kullanılmaktadır (Charalambous, 1994).

Tüm haldeki biberde uçucu yağlar ve diğer aroma bileşikleri, bitki ve organa göre değişik özel salgı oluşumlarının içinde bulunur. Zedelenme olmadıkça, bu durumda aroma kaybı olmaksızın uzun süre depolanabilir. Ancak kırmızı biberin, tüm halde gıdalarda doğrudan kullanımı sınırlıdır. İstenen aromayı kolay ve tam verebilmeleri, gıdanın homojen tekstürüne uymaları gibi amaçlarla baharatların belli ölçülerde öğütülerek kullanılmaları gerekir. Öğütme derecesi doğrudan kullanım, ekstraksiyon, damıtma, harmanlama gibi farklı amaçlara göre değişik olabilir. Çok ince öğütmelerde bile tüm hücreler parçalanmayabilir ve kısa süreli depolamalarda (en fazla 3 hafta) baharatın aroma kaybı çok fazla olmaz. Fırıncılık ürünlerinde baharat kullanımında, yüksek sıcaklıktan etkilenme açısından, öğütülmüş baharat diğer baharat ürünlerine göre avantajlı bile olabilir (Akgül, 1993).

Baharatların öğütülmesi, tahıllardaki kadar eski bir işlemdir; ancak, materyalin çok farklı özelliklerde olması ve uçucu yağların duyarlılığı gibi bazı etkenler dolayısıyla, değişik uygulamalar gerektirir. Kırmızı biber daha çok öğütülmüş olarak pazarlanır

ve kullanılır. Baharat ne kadar ince öğütülürse, o kadar çok lezzeti hemen verir; fakat depolamada sürenin uzunluğuna bağlı olarak kayıp ta o derecede fazla olur. Öğütme sırasında oluşan yüksek sıcaklık uçucu aromaların kaybına ve oksidasyonla bozulmaya yol açtığı gibi özellikle fazla sabit yağlı materyalde akıcılığı azaltan kitleleşmeye neden olur.

Şekil, büyüklük, yapı ve bileşimce çok farklı baharat bulunduğundan öğütme, değişik ekipmanları ve ustalığı gerektirir. Öğütmede; yüksek hızlı parçalayıcılar, çekiçli öğütücüler, iğneli öğütücüler, plakalı öğütücüler, valsli öğütücüler ve bilyalı öğütücülerden düşük devirli düşey ve yatay taş değirmenlere kadar çeşitli ekipmanlar kullanılır. Öğütücünün hızlı olması ve yüksek sıcaklık ile hızlı hava akımı, uçucu aroma kaybı ve bozulmasına yol açar.

Çekiçli değirmenler, ince öğütmeye uygun değildir. Plakalı değirmenler, küçük çapta ve evlerdeki öğütmelerde kullanılır. Çok ince öğütme ve yüksek kapasite için iğneli değirmenler tercih edilir. Çok büyük yatay ve dikey taş değirmenler ile yivli çelik silindir değirmenler, daha düşük hızda çalışırlar; sıcaklık fazla artmadığından aroma kaybı azdır. Aroma ve acılığın önemli olduğu karabiber gibi çok yaygın kullanılan baharatlarda, taş değirmenler hala geçerliliğini korumaktadır. Diğer baharatlarda hammaddenin yapısına, istenen parça büyüklüğüne, ürün verimine, homojenliğine, bulaşma riskine, sabit ve uçucu yağ miktarına, maliyete, kullanım amacına göre öğütme sistemi ve ekipmanı seçilmelidir. Geleneksel öğütme sistemlerinde aroma kaybı, renk bozulması ve sabit yağların oksidasyonu gibi dezavantajların yanı sıra, pas bulaşma ihtimali vardır.

Öğütme işleminden sonra elenir. Standartlara uymayan partiler tekrar öğütülür. Öğütülmüş baharatın iriliğine göre çeşitli elekler kullanılır. Küçük miktarlarda işlenen baharatlarda el ile eleme yapılabilir.

Ulusal ve uluslar arası baharat standartlarında, her ürünün değişik kalite dereceleri ve tipleri için belli elek açıklıkları verilmiştir. TS 3706'ya göre kırmızı pul biberler 3 boya ayrılır;

- İnce boy, 2 mm yuvarlak delikli elekten geçen, 0.5 mm yuvarlak delikli elek üzerinde kalanlar,

- Orta boy, 4 mm yuvarlak delikli elekten geçen 2 mm yuvarlak delikli elek üzerinde kalanlar,
- İri boy, 6 mm yuvarlak delikli elekten geçen 4 mm yuvarlak delikli elek üstünde kalanlar'dır (TS 3706).

Öğütölmüş baharatın su içeriği, dayanıklılık ve lezzet bakımından önemlidir. Üründe küflenmeyi, küfsü tat ve koku gelişmesini önleyecek kadar düşük su olması istenir.

Kırmızı biberin öğütölmemesinin bazı avantaj ve dezavantajları aşağıda belirtilmiştir (Akgöl, 1993).

Kırmızı biberin öğütölmemesinin avantajları:

- Kullanım ve doz ayarlama kolaylaşır,
- Mevzuata uygun ambalaj ve etiketlemede problem olmaz,
- Uçucu olmayan baharat bileşikleri tam olarak mevcuttur.

Kırmızı biberin öğütölmemesinin dezavantajları:

- Lezzet, kalite ve gücünde farklılık,
- Mikrobiyal bulaşma,
- Diğer bulaşmalar ve kirlilik,
- Depolamada renk aroma kaybı ve değışmesi,
- Renk bozuklukları,
- İşleme, depolama ve taşımada tozluluk.

Kırmızı pul biberin ambalajlanması ve depolanması özen gerektirir. Ambalajlama da nem, ışık ve oksijen geçirmeyen, sıkıca kapatılmış plastik torbalar kullanılır. Miktar daha büyük ise bitkisel liften çuvallar, polyester torbalar kullanılır. Öğütölmüş baharat hiçbir zaman açıkta, dökme/yığma şeklinde depolanmamalıdır.

2.1.5 Kırmızı Biber Ürünleri ve Kullanım Alanları

Değişik tür ve çeşitten *Capsicum* 'ların kurutulup öğütülmüş meyveleri kırmızı biber adıyla baharat olarak kullanılır.

Bu kısımda söz konusu olan ise, yine şekil, büyüklük, renk, tat ve koku açısından farklı *Capsicum* meyvelerinin kurutulması, konserve, turşu ve derin dondurulmasıyla elde edilen ürünlerdir.

Kurutma, sebzelerde uygulanan teknikten farklı değildir. ABD'nin Kaliforniya eyaletinde özellikle yoğunlaşan kurutulmuş kırmızı biber üretiminde, değişik büyüklüklerde kesilmiş veya dilimlenmiş meyveler, sıcak hava verilen tünellerde kurutulur. Kurutma süresi ve sıcaklığı, varyeteden parça büyüklüğüne kadar birçok etkene bağlıdır. Kurutulmuş ürünler vakum altında, oksijen, ışık ve su geçirmeyen materyalle ambalajlanarak, serin, düşük bağıl nemli, doğrudan güneş ışığı almayan depolarda muhafaza edilir.

Konserve veya turşu olarak işlenen kırmızı biberler genellikle yuvarlak veya konik şekilli küçük meyvelerden yapılır. Renk ve acılık farklı olabilir. Asetik asit içeren salamura üründe şişe ağzının tam kapanması, mikroorganizma gelişmesini önleme açısından önemlidir.

Derin dondurulmuş parça kırmızı biberlerin üretimi ise, sebzelerde uygulanan yöntemle yapılır. Yeşil sarı ya da kırmızı renkli fakat genellikle tatlı olan meyveler işlenir.

Baharatların başlıca özellik ve etkileri: a) Tat, koku, renk, b) Antimikrobiyal etki c) Antioksidan etki, d) Fizyolojik etki. Bunlardan değişik kullanım alanlarında yararlanılabilir. Birçok ülkenin gıda mevzuatında, baharatlar ve türevlerinin çeşitli gıdalarda katkı maddesi olarak kullanım miktarları da belirlenmiştir.

Acı kırmızı biber her yıl binlerce ton tüketilen, en yaygın ve önemli baharatlardandır. Uluslararası mutfakta daha çok Meksika, İtalyan, Macar ve Hint ürünlerine özgüdür. Tatlılar dışında, hemen her türlü yemekte kullanılır; örneğin; sos, çorba, makarna, pizza, balık, sebze, turşu, yumurta, et, tavuk. Gıda sanayinde baharat veya oleorezin, başta baharat karışımları, et ve çeşni ürünlerinde, ayrıca fırıncılık ürünleri, çorbalar, soslar, turşular, alkolsüz içecekler ve çikletlerde kullanılır.

Tatlı kırmızı biber ise gıda sanayinde başlıca doğal renk katkılarındandır. Özellikle kırmızı rengin istendiği çok sayıdaki yöresel yemeklerde son derece yaygındır.

Baharatların sağlık sorunlarında kullanımı, eskiden beri dünyada ve Türkiye’de yaygın bir gelenektir. Son zamanlarda doğal ürünlerle tedavinin yeniden güncelleşmesi, bitkilere ve bu arada oldukça etkili bir grup oluşturan baharatlara ilgiyi artırmıştır. Özellikle kırmızı biberin iştah açıcı, gaz ve idrar söktürücü, deri kızartıcı, kan toplayıcı, uyarıcı, hazmettirici, kan dolaşımını hızlandırıcı özellikleri ve romatizma ve soğuk algınlığına iyi gelmesinden dolayı yararları oldukça fazladır (Akgül, 1993; Robert, 1994).

2.1.6 Türkiye’de Kırmızı Pul Biber Üretimi

Türkiye’nin sahip olduğu elverişli ve doğal bitki örtüsü, iklimsel ve ekolojik koşullar neticesinde kırmızı biber tarımı dünyanın birçok yerinde olduğu gibi ülkemizde de yapılabilmektedir. Ülkemizde yılda 12.000 ton kırmızı biber üretilmekte ve dünyada kırmızı biber üretiminde Türkiye üçüncü sırada yer almaktadır (Anon, 1998; Yıldırım ve diğ. 1997).

Gelişen modern işleme tesisleri Türkiye’nin, dünya pazarına her geçen gün daha kaliteli ve temiz ürün sunmasına imkan vermektedir.

Ülkemizde başta Güneydoğu, Akdeniz, Marmara bölgeleri olmak üzere, geniş çapta kırmızı biber tarımı yapılmaktadır. Acı kırmızı biber ise çok sayıda tür ve varyetede olmak üzere Güney ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yetiştirilmektedir (Akgül, 1993). Devlet İstatistik Enstitüsü verilerine göre ülkemizde kırmızı biber üretiminin yaklaşık % 80’i Gaziantep ve Kahramanmaraş illerinde yapılmaktadır (Anon, 1992).

Bursa ve Sakarya-Gebze’de üretilen kurutmalık kırmızı biberler ise; koyu kırmızı renkli, kuru maddesi yüksek, tadı hafif acı, kurutmaya elverişli olup, bu yörede yılda yaklaşık olarak ülkemiz biber üretiminin % 25’i yapılmaktadır. Ancak Bursa ve Sakarya yöresinde biber yapısının ve kurutma şeklinin farklı olmasından dolayı pul biber üretimi yapılamayıp, toz biber üretilmektedir. Bu bölgedeki bazı köylerin en belli başlı geçim kaynağı da toz biber ciliktir (Ateş ve diğ. 1992).

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde az sayıda modern tesis bulunmakta. kırmızı biber üretimi genellikle ilkel koşullarda yapılmaktadır. Üretici tarafından tarladan toplanan kırmızı biberler, toprak üzerinde kurutulmakta, daha sonra fabrikalara satılmaktadır. Bu ilkel koşullar düşünüldüğünde kırmızı biberlerin toprak kökenli toksijenik küf kontaminasyonuna ve toksin oluşumuna oldukça açık bir ürün olduğu görülmektedir (Taydaş ve Aşkın, 1995). Tablo 2.3 'de Türkiye'nin kırmızı biber ihracatı gösterilmiştir.

Tablo 2.4 Türkiye'nin yıllara göre kırmızı biber ihracatı (Anon, 1998)

YILLAR	MİKTAR(TON)	GELİR(DOLAR/YIL)
1992	3500	3.323.000
1994	2522	2.299.000
1995	1174	1.292.000
1996	527	1.197.000

Tablo 2.4'ün incelenmesi ile görüldüğü gibi ihraç edilen kırmızı biber miktarı son yıllarda azalma göstermektedir. Yukarıda görülen miktarlarda kırmızı biber ihraç edilirken, geri kalan kısmı ise yurt içinde tüketilmektedir (Anon, 1998). Kırmızı biber ihracı Malezya, Meksika, Almanya, Hollanda, Amerika ve Fransa'ya yapılmaktadır.

Türkiye'nin ihraç ettiği kırmızı biberlerin önemli bir kısmının tatlı olduğu sanılmaktadır. Taze meyvelerden biber salçası yapılmakta, baharatı toz ve pul şeklinde satılmaktadır. Çok yaygın kullanılmakla birlikte, miktar ve katıldığı gıdalar bölge, yöre ve hatta insana göre değişiktir.

Mutfakta et, sebze, baharat karışımı, çorba, sos, çeşitli yöresel yemeklerde ve çemen hazırlanmasında, gıda sanayinde et ve çeşni ürünleri ile çorbalarda kullanılmaktadır.

2.2 KIRMIZI BİBERLERDE MİKOFLORA VE AFLATOKSİN OLUŞUMU

2.2.1 Kırmızı Biberin Mikoflorası

Baharatlar, diğer çoğu tarımsal ürün gibi, çeşitli cins ve türden bakteri, küf ve mayalarla bulaşmış olarak bulunabilirler. Baharatların çoğunlukla sıcak iklimlerde ve az gelişmiş ülkelerde üretilmesi, hasat sonrası işlemlerde teknolojik yetersizlik ve bilgi eksikliği, mikrobiyal bulaşmayı artırmaktadır. Mikroorganizmalar bitki, toprak, böcek, kuş, kemirici ve insanlardan, organik ve inorganik artıklardan, taşıyıcı maddelerinden, alet ve ekipmanlardan ve ambalaj materyalinden kaynaklanabilirler. Öğütme, mikrobiyal yükü artırmaktadır.

Baharatlarda mikrobiyal yük, baharat çeşidi, işleme yöntemi, öğütme iriliği, ambalaj, sıcaklık, nem içeriği gibi bir çok etkene bağlı olarak değişebilir. Genel olarak, baharatlarda rastlanan mikroorganizma miktarı $10^3 - 10^6$ / g arasındadır. Gıda ürününe %1 katılan baharat, yaklaşık $10^3 - 10^6$ / g mikroorganizma bulaşmasına yol açar. Özellikle taze tüketilen gıdalarda bu durum insan sağlığı için tehlikelidir.

Yapılan araştırmalarda baharatlarda ısıya dayanıklı bakteri ve toksin üreten küflerin önemli miktarlarda bulunabildiği tespit edilmiştir (Akgül, 1993). Çok sayıda bulunan aerob mezofil bakteri sporlar, mezofil anaeroplara ve düz ekşime yapan termofillerle bulaşık baharatlar, katıldıkları gıdalarda bozulmaya yol açarlar.

Çeşitli araştırmacılar tarafından kırmızı biberlerde saptanan bakteriler ve sayıları Tablo 2.5 'de verilmiştir.

Tablo 2.5 Kırmızı biberlerde bakteri florası

ÜLKE/ŞEHİR ADI	TESPİT EDİLEN BAKTERİLER	TOPLAM BAKTERİ SAYISI	REFERANSLAR
Hindistan	<i>Escherichia coli</i> <i>Bacillus cereus</i>	7.8×10^4 cfu/g	Sharma ve diğ.(1989)
Nijerya	<i>Bacillus</i> spp. <i>B.cereus</i> <i>B.polymyxa</i> <i>B.subtilis</i> <i>B.coagulans</i>	1.8×10^4 - 1.1×10^8 / g	Antai (1988)
Hindistan	<i>E.coli</i> <i>B.cereus</i>	2×10^6 - 2×10^8 cfu/g	Bhat ve diğ. (1987)
Hindistan	<i>Bacillus</i> spp. <i>B.megaterium</i> <i>Lactobacillus</i>	4.4×10^6 / g	Munasiri ve diğ. (1987)
Avustralya	<i>E.coli</i> Koliform <i>B.cereus</i>	-	Pafumi (1986)
Hollanda		$> 10^7$ cfu/g	De Boer ve diğ. (1985)
Hindistan		1.4×10^7 cfu/g	Sharma ve diğ.(1984)
Güney Afrika	<i>B.cereus</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Enterococci</i>	$> 10^6$ cfu/g	Baxter ve diğ. (1982)
Yugoslavya	Anaerobik bakteri Sporları	-	Pospisil ve diğ. (1981)
Hindistan	<i>Bacillus</i> spp. <i>B.cereus</i> <i>B.polymyxa</i> <i>B.coagulans</i> <i>B.subtilis</i>	-	Seenappa ve diğ.(1981)
U.S.A	Koliform	9.1×10^6 /g	Powers ve diğ. (1975)
U.S.A		5.5-30milyon/g	Julseth ve Deibel (1974)
İspanya			
U.S.A			Christensen ve diğ. (1967)
Hindistan		-	
U.S.A.	<i>C.perfringens</i>	-	Strong ve diğ. (1963)
		1×10^3 /g	Lerke ve Farber (1960)
U.S.A	2.4×10^4 / g sporlu bakteri	-	Hall (1951)
U.S.A		9.0×10^6 /g	Proctor ve diğ. (1950)
Portekiz	1×10^6 g / sporlu anaerobik bakteri	-	Castell (1944)

- : saptanmamıştır.

Tablo 2.5’de görüldüğü gibi baharatların bakteri florasında çoğunlukla *Bacillus* gibi spor oluşturan aerob bakteriler, daha az sıklıkla koliform ve *Streptococcus* cinsi bakteriler bulunmuş, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* ve mayalara da rastlanmıştır. *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus*

aureus, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. ve mikotoksin üreten küfler gibi patojen ve sağlığa zararlı mikroorganizmaların varlığı da baharatlarda belirlenmiştir.

Yoo ve diğ. (1983) kırsal bölge ve marketlerden almış oldukları kırmızı biberlerde mikoflora çalışması yapmışlardır. Çalışmanın sonunda aerobik mezofilik bakterilerin $1 \times 10^5 - 1.2 \times 10^8$ / g, toplam koliformların $2.3-9.3 \times 10^4$ mpn/g, fekal koliformların 2.3×10^3 mpn/g'dan az olduğunu saptamışlardır. Ayrıca aynı çalışmada Enterobacteriaceae sayısının $2 \times 10^5 - 3.2 \times 10^5$ cfu/g ve fekal *Streptococcus* sayısının $1.3 \times 10^3 - 3 \times 10^6$ cfu/g arasında olduğunu tespit etmişlerdir.

Baharatlarda küf sayısı, genellikle 10^3 /g kadar bulunur, bazen 10^6 'ya kadar çıkabilirler. En yaygınları *Aspergillus* türleridir (Akgül, 1993; Garrido ve diğ. 1992; Flannigan ve Hui, 1976; Martinez ve diğ. 1989; Mckee, 1995). Daha sonra *Penicillium*'lar gelir. Mikotoksin miktarı genellikle düşük olmakla birlikte, toksin üreten küflere sık rastlanır. Çeşitli araştırmacılar tarafından kırmızı biberlerde saptanan küfler ve sayıları Tablo 2.6 'da verilmiştir. Flannigan ve Hui (1976) çeşitli baharatlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada toplam bakteri ve toplam küf sayılarını sırasıyla 2.2×10^6 bakteri/g, 3.9×10^4 küf/g tespit etmişlerdir. Kırmızı biberde gelişme gösteren hakim küfün *Aspergillus* olduğunu özellikle; *A.glaucus*, *A.flavus*, *A.nidulans*, *A.niger* ve *A.versicolor* türlerini saptamışlardır. Ayrıca *Mucor pusillus*, *Penicillium* spp. ve *Rhizopus* spp. küflerinin de mikoflora içerisinde olduğunu tespit etmişlerdir.

Tablo 2.6 Kırmızı biberlerde küf florası

ÜLKE/ŞEHİR ADI	KÜF ADI	TOPLAM KÜF SAYISI	REFERANSLAR
Hindistan	<i>A.flavus</i> <i>A.oryzae</i>	-	Marashetty (1981)
Hindistan	<i>A.flavus</i> <i>A.conjunctus</i> <i>A.niger</i> <i>A.frequentans</i>	-	Pal veKundu(1972)
U.S.A.	<i>A.glaucus</i> <i>A.candidus</i> <i>A.flavus</i> <i>A.ochraceus</i> <i>A.niger</i> <i>Penicillium</i> spp. <i>Rhizopus</i> spp.	$1.6 \times 10^3 - 1.7 \times 10^5$ /g	Christensen ve diğ. (1967)

- : saptanmamıştır.

Meneses ve diğ. (1990) kırmızı biberlerde küf mikoflorası ve *Aspergillus* türlerinin tespiti için bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonunda 50 örneğin %40'ında *Cladosporium*, %26'ında *Candida*, %18'inde *Penicillium*, %18'inde *Acremonium*, %18'inde *Fusarium* ve %12'inde *Aspergillus*'a rastlamışlardır. *Aspergillus* türlerinden ise *A.flavus*, *A.niger* ve *A.fumigatus* 'u tespit etmişlerdir.

2.2.2 Aflatoksin Tanımı ve Özellikleri

Mikroorganizmalar, tarımsal ürünlerin ve çeşitli gıda maddelerinin florasında yer alabilmekte veya sonradan değişik şekillerde bu ürünlere bulaşabilmektedir. Bu organizmaların içinde küfler önemli bir grubu oluşturmaktadır. Küfler endüstride vitamin, enzim, antibiyotik, alkol, organik asit gibi birçok organik maddenin üretiminde önemli rol oynamaktadırlar. Ancak, gelişmeleri için uygun koşullar altında gıdalarda ve tarım ürünlerinde istenmeyen değişikliklere ve bozulmalara da neden olabilmektedirler. Ayrıca geliştikleri ürünlerde çeşitli toksik metabolitler üreterek, insan ve hayvanlarda hastalık tablolarına yol açabilmektedirler. Küfler tarafından oluşturulan bu toksik metabolitlere “mikotoksin” insan ve hayvanlarda oluşturdukları hastalık tablolarına da “mikotoksikozis” adı verilmektedir (Krogh, 1987).

Mikotoksinlerle ilgili çalışmalar 1960'larda aflatoksinlerin bulunuşundan sonra başlamış olup, doğada en yaygın olarak bulunan *Aspergillus flavus* Link ex Fries ve *Aspergillus parasiticus* speare küflerinin metabolitleridir (Krogh, 1987). Ancak son yıllarda yapılan araştırmalarda *A.flavus*'a benzer özellik gösteren *A.nomius*'un da aflatoksin ürettiği belirtilmektedir (Moss, 1996).

Aflatoksinler; *A. flavus*, *A. parasiticus* ve *A. nomius* küfleri tarafından üretilen, bifuran halkası ve lakton bağı içeren kumarin bileşiklerdir. Dünyada ilk olarak aflatoksinin adının duyulması, 1960 yılında İngiltere'de 100.000'i aşkın hindi ve ördek yavrusunun ölümüyle ortaya çıkmıştır. Halen 18 değişik aflatoksin tipi tanımlanmış olup, B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂ en yaygın olanlarıdır. Aflatoksinler arasında ise aflatoksin B₁ en yüksek toksik özelliğe sahiptir (Garner ve diğ. 1993). Aflatoksinler, sahip oldukları toksik, kanserojen ve mutajenik olma özelliklerine göre B₁>G₁>B₂>G₂ şeklinde sıralandırılır (Moss, 1996).

Aflatoksinler akut aflatoksikozis, karaciğer kanseri, mutajenite, teratojenite, serum proteinlerinin azalması, bazı serum enzimlerinin artması ve gastrointestinal kanalda kanamalar şeklinde kendini göstermektedir. Aflatoksinin akut toksik etkilerine karşı genç hayvanların yaşlılardan daha hassas, dişilerin ise erkeklerden daha dirençli olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Aflatoksinlerin hücre aktivitesine çok yönlü etkileri vardır. DNA'ya tutunarak, RNA sentezini önlerler. Hayvanların immün sistemine etki ederek hastalıklara karşı dirençsiz hale getirirler. Hayvan deneylerini ve epidemiyolojik çalışma sonuçlarını değerlendiren Uluslararası Kanser Araştırma Örgütü (IARC), aflatoksini insan kanserojeni olarak kabul etmiştir.

Aflatoksinlere tahıllar, yağlı tohumlar, kuru ve sert kabuklu meyveler, baharatlar ve ayrıca aflatoksinli yem tüketen hayvanların et, süt ve yumurtalarında rastlanmaktadır. Aflatoksinler insan sağlığı için tehlike oluşturduklarından çok sayıda araştırmalara konu olmakta ve ürünlerde bulunabilecek en yüksek miktarlar yasa ve tüzüklerle sınırlandırılmaktadır (Yıldırım ve diğ. 1997). Günümüzde Avrupa Topluluğu ülkelerinde ticarete konu olan gıda ürünlerinde bulunmasına izin verilen B₁ üst sınırı 5 ppb, süt sığırlarının yeminde 10 ppb, sütte 0.5 ppb M₁, diğer hayvan yemlerinde ise 200 ppb'dir (FAO, 1990).

Ülkemizde de son yıllarda tarım ürünleri için bazı yasal düzenlemeler yapılmış ve belirli gıda maddelerinin standartlarına, izin verilen en yüksek aflatoksin B₁ üst sınırı 5 ppb ve toplam aflatoksin üst sınırı 10 ppb olarak yerleştirilmiştir (TGKY, 1997). Böylesine eser miktarlarda olan kontaminasyon seviyelerinin tespiti, çok duyarlı ve kesin sonuçlar veren metotların geliştirilmesini zorunlu kılmıştır.

2.2.3 Kırmızı Pul Biberlerde Aflatoksin Oluşumu

Bazı baharatların antifungal özellikleri olup, mikotoksin oluşumuna engel oldukları bilinmektedir. Aflatoksin kontaminasyonu için yüksek riskli baharatları belirlemek amacıyla substrat potansiyeli ve inhibitör etkilerini araştıran bir çalışmada, karabiberin fungal gelişme ve aflatoksin üretimi açısından fakir bir substrat olduğu, oysa kırmızı biber ve zencefilin aflatoksin üretimi için olduğu kadar küf gelişmesi için de iyi birer substrat oldukları sonucuna varılmıştır (Madhyastha ve Bhat, 1985). Diğer bir çalışmada da 56 farklı karabiber örneğinde hiç aflatoksine

rastlanmamışken, kırmızı biberlerin % 20'sinde aflatoksin B₁ bulunmuştur (Tabata ve diğ. 1993).

Kırmızı biberler aflatoksin oluşumuna en elverişli biberlerdir. Taguchi ve diğ. (1995) Osaka çevresinden topladıkları çeşitli gıdalar üzerinde yaptıkları aflatoksin tespitinde 195 örnekten 187'sinde aflatoksine rastlamışlardır. Ayrıca kırmızı biberde yaptıkları taramada 2 örnekten 1'inde aflatoksin tespit etmişlerdir.

Sıcaklık ürünü çevreleyen havanın bağıl nemi (RH), ürünün su aktivitesi (a_w) ve atmosferik gazlar gibi çevre şartları, gıdalarda küf gelişmesi ve aflatoksin oluşumunda etkilidir. Küf gelişmesi ve mikotoksin oluşumu için optimum sıcaklık 25-30°C, bağıl nem ise % 88-95 arasındadır. *Aspergillus flavus*'un aflatoksin oluşturabilmesi için optimum koşulların 33°C, pH 5 ve a_w 0.99 olması gerekmektedir (Ray, 1996).

Japon araştırmacılar Ito ve diğ. (1994) ve Tabata ve diğ. (1993) yaptıkları çalışmalarda kırmızı biberde aflatoksin oluştuğunu saptamışlardır. Garner ve diğ. (1993)'nin HPLC kullanarak yaptıkları analizlerde bir çok baharat çeşidinin özellikle kırmızı biberin 20 ppb ve üzerinde aflatoksin içerdiği tespit edilmiştir. Bu miktarın 19.8 ppb'si B₁, 0.9 ppb'si ise B₂ tarafından oluştuğu görülmüştür.

Taydaş ve Aşkın (1995)'nin taze, kuru, toz ve pul kırmızı pul biber örneklerinde yapmış oldukları aflatoksin analizlerinde kırmızı pul biber için aflatoksin bulunma oranının %100 olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmalarında kullandıkları 30 adet kırmızı pul biber örneğinde min 1.25 ppb, max 15.99 ppb, ort 4.006 ppb miktarında aflatoksin bulmuşlardır. Kırmızı pul biberde *Aspergillus flavus* bulaşma oranının %83,33 olması aflatoksin bulunma oranı arasında bir paralellik olduğunu göstermektedir. Ayrıca 25 adet kırmızı pul biber örneğinden izole edilen *Aspergillus flavus* küflerinin 19 adedinin aflatoksin ürettiği, izolatların çoğunun B₁, bir kısmının da B₁ ve B₂ ürettiği gözlenmiştir. Biber örneklerinde yapılan analiz sonucunda. çoğunlukla aflatoksin B₁ ve çok az sayıda da B₂ varlığı belirlenmiştir. Suşların toksin üretimi ile örneklerde belirlenen aflatoksin oluşumu arasında bir paralellik olduğu görülmüştür.

Genel olarak, yapılan çalışmalar sonucunda aflatoksinin baharatlarda bulunma oranının oldukça az olduğu görülmüştür. Ancak özellikle *Aspergillus flavus*'un

birçok baharat çeşidinde gelişme gösterdiği ve önemli miktarda aflatoksin oluşturma özelliğinin olduğu da göz ardı edilmemelidir. Flannigan ve Hui (1976)'nin yapmış olduğu bir araştırmada kırmızı biber örneklerinde, *Aspergillus flavus*'un 40 ppb aflatoksin B₁ oluşturduğu tespit edilmiştir.

Kırmızı toz biberlerdeki aflatoksin problemi biberlerin kızardıklarında toplanmaları ve kısa sürede modern kurutma sistemlerinde kurutulmasıyla önlenabilir. Yapılan bir çalışmada, *C. annuum* ve *C. frutescens* türüne ait bütün olarak kurutulmuş kırmızı biber örneklerinin yüzeyinde zedelenme ve küf gelişmesi gözlenmediği halde iç kısımlarında yüksek oranda *A. flavus* bulunmuştur. Taydaş (1993) tarafından yapılan bir çalışmada da, parçalanmadan kurutulan biberlerin dış yüzeyinde küf görülmediği halde, iç kısımlarında *A. flavus* saptanmıştır. Taydaş bu çalışmada 31 Kahramanmaraş ve Gaziantep kırmızı toz biber örneğinin 28'inde aflatoksin B₁ bulmuştur. Çalışmanın sonunda Gaziantep ve Kahramanmaraş biberlerinde aflatoksin B₁ bulunma oranının Bursa acı biberlerine göre oldukça fazla olduğu saptanmıştır. Bunun sebebini de; parçalanmadan bir bütün olarak kurutulmaya bırakılan Gaziantep ve Kahramanmaraş biberlerinin içinde bulunan nemin küf gelişimi için uygun bir ortam sağlamasına bağlamışlardır. Bu biberler Bursa biberinde olduğu gibi parçalanarak kurutulursa aflatoksin miktarında azalma olabilir (Yıldırım ve diğ. 1997).

Geleneksel olarak, aflatoksin analizleri genellikle kloroformun kullanıldığı çözgen ekstraksiyonu ile yapılır. Bunu öncelikli olarak ince tabaka veya HPLC silika jel kromatografisi kullanılan örnek temizleme işleme izler. Son günlerde daha hızlı ve güvenilir sonuçlar veren immunoaffinity metodları uygulanmaya başlamıştır. Bu yaklaşımda örnek çözgen karışımının temizliğinde anti-aflatoksin antiserumu içeren kolonlar kullanılmaktadır. Uygulanan teknik, çeşitli gıda matrislerinin 1 tek adımda analize hazır olmalarını sağlamada kolaylık getirmiştir (Garner ve diğ. 1993).

BÖLÜM 3

MATERYAL - METOT

3.1 MATERYAL

Bu araştırmada 8 adet Antep, 6 adet Adana, 8 adet Maraş, 6 adedi İşot (yağda kavrulmuş) olmak üzere 14 adet Urfa; toplam 36 adet kırmızı pul biber örneği materyal olarak kullanılmıştır. Örneklerin büyük çoğunluğu yetiştirildiği illerden temin edilmiştir. Numune miktarı 250 g olup kırmızı pul biberler analize alınıncaya kadar kuru ve serin ortamda, orijinal ambalajında muhafaza edilmiştir.

3.2 METOT

3.2.1 Kimyasal Analizler

3.2.2 Mikrobiyolojik Analizler

3.2.2.1 Direkt Örneklerde Toplam Küf Sayımı ve *A.flavus* Tespiti

Toplam küf sayımı, dilüsyon tekniği ile tespit edilmiştir. Bu yöntemde; 1 adet içinde 90 ml fizyolojik tuz çözeltisi bulunan erlene, 3 adet içinde 9 ml fizyolojik tuz çözeltisi bulunan tüplere ve 4 adet paralel ekim için toplam 8 adet Dichloran Rose Bengal Chloramphenical agar (DRBC) katı besiyeri içeren petri kaplarına gereksinim vardır. 10 g örnek 90 ml fizyolojik tuz çözeltisi içeren erlene steril spatül ile tartılmıştır. Örnekler stomacher aletinde homojenize edildikten sonra, hazırlanan 10^{-1} dilüsyonundan, steril pipetler ile 9 ml fizyolojik tuz çözeltisi içeren steril tüplere 1'er ml çözelti eklenerek 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dilüsyonları oluşturulmuştur. (Her dilüsyon için farklı pipet kullanılmıştır). Bu dilüsyonlardan yayma plak yöntemi kullanarak, DRBC besiyerine, bek alevinin yanında steril pipet ile ekim yapılmıştır. Ekim yapıldıktan sonra steril drigalski çubuğu ile çözelti DRBC besiyerine iyice yayılmıştır. Paralel hazırlanan toplam 8 adet DRBC besiyeri 25°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu DRBC besiyerinde üreyen küfler sayılarak, cfu/g olarak kaydedilmiştir. Şekil 3.1'de dilüsyon yöntemi gösterilmiştir. *Aspergillus flavus* tespiti, DRBC besiyerinde oluşan tipik sarımsı yeşil, yuvarlak koloniler sayılarak yapılmıştır. Analizde kullanılan fizyolojik tuz ve DRBC besiyeri içerikleri aşağıda verilmiştir (Pitt ve Hocking, 1985):

Fizyolojik Tuz:

NaCl	8.5 g
Saf Su	1000 ml

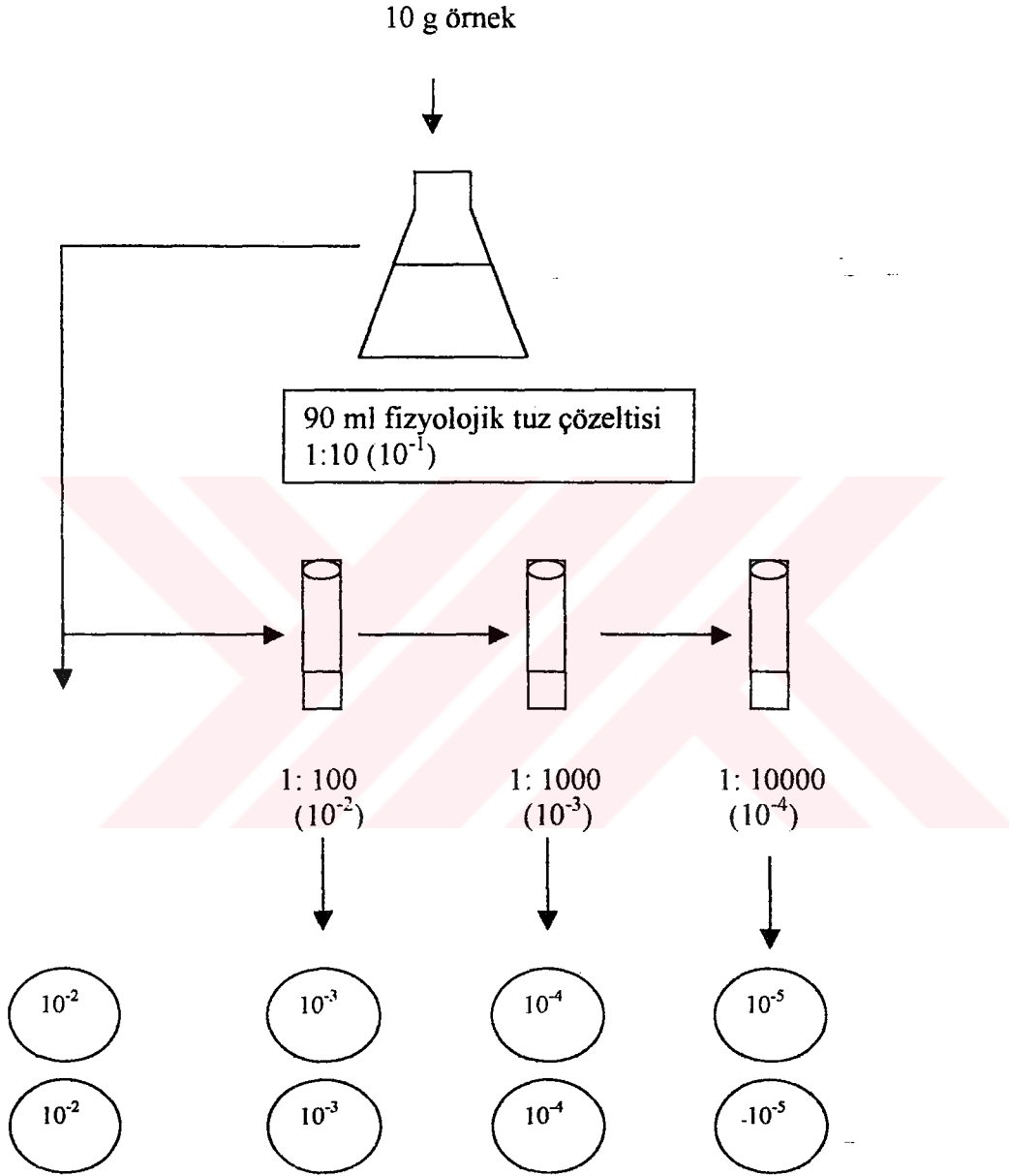
Çözelti hazırlandıktan sonra 121°C'de 15 dak otolavda sterilize edilmiştir.

Dichloran Rose Bengal (chlörromphenical) Agar (DRBC):

Glukoz	10 g
Pepton	5 g
KH ₂ PO ₄	1 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
Rose Bengal (%5 solüsyon)	0.5 ml
Dichloran (%0.2 etanol)	1 ml

Chloromphenical	0.1 g
Agar	15 g
Saf Su	1000 ml

pH: 5.6 'ya ayarlanarak 121°C'de 15 dak otoklav edilmiş ve petri kaplarına dökülmüştür.



Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC)

Şekil 3.1 Dilüsyon Tekniği ile Toplam Küf Sayımı

3.2.2.2 Örneklerde Mikoflora Tespiti

DRBC besiyerinde üreyen küfler, tanımlanmak üzere Malt Ekstrakt Agar (MEA) besiyerine steril öze ile sürme ekimi yapılarak 25°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda üreme gösteren *Aspergillus* spp. türlerinin teşhisinde Pitt ve Hocking (1985) 'den yararlanılmıştır. Tespit edilen türler yatık MEA'a steril öze ile alınarak buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Üreme gösteren *Penicillium* spp. türlerinin tespiti için Czapek Yeast Ekstrakt Agar (CYA), %25 Gliserol Nitrat Agar (G25N) ve MEA besiyerlerine steril öze ile 3 nokta tekniği kullanılarak ekim yapılmıştır. CYA besiyerinde 5°C, 25°C ve 35°C'de, G25N besiyerinde 25°C'de ve MEA besiyerinde 25°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda üreyen koloniler makroskopik ve mikroskopik olarak incelenerek, teşhiste Pitt ve Hocking (1985)'den yararlanılmıştır.

Üreme gösteren *Eurotium* spp. türlerinin tespiti için % 20 şekerli MEA besiyerine steril öze ile sürme ekim yapılarak, 25°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır (Samson ve diğ. 1981). İnkübasyon sonunda üreyen *Eurotium*'ların conidia ve ascosporları mikroskopik olarak incelenerek, teşhiste Pitt ve Hocking (1985)'in anahtarlarından yararlanılmıştır. MEA, CYA, G25N ve % 20 şekerli MEA besiyerlerinin içerikleri aşağıda verilmiştir (Pitt ve Hocking, 1985):

Malt Ekstrakt Agar (MEA):

Malt Ekstrakt	20 g
Pepton	1 g
Glukoz	20 g
Agar	15 g
Saf Su	1000 ml

pH: 4.6-5.0'ya ayarlanarak 121°C'de 15 dak otoklavda sterilize edildikten sonra, petri kaplarına dökülmüştür.

Czapek Konsantresi:

NaNO ₃	30 g
KCL	5 g
MgSO ₄ . 7 H ₂ O	5 g
FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0.1 g
Saf Su	100 ml

Czapek Yeast Ekstrakt Agar (CYA):

K ₂ HPO ₄	10 g
Czapek Concentrate	10 ml
Yeast Eksrakt	5 g
Sukroz	30 g
Agar	15 g
Saf Su	1000 ml

121°C’de 15 dak otoklavda sterilize edildikten sonra, petri kaplarına dökülmüştür.

%25 Gliserol Nitrat Agar (G25N):

K ₂ HPO ₄	0.75 g
Czapek Concentrate	7.5 ml
Yeast Eksrakt	3.7 g
Gliserol	250 g
Agar	12 g
Saf Su	750 ml

121°C’de 15 dak otoklavda sterilize edildikten sonra, petri kaplarına dökülür.

% 20 şekerli Malt Ekstrakt Agar (Samson ve diğ. 1981):

Malt Ekstrakt	20 g
Pepton	1 g
Glukoz	20 g
Sakkaroz	20 g
Agar	15 g
Saf Su	1000 ml

pH: 4.6-5.0’ya ayarlanarak 121°C’de 15 dak otoklavda sterilize edildikten sonra, petri kaplarına dökülür.

3.2.2.3 % 75, % 85 ve % 100 Bağıl Nem Ortamlarının Hazırlanması ve Örneklerde Toplam Küf Sayımı ve *A.flavus* Tespiti

Kırmızı pul biber örneklerinde, değişik bağıl nem ortamlarında küf gelişimini incelemek üzere % 75, % 85 ve % 100 bağıl nemli 3 değişik ortam hazırlanmıştır. % 75 bağıl nemli ortam NaCl ile, % 85 bağıl nemli ortam KCl ile ve % 100 bağıl nemli ortam saf su kullanılarak hazırlanmıştır (Sipahioğlu, 1998). Çözeltiler hazırlandıktan sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilize edilerek, steril mezür ile 200 ml steril cam kavanozlara, konulmuştur. Bek alevi yanında içinde çözelti bulunan kavanozlara, 30 gr örnek steril aliminyum folyo içerisinde sıvıya temas etmeyecek şekilde ayaklar üzerinde yerleştirilmiştir. Cam kavanoz sıkıca kapatılarak 25°C'de 15 gün depolanmıştır. Bu süre sonunda örneklerle 3.2.1.1 bölümündeki pH tayini, 3.2.2 bölümündeki mikrobiyolojik analizler uygulanarak toplam küf sayımı ve mikoflora tespit edilmiştir. *Aspergillus flavus* tespiti, DRBC besiyerinde oluşan tipik sarımsı yeşil, yuvarlak koloniler sayılarak yapılmıştır (Pitt ve Hocking, 1985).

3.2.3 Direkt Örneklerde HPLC ile Aflatoksin Analizi

Direkt örneklerde Aflatoksin analizi, kırmızı pul biber için özel geliştirilmiş Afla Test kolonları kullanılarak Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemi uygulanarak saptanmıştır (Garner ve diğ. 1993).

3.2.3.1 Örnek Hazırlama

Blender kabı içerisine 25 g örnek, 5 g tuz (NaCl) tartılarak, 100 ml metanol:su (80:20) karışımı eklenmiştir. Bu karışım; blender kabının kapağı kapatılarak 1 dakika yüksek hızda karıştırılmıştır. Çözelti filtre kağıdından süzölmüş ve filtrat, temiz bir erleninde saklanmıştır.

3.2.3.2 Ekstraktın Seyreltilmesi

Hazırlanan filtrattan temiz bir pipet yardımıyla 10 ml ölçülerek, erlene alınmıştır. Üzerine 40 ml saf su eklenerek seyreltilmiş ve iyice karıştırılmıştır. Bu karışım, filtre kağıdı ile süzöldükten sonra elde edilen filtrat temiz bir erlene alınmıştır.

3.2.3.3 Kolon Kromatografisi

Elde edilen filtrattan steril plastik şırınga yardımıyla 4 ml alınarak, 1-2 damla/saniye hızda kolondan hava çıkana kadar Afla Test-P kolondan geçirilmiştir. Daha sonra kolondan 10 ml metanol:su (20:80) karışımı yaklaşık 2 damla/saniye ile geçirilmiş ve bu işlem iki defa tekrarlanmıştır. 1-2 damla/saniye hızda, 1 ml HPLC için özel metanol kolondan geçirilerek kolon temizlenmiş, bu işlem sonrası kolondan çıkan 1 ml örnek cam erlende muhafaza edilmiştir. Hazırlanan 1 ml örneğe 1 ml saf su eklenmiş ve HPLC'ye 20-100 µL enjeksiyon yapılmıştır. HPLC'de kullanılan mobil faz %5 Asetonitril ve %95 Metanol:su karışımı (45:55) hazırlanarak elde edilmiştir. Akış hızı 1 ml/dakika , Floresans dedektörün emisyon gücü ise 453 nm olarak seçilmiştir.

BÖLÜM 4

BULGULAR – TARTIŞMA

4.1 Direkt ve Farklı Bağıl Nem Koşullarında Depolanan Örneklerdeki pH Değerleri

pH'nın kırmızı pul biber örneklerinde mikoflora gelişimi ve aflatoksin oluşumuna etkisini araştırmak amacıyla yapılan pH analiz sonuçları yöre bazında olmak üzere Tablo 4.1, 4.2, 4.3, 4.4'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1 Adana yöresi pH analiz sonuçları

SIRA NO	DİREKT EKİM	%75 BAĞIL NEM	%85 BAĞIL NEM	%100 BAĞIL NEM
1	4	4	4	4
2	5	5	5	4
3	5	5	5	4
4	5	5	5	4
5	5	4	5	4
6	5	5	5	4

Tablo 4.2 Antep yöresi pH analiz sonuçları

SIRA NO	DİREKT EKİM	%75 BAĞIL NEM	%85 BAĞIL NEM	%100 BAĞIL NEM
7	4	4	4	4
8	5	5	5	5
9	5	5	5	5
10	5	5	5	5
11	5	5	5	5
12	6	6	6	6
13	6	6	6	6
14	6	6	6	6

Tablo 4.3 Maraş yöresi pH analiz sonuçları

SIRA NO	DİREKT EKİM	%75 BAĞIL NEM	%85 BAĞIL NEM	%100 BAĞIL NEM
15	4	4	4	4
16	5	5	5	5
17	5	5	5	4
18	5	5	5	5
19	5	5	5	4
20	5	5	5	4
21	6	6	6	6
22	6	6	6	6

Tablo 4.4 Urfa yöresi pH analiz sonuçları

SIRA NO	DİREKT EKİM	%75 BAĞIL NEM	%85 BAĞIL NEM	%100 BAĞIL NEM
23	4	4	4	4
24	4	4	4	4
25	5	5	5	5
26	5	5	5	5
27	4	4	4	5
28	4	4	4	4
29	6	6	6	6
30	6	6	6	6
31*	6	6	6	6
32 *	6	6	6	6
33 *	6	6	6	6
34 *	6	6	6	6
35 *	6	6	6	6
36 *	6	6	6	6

(*) İso

Tablo 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4’de görüleceği üzere direkt ekilen örneklerde pH’nın 4-6 arasında olduğu , % 75, % 85 ve % 100 bağıl nem ortamlarında depolanan örneklerde de pH’nın 4-6 arasında değiştiği saptanmıştır. Direkt ekim, % 75, % 85 ve % 100 ortamlarında ortalama pH dağılımı ise; Adana yöresi için sırasıyla 5, 5, 5 ve 4; Antep yöresi için sırasıyla 5, 5, 5 ve 5; Maraş yöresi için sırasıyla 5, 5, 5 ve 5, Urfa yöresi için sırasıyla 5, 5, 5 ve 5 olduğu tespit edilmiştir. İso’nun pH dağılımı ise tüm bağıl nem ortamlarında 6 olarak bulunmuştur.

Örneklerdeki pH dağılım ortalaması direkt ekim, % 75, % 85 ve % 100 bağıl nem ortamları için hepsinde 5 olarak hesaplanmıştır. *Aspergillus flavus*’un aflatoxin oluşturması için optimum pH derecesinin 5 olduğu göz önüne alındığında, bu bilgiye

paralel olarak kırmızı biber örneklerinin aflatoksin oluşumu için uygun pH değerine sahip olduğu söylenebilir.

4.2 Direkt ve Farklı Bağlı Nem Koşullarında Depolanan Örneklerde Toplam Küf Sayısı

Direkt ekim ve farklı bağlı nem ortamlarında 15 gün depolanan örneklerde toplam küf sayısı ise Tablo 4.5’de gösterilmiştir. Buna göre toplam küf sayısı direkt ekim, % 75, % 85 ve % 100 bağlı nem koşullarında sırasıyla, 2×10^2 - 3×10^5 cfu/g, 1×10^2 - 1×10^5 cfu/g, 2×10^2 - 3×10^7 cfu/g ve 1×10^2 - 7×10^7 cfu/g arasında bulunmuştur. Örneklerde bulunan toplam küf sayısı ortalamaları ise direkt ekim için 3×10^4 cfu/g, % 75 bağlı nem için 6×10^3 cfu/g, % 85 bağlı nem için 2×10^6 cfu/g ve % 100 bağlı nem için 4×10^6 cfu/g olarak hesaplanmıştır. Taydaş ve Aşkın (1995)’nin yaptığı çalışma sonucunda kırmızı pul biberde elde ettikleri toplam küf sayısı (4×10^1 - 9×10^4 adet/g) ile direkt ekilen örneklerde bulunan sayı karşılaştırıldığında, çalışmada bulunan toplam küf sayısının daha yüksek olduğu görülmektedir. Ancak, kırmızı pul biberlerde bulunabilecek küf sayısının üretim ve işleme koşullarına göre 10^3 ile 10^6 arasında değişebileceği göz ardı edilmemelidir.

Küf gelişmesi için optimum bağlı nemin % 88-95 arasında olduğu bilinmektedir. Bu doğrultuda, çalışmada depolanan örneklerin küf sayılarının % bağlı nem arttıkça, artması beklenen bir sonuçtur.

Tablo 4.5’de bulunan değerleri yöre bazında incelersek; Adana yöresinin direkt ekim bulaşma oranı % 50 olup, ortalama küf sayısı 2×10^4 cfu/g; % 75 bağlı nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 80 olup, ortalama küf sayısı 2×10^4 cfu/g; % 85 bağlı nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 70 olup, ortalama küf sayısı 2×10^5 cfu/g ve % 100 bağlı nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 100 olup, ortalama küf sayısı 3×10^5 cfu/g olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.5 Kırmızı pul biber örneklerinde toplam küf sayıları (cfu/g)

SIRA NO	DİREKT EKİM	FARKLI BAĞIL NEM ORTAMLARI		
		%75	%85	%100
ADANA				
1	8×10^4	1×10^3	-	1×10^3
2	4×10^3	1×10^3	1×10^3	1×10^3
3	2×10^2	4×10^3	1×10^6	6×10^5
4	-	-	3×10^3	8×10^4
5	-	1×10^2	-	1×10^2
6	-	1×10^5	2×10^2	1×10^6
ANTEP				
7	3×10^4	-	-	5×10^3
8	5×10^3	4×10^3	5×10^3	7×10^3
9	6×10^3	7×10^3	6×10^5	6×10^6
10	6×10^3	1×10^3	-	-
11	5×10^2	8×10^4	3×10^3	2×10^4
12	2×10^4	2×10^3	4×10^3	4×10^3
13	2×10^4	1×10^3	3×10^3	1×10^3
14	4×10^3	1×10^3	-	-
MARAS				
15	1×10^3	-	-	-
16	3×10^4	-	2×10^7	5×10^7
17	3×10^5	-	3×10^7	2×10^6
18	7×10^2	-	-	7×10^7
19	2×10^5	-	1×10^7	2×10^6
20	3×10^5	-	1×10^7	9×10^6
21	-	-	1×10^3	-
22	1×10^3	-	1×10^3	2×10^6
URFA				
23	-	-	-	-
24	3×10^3	-	2×10^3	-
25	6×10^2	1×10^2	-	1×10^3
26	7×10^3	-	1×10^3	-
27	5×10^2	1×10^2	-	1×10^3
28	-	-	-	2×10^4
29	-	-	-	4×10^3
30	-	-	1×10^3	3×10^6
31 *	-	-	-	-
32 *	-	1×10^3	2×10^3	5×10^6
33 *	-	-	1×10^4	4×10^3
34 *	-	-	-	-
35 *	-	-	2×10^3	2×10^4
36 *	-	-	-	-

(-) üreme yok, (*) İso

Antep yöresinin direkt ekim bulaşma oranı % 100 olup, ortalama küf sayısı 1×10^4 cfu/g; % 75 bağıl nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 90 olup, ortalama küf sayısı 1×10^4 cfu/g; % 85 bağıl nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 60 olup, ortalama küf sayısı 8×10^4 cfu/g ve % 100 bağıl nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 80 olup, ortalama küf sayısı 8×10^5 cfu/g olarak tespit edilmiştir.

Maraş yöresinin direkt ekim bulaşma oranı % 90 olup, ortalama küf sayısı 1×10^5 cfu/g; % 75 bağıl nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 0; % 85 bağıl nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 80 olup, ortalama küf sayısı 9×10^6 cfu/g ve % 100 bağıl nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 80 olup, ortalama küf sayısı 2×10^7 cfu/g olarak tespit edilmiştir. Maraş yöresi %75 bağıl nem ortamında depolanan örneklerde küf gelişimi olmaması, küflerin örneklerde heterojen bir dağılım gösterdiğini ve bunun bir sonucu olarak örneklerin rastgele alınmasından dolayı küf gelişmesi tespit edilemediği sonucuna varılmıştır.

Urfa yöresinin direkt ekim bulaşma oranı % 30 olup, ortalama küf sayısı 8×10^2 cfu/g; % 75 bağıl nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 20 olup, ortalama küf sayısı 9×10^1 cfu/g; % 85 bağıl nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 40 olup, ortalama küf sayısı 1×10^3 cfu/g ve % 100 bağıl nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 60 olup, ortalama küf sayısı 6×10^5 cfu/g olarak tespit edilmiştir.

İsot'un direkt ekim ortalama küf sayısı 0 cfu/g; % 75 bağıl nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 20 olup, ortalama küf sayısı 2×10^2 cfu/g; % 85 bağıl nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 50 olup, ortalama küf sayısı 2×10^3 cfu/g ve % 100 bağıl nem ortamında depolanan örneklerin bulaşma oranı % 50 olup, ortalama küf sayısı 8×10^5 cfu/g olarak tespit edilmiştir.

Toplam küf sayısı % bulaşma oranını yöre bazında incelediğimizde; Urfa yöresinin direkt ekim ve farklı bağıl nem ortamlarında, diğer yörelere göre daha iyi sonuç verdiği, küf sayısının daha düşük olduğu, özellikle İsot'un direkt ekilen örneklerinde küf gelişimi olmadığı gözlenmiştir. Bunun sebebinin İsot'un işlenmesi sırasında

yağda kavrulması ve bu işlem sonucunda küf gelişiminin engellendiği düşünülmektedir. Urfa ve diğer yörelerde de bağıl nem arttıkça bulaşma oranının arttığı, özellikle %100 bağıl nem ortamındaki örneklerin depolanma süresi sonunda görsel olarak da küf gelişimi gösterdiği tespit edilmiştir.

4.3 Direkt ve Farklı Bağıl Nem Koşullarında Depolanan Örneklerde Mikoflora

Direkt ekilen örneklerde tespit edilen mikoflora Tablo 4.6’de gösterilmiştir.

Tablo 4.6 Direkt örneklerde mikoflora

Mikroorganizma Adı:	ADANA n=6	ANTEP n=8	MARAŞ n=8	URFA n=8	İSOT n=6	TOPLAM n=36
<i>Aspergillus</i>						
<i>A.flavus</i>	2	7	5	3	-	17
<i>A.nidulans</i>	1	1	1	-	-	3
<i>A.niger</i>	2	7	5	4	-	18
<i>A.oryzae</i>	-	-	1	-	-	1
<i>A.sclerotia</i>	1	5	3	1	-	10
<i>A.terreus</i>	-	-	1	-	-	1
<i>A.versicolor</i>	-	1	-	-	-	1
<i>Eurotium</i>						
<i>E.amstelodami</i>	-	2	-	1	-	3
<i>E.chevalieri</i>	-	2	-	-	-	2
<i>Penicillium</i>						
<i>P.brevicompactum</i>	-	1	1	-	-	2
<i>P.griseofulvum</i>	-	-	-	1	-	1
<i>P.viridicatum</i>	1	4	2	1	-	8
<i>Monascus ruber</i>	-	1	-	-	-	1
Diğer	-	2	-	-	-	2
Tanımlanamadı	-	-	1	1	-	2

(n) örnek sayısı

Tablo 4.6’de görüleceği üzere direkt ekim yapılan kırmızı pul biber örneklerinde *Aspergillus* spp. (*A.flavus*, *A.nidulans*, *A.niger*, *A.oryzae*, *A.sclerotia*, *A.terreus*, *A.versicolor*), *Eurotium* spp. (*E.amstelodami*, *E.chevalieri*), *Penicillium* spp. (*P.brevicompactum*, *P.griseofulvum*, *P.viridicatum*), *Monascus ruber* teşhis edilirken; 36 adet örneğin % 50’sinde *A.niger*, % 47’sinde *A.flavus*, % 27’sinde

A.sclerotia tespit edilmiştir. *Eurotium* spp. türü küflerin bulaşma oranı % 13 olurken, *Penicillium* spp. türü küflerin bulaşma oranı % 30 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada; çeşitli araştırmacıların yapmış oldukları analizlerde, kırmızı pul biberlerde hakim florayı oluşturan *Aspergillus* spp. ve *Penicillium* spp. türleri yanında *Eurotium* spp. da rastlanmıştır.

%75 bağıl nem de depolanan örneklerde tespit edilen mikoflora Tablo 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.7 %75 bağıl nemli ortamda depolanan örneklerde mikoflora

Mikroorganizma adı:	ADANA n=6	ANTEP n=8	MARAŞ n=8	URFA n=8	İSOT n=6	TOPLAM n=36
<i>Aspergillus</i>						
<i>A.flavus</i>		-	-	-	-	2
<i>A.niger</i>	2	2	-	-	-	4
<i>A.sclerotia</i>	-	2	-	-	-	2
<i>Eurotium</i>						
<i>E.amstelodami</i>	2	4	-	1	-	7
<i>E.chevalieri</i>	-	1	-	-	1	2
<i>E.repens</i>	-	2	-	-	-	2
<i>Penicillium</i>						
<i>P.viridicatum</i>	1	-	-	1	-	2
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	-	-	-	1	-	1
Diğer	2	-	-	2	-	4
Tanımlanamadı	-	-	-	1	-	1

(n) örnek sayısı

%75 Bağıl nem ortamında depolanan örneklerde Tablo 4.7’de görüleceği üzere mikoflorada *Aspergillus* spp.(*A.flavus*, *A.niger*, *A.sclerotia*), *Eurotium* spp. (*E.amstelodami*, *E.chevalieri*, *E.repens*), *Penicillium* spp. (*P.viridicatum*), *Scopulariopsis brevicaulis* teşhis edilirken; 36 adet örneğin % 20’sinde *E.amstelodami* tespit edilmiştir. *Eurotium* spp. türü küflerin bulaşma oranı % 30 olurken, *Penicillium* spp. türü küflerin bulaşma oranı % 5 ve *Aspergillus* spp. türü küflerin bulaşma oranı ise % 22 olarak hesaplanmıştır.

%85 bağıl nem ortamında depolanan örneklerde tespit edilen mikoflora Tablo 4.8’da gösterilmiştir.

Tablo 4.8 % 85 bağıl nemli ortamda depolanan örneklerde mikoflora

Mikroorganizma adı:	ADANA n=6	ANTEP n=8	MARAŞ n=8	URFA n=8	İSOT n=6	TOPLAM n=36
<i>Aspergillus</i>						
<i>A.flavus</i>	1	3	-	-	-	4
<i>A.niger</i>	1	1	-	-	-	2
<i>A.sclerotia</i>	-	1	-	-	2	3
<i>Eurotium</i>						
<i>E.amstelodami</i>	2	2	6	-	-	10
<i>E.repens</i>	-	1	-	-	-	1
<i>E.chevalieri</i>	-	-	1	-	-	1
<i>Penicillium</i>						
<i>P.viridicatum</i>	1	1	-	2	2	6
<i>P.brevicompactum</i>	-	-	-	-	1	1
Diğer	1	-	-	1	-	2
Tanımlanamadı	-	2	-	-	-	2

(n) örnek sayısı

% 85 bağıl nem ortamında 15 gün depolanan örneklerde mikoflorada Tablo 4.8’de görüldüğü üzere *Aspergillus* spp. (*A.flavus*, *A.niger*, *A.sclerotia*), *Eurotium* spp. (*E.amstelodami*, *E.chevalieri*, *E.repens*), *Penicillium* spp. (*P.brevicompactum*, *P.viridicatum*) teşhis edilirken; 36 adet örneğin % 27’sinde *E.amstelodami* edilmiştir. *Eurotium* spp. türü küflerin bulaşma oranı % 33 olurken, *Penicillium* spp. türü küflerin bulaşma oranı %19 ve *Aspergillus* spp. türü küflerin bulaşma oranı ise % 25 olarak hesaplanmıştır.

% 100 bağıl nem ortamında depolanan örneklerde bulunan mikoflora Tablo 4.9’da gösterilmiştir.

Tablo 4.9 % 100 bağıl nemli ortamda depolanan örneklerde mikoflora

Mikroorganizma adı:	ADANA n=6	ANTEP n=8	MARAŞ n=8	URFA n=8	İSOT n=6	TOPLAM n=36
<i>Aspergillus</i>						
<i>A.flavus</i>	2	1	2	-	-	5
<i>A.niger</i>	2	1	1	-	-	4
<i>A.sclerotia</i>	1	1	-	-	2	4
<i>A.terreus</i>	-	1	-	-	-	1
<i>Eurotium</i>						
<i>E.amstelodami</i>	1	5	5	2	2	15
<i>E.rubrum</i>	-	1	-	-	-	1
<i>E.chevalieri</i>	-	-	1	-	-	1
<i>Penicillium</i>						
<i>P.crustosum</i>	-	1	-	-	-	1
<i>P.viridicatum</i>	3	1	1	1	-	6
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	-	-	-	1	-	1
Diğer	1	-	-	1	-	2
Tanımlanamadı	-	2	-	1	-	3

(n) örnek sayısı

% 100 Bağıl nem ortamında 15 gün depolanan örneklerde mikoflorada *Aspergillus* spp. (*A.flavus*, *A.niger*, *A.sclerotia*, *A.terreus*), *Eurotium* spp. (*E.amstelodami*, *E.chevalieri*, *E.rubrum*), *Penicillium* spp. (*P.crustocum*, *P.viridicatum*), *Scopulariopsis brevicaulis* teşhis edilirken; 36 adet örneğin % 41'inde *E.amstelodami* edilmiştir. *Eurotium* spp. türü küflerin bulaşma oranı % 47 olurken, *Penicillium* spp. türü küflerin bulaşma oranı % 19 ve *Aspergillus* spp. türü küflerin bulaşma oranı ise % 38 olarak hesaplanmıştır.

Analiz bulgularından da görüleceği üzere direkt ekilen örneklerde *Aspergillus* spp., % 75, % 85 ve % 100 bağıl nem ortamlarında depolanan örneklerde ise *Eurotium* üyeleri daha ağırlıklı olarak tespit edilmiştir.

4.4 Direkt ve Farklı Bağıl Nem Koşullarında Depolanan Örneklerde *Aspergillus flavus* Sayısı ve Direkt Örneklerde Aflatoksin Oluşumu

Direkt ekilen örneklerde *A.flavus* sayısı ve aflatoksin Tablo 4.10'da gösterilmiştir.

Direkt ekilen örneklerde *A.flavus* sayısı ortalama olarak 7×10^3 koloni/g. bulaşma oranı ise % 47 olarak tespit edilmiştir. Taydaş ve Aşkın (1995) yaptıkları çalışmada *A.flavus* türü küfle bulaşma oranını % 83 olarak bulmuşlardır. Adana yöresinin bulaşma oranı % 33 olup, ortalama 4×10^3 koloni/g, Antep yöresinin bulaşma oranı % 88 olup, ortalama 2×10^3 koloni/g, Maraş yöresinin bulaşma oranı % 62 olup, ortalama 2×10^4 koloni/g, Urfa yöresinin bulaşma oranı % 21 olup, ortalama 5×10^1 koloni/g *A.flavus* bulunmuştur. İso'ta *A.flavus* gelişimi gözlenmemiştir.

Tablo 4.10'da görüleceği üzere Direkt örneklerde aflatoksin varlığı % 14 olarak tespit edilmiştir. Taydaş ve Aşkın (1995)'nin yaptıkları çalışmada ise aflatoksin bulunma oranı % 100, Tabata ve diğ. (1993)'lerinin çalışmasında ise kırmızı biber örneklerinin % 20'sinde aflatoksin B₁ bulunmuştur.

Tablo 4.10 Direkt ekilen örneklerde *Aspergillus flavus* sayısı ve aflatoksin varlığı

SIRA NO	<i>Aspergillus flavus</i> sayısı (koloni/g)	Aflatoksin
ADANA		
1	2×10^4	-
2	1×10^3	20.24ppb B ₂
3	-	-
4	-	-
5	-	-
6	-	-
ANTEP		
7	2×10^2	-
8	7×10^2	20.77ppb B ₁
9	5×10^3	-
10	2×10^2	-
11	1×10^2	-
12	8×10^3	-
13	5×10^3	-
14	-	-
MARAS		
15	-	-
16	8×10^3	10.50ppb B ₁
17	5×10^4	-
18	1×10^2	-
19	6×10^4	31.17ppb G ₁
20	8×10^4	-
21	-	-
22	-	-
URFA		
23	-	-
24	1×10^2	-
25	-	-
26	4×10^2	10.48ppb G ₂
27	2×10^2	-
28	-	-
29	-	-
30	-	-
31 *	-	-
32 *	-	-
33 *	-	-
34 *	-	-
35 *	-	-
36 *	-	-

(*) İsoot, (-) üreme yok

Adana, Antep, Maraş ve Urfa yörelerinde sırasıyla aflatoksin varlığı sırasıyla % 17, % 13, % 25 ve % 7 olarak hesaplanmıştır. *A.flavus* tespit edilen 17 örnekten sadece 5'inde aflatoksin bulunmuştur. Diğerlerinde aflatoksine rastlanmamıştır. Ancak Taydaş ve Aşkın (1995)'daki *Aspergillus flavus* bulunma oranı ile aflatoksin bulunma oranı arasındaki paralellik, bu çalışmada saptanamamıştır.

Garner ve diğ. (1993)'nin HPLC kullanarak yaptıkları analizlerde bir çok baharat çeşidinin özellikle kırmızı biberin 20 ppb ve üzerinde aflatoksin içerdiği tespit edilmiş, bu miktarın 19.8 ppb'si B₁, 0.9 ppb'si ise B₂ den oluştuğu görülmüştür.

Çalışma sonunda elde edilen aflatoksin miktarlarının, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinde (1997) baharatlarda aflatoksin B₁ için konulan üst sınır 5 ppb miktarını geçtiği tespit edilmiştir. Kodekste baharatlar, özellikle kırmızı pul biber için toplam aflatoksin miktarı veya diğer aflatoksinler için bir üst sınır değeri bulunmaması gerçek ve sağlıklı bir karşılaştırma yapma fırsatını vermemektedir. Buna karşılık elde edilen sonuçlar, ISS'de baharatlarda aflatoksin B₁ için kabul edilebilir maksimum miktarın 20 ppb olması gerektiği bilgisi ile karşılaştırıldığında Antep yöresinde çıkan 20.77 ppb'lik aflatoksin B₁'nin belirtilen miktarı geçtiği görülmüştür.

Çalışma sonunda elde edilen bulgular için, yöre bazında analiz edilen örnek sayısı dikkate alınacak olursa, Antep ve Maraş Bölgelerinde Adana ve Urfa'ya göre *A.flavus* bulaşma oranının daha yüksek olduğu görülmektedir. Bulgular aflatoksin açısından değerlendirildiğinde tüm bölgelerde aflatoksinli örnek sayısının düşük olduğu, ancak aflatoksin miktarının limitlerin üzerinde olduğu görülmektedir. Adana, Antep, Maraş ve Urfa'nın bir kısım kırmızı pul biberi ile karşılaştırıldığında, İso'ta hiçbir küf gelişmesi ve buna bağlı olarak aflatoksin oluşmaması, kırmızı biber işleme yöntemlerinin önemini ve farklılığını da göstermektedir. Ayrıca kırmızı pul biber üretiminde uygulanan geleneksel kurutma yöntemleri ve bu sırada olabilecek yetersiz sanitasyonun da küf gelişimini ve buna paralel olarak aflatoksin oluşumunu artırdığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- ANTAI, S.P., 1988. Study of the *Bacillus* flora of Nigerian spices, *Int. J. Food Microbiology*, 6, 259-261.
- ANON., 1998. Turkish Food Catalog, İGEME, Ankara.
- ANON., 1992. Tarım İstatistikleri, Devlet İstatistikleri Enstitüsü, Ankara.
- AKGÜL, A., 1993. Baharat Bilimi ve Teknolojisi, 40-50, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:15, Ankara.
- ATEŞ, N., İLHAN, S., TÜMER, N., ÇINAR, R., ÇAKIROĞLU, M., 1992. Takviyeli Güneş Kollektörü ile Pilot Bazda bazı Meyve ve Sebzelerin Kurutulması, Kırmızı Toz ve Pul Biberlerin Üretim Şekli, Kanuni Mevzuatı ve Üretim Şeklinin Islahı, (Araştırma Projesi), 1-29.
- BAXTER, R. and HOLZAPFEL, W., 1982. A microbial investigation of selected spices, Herbs and Additives in South Africa, *J. of Food Science*, 47, 570-578.
- BHAT, R., GEETA, H. and KULKARNI, P., 1987. Microbial profile of cumin seeds and chili powder sold in retail shops in the city of Bombay, *J. Food Protection*, 50, 418-419.
- CASTELL, C., 1944. Thermophilic bacteria in foods and in various ingredients entering into the manufacture of foods, *Food Research*, 9, 410-414.
- CHARALAMBOUS, G., 1994. Spices, Herbs and Edible Fungi, Developments in Food Science V:34, Netherlands.
- CHRISTENSEN, C., FANSE, H., NELSON, G., BATES, F., MIROCHA, C., 1967. Microflora of black and red pepper, *Applied Microbiology*, 15, 622-626.
- DE BOER, E., SPIEGELENBERG, W. and JANSSEN, F., 1985. Microbiology of spices and herbs, *Antonie van Leeuwenhoek*, 51, 435-438.
- FAO, 1990. Food and Nutrition paper, Manuals of Food Quality 10. Training in Mycotoxins Analysis, Food and Agriculture Organization of The United Nations, Rome, 14/10.
- FLANNIGAN, B. and HUI, S., 1976. The occurrence of aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* in the mould flora of ground spices, *J. Applied Bacteriology*, 41, 411-418.

- GARRIDO, D., JODRAL, M. and POZO, R., 1992.** Mold flora and aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* in spices and herbs, *J. Food Protection*, 55, 451-452.
- GARNER, R.C., WHATTAM, M.M., PATRICK, J.L., STOW, T., STOW, M., 1993.** Analysis of United Kingdom purchased spices for aflatoxins using an immunoaffinity column clean-up procedure followed by high-performance liquid chromatographic analysis and post-column derivatisation with pyridinium bromide perbromide, *J. of Chromatography*, 648, 485-490.
- HALL, L., 1951.** Ethylene oxide process reduces spoilage organisms, *Food Packer*, 32, 26-28, 47.
- ITO, H., HAO, C. and BUNNAK, J., 1994.** Aflatoxin production by microorganisms of the *Aspergillus flavus* group in spices and the effect of irradiation, *J. Science of Food and Agriculture*, 65, 141-142.
- JULSETH, R. and DEIBEL, R., 1974.** Microbial profile of selected spices and herbs at import, *J. of Milk and Food Technology*, 37, 414-419.
- KROGH, P., 1987,** Mycotoxins in Foods, 65-95, Academic Press, London.
- LERKE, P. and FARBER, L., 1960.** Effect of electron beam irradiation on the microbial content of spices and teas, *Food Technology*, 14, 266-267.
- MADHYASTHA, M.S. and BHAT, R.V., 1985.** Evaluation of substrate potentiality and inhibitory effects to identify high risk spices for aflatoxin contamination, *J. Food Science*, 50, 376-378.
- MARTÍNEZ, P., JODRAL, M. and POZO, R., 1989.** Mycoflora and *Aspergillus flavus* in pepper on sale in Spain, *Microbiologie-Aliments-Nutrition*, 7, 311-314.
- MARASHETTY, S., 1981.** Studies on aflatoxins, *Aspergillus* and bacterial contamination in selected Indian spices involved in international trade, *Dissertation Abstracts International*, 40, 4133.
- MCKEE, L.H., 1995.** Microbial contamination of spices and herbs: a review, *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28, 1-11.
- MENESES, S., CORREA, B., ALVES DOS SANTOS, D., BORGES, S., TIMOLARIA, S., 1990.** Fungal microflora, aflatoxigenic species of the genus *Aspergillus* and detection of aflatoxins in red pepper (*capsicum* sp.) sold in Goiana country Goiás, *Revista de Microbiologia*, 21, 149-151.
- MOSS, M.O., 1996,** Mycotoxins, *Mycol Res*, 100, 513-523.
- MUNASIRI, M., PARTE, M., GHANEKAR, A., SHARMA, A., PADWAL, S., NADKARNI, G., 1987.** Sterilization of ground prepacked Indian spices by gamma irradiation, *J. of Food Science*, 52, 823-826.

- PAFUMI, J.**, 1986. Assesment of the microbiological quality of spices and herbs, *J. of Food Protection*, 49, 958-963.
- PAL, N. and KUNDU, A.**, 1972. Studies on *Aspergillus* spp. from Indian spices in relation to aflatoxin product, *Science and Culture*, 38, 252-254.
- PITT, J. and HOCKING, A.**, 1985. Fungi and Food Spoilage, Food Science and Technology, p:266-277, Academic Press, Australia.
- POSPISIL, A. and LJESJEVIC, O.**, 1981. Results of bacteriological examination of natural spices, *Technologija Mesa*, 20, 252-254.
- POWERS, E., LAWYER, R. and MASUOKA, Y.**, 1975. Microbiology of processed spices, *J. of Milk and Food Technology*, 38, 683-687.
- PROCTOR, B., GOLDBLITH, S. and FRAM, H.**, 1950. Effect of Supervoltage Cathode Rays on Bacterial Flora of Spices and Other Dry Food Materials, *Food Research*, 15, 490-493.
- RAY, B.**, 1996. Fundamental Food Microbiology. CRC Press Inc., Florida.
- ROBERT, I.**, 1994. Pharmacological Properties and Medicinal Use of Pepper, Spices, Herbs and Edible Fungi, *Developments in Food Science V:34*, s: 469-479, Netherlands.
- SAMSON, R.A., HOEKSTRA, E.S. and Van OORSCHAT, C.A.N.**, 1988. Introduction to Food-borne Fungi, Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Baran, The Netherlands.
- SHARMA, A., GHANEKJAR, A., PADWAL, S., NADKARNI, G.**, 1984. Microbiological status and antifungal properties of irradiated spices, *J. of Agricultural and Food Chemistry*, 32, 1061-1063.
- SHARMA, A., PADWAL, S. and NAIR, P.**, 1989. Assessment of microbiological quality of some gamma irradiated Indian spices, *J. of Food Science*, 54, 489-490.
- SİPAHİOOĞLU, H.N.**, 1998, Fındığın depolanması sırasında bazı küfler tarafından oluşturulan lipaz etkisinin incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi*, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- SNEENAPPA, M. and KEMPTON, A.**, 1981. A Note on the occurence of *Bacillus cereus* and other species of *Bacillus* in Indian spices of export quality, *J. of Applied Bacteriology*, 50, 225-228.
- STRONG, D., CANADA, J. and GRIFFITHS, B.**, 1963. Incidence of *Clostridium perfringens* in American foods, *Applied Microbiology*, 11, 42-44.
- TABATA, S., KAİMURA, H., IBE, A., HASHIMOTO, H., IIDA, M., TAMURÁ, Y., NISHIMA, T.**, 1993. Aflatoxin Contamination in Food and Foodstuffs in Tokyo, *J. of the AOAC International*, 76, 32-35.

- TAGUCHI, S., FUKUSHIMA, S., SUMIMOTO, T., YOSHIDA, S., NISHIMUNE, T.,** 1995. Aflatoxins in foods collected in Osaka, Japan, from 1988 to 1992, *J. of AOAC International*, 78, 325-327.
- TAYDAŞ, E. ve AŞKIN, O.,** 1995. Kırmızı biberlerde aflatoksin oluşumu, *Gıda* 20, 3-8, Ankara.
- TAYDAŞ, E.E.,** 1993. Kırmızı biberlerde aflatoksin ve okratoksin oluşumu üzerine araştırmalar. *Yüksek Mühendislik Tezi*. Hacettepe Üniversitesi, Ankara
- TGKY,** 1997. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Dünya Yayınları, “Globus” Dünya basımevi, İstanbul.
- TS – 3706,** 1986. Kırmızı Biber Acı-Pul (Yaprak), Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- YILDIRIM, T., TANRISEVEN, A. ve ÖZKAYA, Ş.,** 1997. Bursa ve Sakarya kırmızı biberlerinde aflatoksin çalışması, *Gıda Teknolojisi*, 2, 60-64.
- YOO, J.Y., LEE, H.C., SHIN, D.H., MIN, B.Y.,** 1983. Microbiological studies of foods. 1. microbial load and microflora of a red pepper product, *Korean- J. of Applied Microbiology and Bioengineering*, 32, 131-136.

ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında İstanbul'da doğdu. 1989 yılında Özel Şişli Terakki Lisesi'nden mezun oldu. 1990 – 1995'de İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya – Metalurji Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde yüksek öğrenimini tamamladı. 1995'de aynı bölümde yüksek lisans yapmaya başladı. 1996 yılında Türk Hava Yolları A.O.'da Kalite Kontrol ve Hijyen Uzmanı olarak çalışmaya başladı, halen bu kurumda görevine devam etmektedir.

