T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
ADLİ TIP ENSTİTÜSÜ

Danışman : Prof. Dr. Salih CENGİZ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

GIDA GÜVENLİK DENETİMİNDE AFLATOKSİN İLE İLGİLİ ADLİ KANITLAR

Fen Bilimleri Anabilim Dalı
Doktora Tezi

115331

Ziraat Yüksek Mühendisi
Figen BALCIOĞLU

İSTANBUL - 2000

İÇİNDEKİLER

Sayfa

1.GİRİŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. Küf Mantarları ve Toksinler 3

2.1.1. Küf Mantarları (Funguslar) 3

2.1.2. Mikotoksinler 6

2.1.3. Mikotoksin Zehirlenmeleri 18

2.1.4. Aflatoksin Üreten Aspergillus'lar 26

2.1.5. Aflatoksinler ve Özellikleri 32

2.2. Aflatoksin riski taşıyan gıdalar 44

2.2..1. Yer Fıstığı 47

2.2.2. Mısır 50

2.2.3. Kuru İncir 51

2.2.4. Fındık ve Ceviz 54

2.2.5. Antep Fıstığı 55

2.2.6. Kuru Kırmızı Biber 58

2.3. Aflatoksinlerin İnsan Sağlığı ve Diğer Canlılar Üzerine Olan Etkileri 59

2.4. Örnek Alma ve Aflatoksin Analizleri 74

2.5. Aflatoksinlerle İlgili Mevzuat 80

3. MATERYAL VE METOD 87

3.1. Materyal 87

3.2. Metod 87

3.2.1. Analizde Kullanılan Çözeltiler 88

3.2.2. Örneğin Analize Hazırlanması 88

3.2.3. Temizleme 88

3.2.4. Türevlendirme 89

3.2.5. Aflatoksin Standardının Hazırlanması 89

3.2.6. HPLC İle Nicel Analiz 90

4. BULGULAR 91

5. TARTIŞMA 100

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 104

7. ÖZET 107

8. SUMMARY 108

9.KAYNAKLAR 109

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın planlanmasında bitirilişine kadar olan her aşamasında engin bilgisiyle bana yol gösteren, bilimsel destek ve yakın ilgisini esirgemeyen, zorlukları aşamada büyük katkıları olan kıymetli hocam sayın Prof. Dr. Salih Cengiz'e;

Doktora eğitimi almama imkan sağlayan Adli Tıp Enstitüsü Müdürü Sayın Prof. Dr. Sevil Atasoy ile yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Vecdet Öz'e;

Tez çalışmam süresince değerli görüş ve yardımları ile katkıda bulunan Sayın Prof Dr. Özer Ergün ve Sayın Prof, Dr. Dilek Heperkan'a;

Laboratuar çalışmalarımda yardımlarını gördüğüm İstanbul Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü Müdürlüğü Mikrobiyoloji ve Toksikoloji Laboratuvarlarındaki arkadaşlarım Mikrobiyoloji Uzmanı Dr. Nadide Miroğlu, Uz. Ecz. Oya Ersoy ve Eczacı Ayşen Ayanoğlu'na;

Uzun süren bu çalışmamda her zaman beni cesaretlendiren ve destekleyen eşim Prof. Dr. İbrahim Balcıoğlu'na.

Yazım aşamasında değerli katkıları ile yardımcı olan sevgili Gönül Çelebioğlu'na;

Eğitimimde katkıları olan İsmini sayamadığım tüm hocalarıma ve Adli Tıp Enstitüsü çalışanlarına;

Teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Figen BALCIOĞLU

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Küf mantarlarının toksik metabolitler üretebilmesi nedeniyle son 20 yıldan beri bunlara özel bir dikkatin verilmesi gerekmiştir. *Claviceps purpurea* gibi bazı küf mantarlarının (fungi) yüksek akut toksisiteye sahip oldukları asırlardır bilinmesine rağmen *Aspergillus flavus*'un çok sayıdaki türlerinin mikotoksinleri 1960 dan beri araştırılmış ve tesbit edilerek tanımlanmıştır.

Küf mantarları doğada çok yaygın olarak bulunmakta olup, toprak ve hava başta olmak üzere her yerde mevcutturlar. Milyarlarca sporu oluşturmaları ve bu sporların da etrafa kolayca uçuşması, gıda maddelerinin küflerle kontamine olmasında önemli bir etmendir.

Gıdaların hijyen şartlarına dikkat edilmediği şekilde ve ortamda üretilmeleri halinde küfler de kolayca gıdalara bulaşır ve buralarda ürerler. Küflerin gıdalarda çoğalması o gıdanın organoleptik özelliklerinde belirgin ölçüde değişiklikler meydana getirirken, salgıladıkları toksinlerle de halk sağlığını tehdit ederler.

Küf mantarlarının salgıladığı toksinlere mikotoksin adı verilir. Mikotoksinler canlı organizmalarda toksik etkileri olan bileşiklerdir. Karaciğer, böbrek, merkezi sinir sistemi ve dolaşım sisteminde etkilidir. Mikotoksinlerin kronik toksisiteler sonucunda oluşan olgulara "Mikotoksikozis" denir

Kronik toksin zehirlenmesi kanser oluşumu ve bağışıklık sisteminin bozulması gibi durumları ortaya çıkarır. Nem, sıcaklık ve depo koşulları mikotoksin oluşumunu etkiler.

Çok değişik gıda maddeleri mikotoksinlerle riskli hale gelebilmektedir. Tahıl ürünleri ve hayvansal kökenli gıdaların yanısıra fındık, fıstık, ceviz ve ayçiçek gibi çerezlerle, incir gibi bazı kurutulmuş meyvelerde bir mikotoksin olan ve genellikle *A.flavus* tarafından üretilen aflatoksinin varlığından söz edilmektedir.

Bir mikotoksin olan aflatoksin, *Aspergillus ve Penicillium* türleri tarafından salgılanan mikotoksinler arasında en tehlikeli olanlarındandır. Yüksek sıcaklık karşısında dahi toksik etkisini kaybetmez.

Aflatoksinler genellikle bitkisel kökenli ürünlerde oluşmakta hayvansal ürünler aflatoksin için daha az risk taşımaktadır. Bu açıdan Fındık, fıstık, badem, çam fıstığı, kuru incir gibi kuruyemiş ve kuru gıdalarda bulunma riskleri çok yüksektir. Bu nedenle küflenmiş besinlerin tüketiminden halkın kaçınmasını sağlamak zorunludur.

Geçmişte ülkemizden ihraç edilen yukarda sayılan bazı gıdaların aflatoksin taşıdıkları gerekçesi ile geri gönderildikleri olmuştur. Diğer taraftan aflatoksin karsinojenik etkilerinden dolayı halk sağlığını ciddi boyutlarda tehdit eden bir mikotoksindir..

Tüm bu sayılan sebepler nedeniyle ihraç edilen ürünlerde ihracattaki itibarımızın zedelenmesini önlemek amacı ile piyasada satılan kuruyemişlerdeki aflatoksin muhteviyatlarının durum tesbitinin yapılmasına gerek duyulmuştur.

İç tüketimde ise aflatoksinlerin ne seviyede tehlikeli olabileceğinin belirlenmesi halk sağlığı yönünden büyük önem taşımaktadır.

Konunun gerek ihracat gerekse halk sağlığı açısından önemli olması nedeniyle, bu tez çalışması ile ülkemizde yaygın olarak tüketilen sert kabuklu meyve ve incir gibi kuruyemiş, kurutulmuş meyvelerde ve kuru kırmızı biberlerde aflatoksin B1 kalıntıları araştırılarak halk sağlığı ve alınacak önlemler bakımından ileri analiz yöntemleri kullanılarak incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

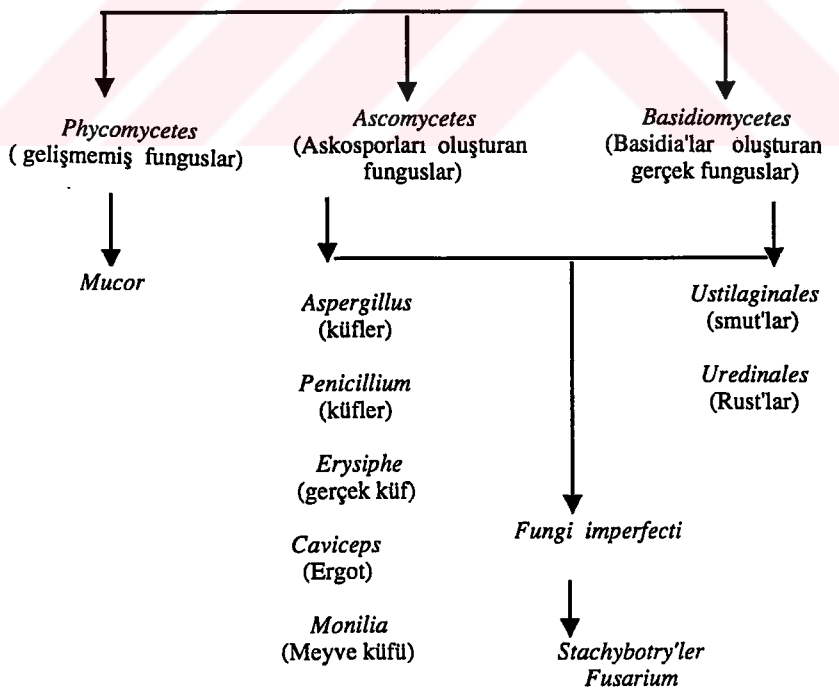
2.1. Küf Mantarları ve Toksinler

2.1.1. Küf Mantarları (Funguslar)

Bazı küf mantarları (fungus) uygun ortam koşullarında gıdaların üzerinde gelişerek mikotoksin olarak adlandırılan toksik bileşikler oluşturabilirler.. Küf sözcüğü, genellikle saprofit yapıda olup bitki ve hayvan hücreleri veya dokuları üzerinde yaşayan; bunlara tozlu lifli bir görünüş veren fungusların (mantar) grup ismidir.

Mantarlar bugün dünyada denizde, karada, havada olmak üzere geniş bir yayılma alanına sahip olup 110 000 civarında türleri vardır.

Tablo I. Fungusların (*Mycophyla*) Sınıflandırılması



(Aflatoksin Sorunu, Roche Vitamin Dergisi 1976'dan alınıştır)

İnsanoğlunun hemen her yerde karşılaştığı funguslardan bazıları doğrudan doğruya veya işlevleri ile insanlara yararlı olabildikleri gibi bazı işlevleri ile de zararlı olurlar.

Fungusların yararlı işlevlerini kısaca şu şekilde özetlemek mümkündür.

1. Topraktaki organik maddeleri bakteri, *Actinomyces* ve toprak florası ile birlikte parçalayarak onları mineralize ederler.

2. Yaptıkları solunum sonucu çıkardıkları CO_2 ile atmosferdeki CO_2'i dengede tutmaya hizmet ederler.

3. Funguslardan bazıları besin maddesi olarak tüketilir.

4. Rokfort ve kamambert peyniri gibi ünlü peynirler özel funguslar ile olgunlaştırılarak özel tat ve kokuya sahip olurlar.

5. Funguslar alemi içinde yer alan mayalardan birisi olan *Saccharomyces cerevisia* ekmek yapımında kullanılırlar. Hamurun dinlenmesi sırasında hızla çoğalarak çıkardıkları CO_2 ile hamurun sünger gibi olmasına ve ekmeğin kabarmasına neden olurlar.

6. Boza, bira, şarap ve diğer içkilerin yapımında bazı mayalar kullanılır.

7. İlk antibiyotik olan penisilin 1928 de Fleming tarafından *Penicillium chrysogenum* fungus türünden üretilmiştir. Funguslarla ilgili olarak ençok yararlanılan bir alan da fungusların metabolitleridir. Fungusta herhangi bir tip metabolit üretilmek istenirse, fungus o metaboliti üretmek için optimum koşullarda tutulur. Bu şekilde halen funguslardan alkoller, organik asitler, antibiyotikler, vitaminler, enzimler ve pigmentler elde edilmektedir.

8. Bugün bazı funguslar tarafından steroidler transformasyona uğratılarak dışarı atılırlar. Bu maddelerin bir kısmı ilaç olarak kullanılırlar.

Fungusların zararlı faaliyetlerini de şu şekilde sıralamak mümkündür.

1. Canlılar üzerinde parazit olarak yaşadıklarından onların hastalanmasına ve ölümlerine sebep olurlar. Bu durum mikozis ve allerjenlere neden olması ile 2 alt grupta incelenebilir.

a) Mikozlar direkt olarak insanlarda oluşturdukları hastalıklardır.

b) Fungus sporları da allerjik rinit ve astım bronşiale etkendir.

Astım bronşiale olgularında fungus sporlarının sebep olduğu vakalar önemli bir yer tutmaktadır. Örneğin İngiltere'de Edinburg' da yapılan bir araştırmada küf sporlarının % 30, Londra'da % 21, İtalya 'da % 18, Fransa'da (Paris) % 11, İstanbul çevresinde % 42,6, ve Ege bölgesinde % 75 oranında astım bronşiale sebep olduğu bildirilmiştir (73). İnsanlarda mantarların sebep olduğu genel bozukluklar arasında yenebilen mantar zehirlenmeleri de vardır.

2. Bitkilerde çürümelere neden olan ürün kayıplarına yol açar.

3. Rutubetli yerlerde bulunan malzemeleri parçalama gücüne sahiptir.

4. Besinlerde oluşturdukları toksinler ile hayvan ve insanlar üzerinde çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına yol açarlar. Bunlar içinde en dikkati çekeni *Aspergillus flavus* ile *Aspergillus parasiticus*'un sekonder metaboliti olan aflatoksinlerdir.

Doğada yaygınlık bakımından ön sırada yer alan küfler gıda hammaddelerine ve ürünlerine küf sporları veya misel fragmentleri şeklinde çevreden bulaşabilirler. Bunlar toprak, hava, su olmak üzere hemen her yerde bulunur. Milyonlarca spor meydana getirdiklerinden üreme imkanları çok fazladır. Havada her an sporları uçuştuğundan insanlarla iç içe yaşarlar. Soluduğumuz havada, içtiğimiz ve kullandığımız sularda sporları bulunabilir. Tüm bu sebeplerden dolayı gıdalar üretim, depolama, işleme, muhafaza ve tüketimleri sırasında daha açık bir ifade ile üretimlerinden tüketimlerine kadar geçirdikleri her aşamada küfler ile bulaşma tehlikesiyle karşı karşıya bulunurlar. Hijyenik şartlarda üretilip muhafaza edilmezlerse bulaşan küfler, uygun şartlar buldukları zaman, gıdalarda gelişip üreyerek bunların bozulmalarına; tat, koku gibi organoleptik niteliklerinin değişmelerine sebep olurlar.

Hammadde ve ürün halindeki besinler çevrede bulunan *küf* sporları ve misel flament leri ile kontamine olabilirler. Kontaminasyon üretimin çeşitli safhalarında gerçekleşebilir. Ürünlerin yetiştirilmesi ve olgunlaşması sırasında yarı mamül ürünlerin işlenmesi sırasında ve tüketime sunulan gıdalarda her zaman potansiyel toksijenik türlerin varlığı söz konusu olabilir. Üstelik oluşan kontaminasyon çoğunlukla görünmediği için kontamine ham materyalin işlenmeleri sonucunda da direkt olarak işlenmiş ürüne geçmektedir. Gıdaların küfle bozulmaları sonucu meydana gelen ekonomik zararların miktarı tahmin edilemeyecek kadar fazladır. Bu kayıplar içinde gıda ve yem depolanması sırasında küf üremesini kontrol etme çalışmalarının maliyetine bağlı kayıpla da mevcuttur.

Küflerin neden olduğu ekonomik kayıplar sadece Avustralya için 10 milyon dolar ve dünya geneli için tahmini 16 milyar Amerikan doları olarak bildirilmektedir (86). Nitekim bu kayıpların çok önemli bir bölümünün geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde olduğu yolundaki açıklamalar, bu ülkelerdeki açlık ve gıda yetmezliği sorunları da göz önüne alındığında çok düşündürücü nitelikler taşımaktadır.

2.1.2. MİKOTOKSİNLER

Küflerin neden olduğu ekonomik zararlarda çok daha önemlisi ve tehlikeli olanı çoğalmaları sırasında oluşturdukları metabolitleri ile gıda maddelerini kirletmeleri ve zararlı bir duruma getirmeleridir (62). Bu metabolitler arasında insan ve hayvan sağlığını tehlikeye sokanlara mikotoksin adı verilir. Bunlar mikotoksikozlara sebep olurlar (74).

Mikotoksin terimi Yunanca "MYKES" (mantar) ve TOKSİKON (zehir) kelimelerinden türetilmiştir. İnsan ve hayvanlar tarafından mikotoksin alımından kaynaklanan toksisite sendromları mikotoksikozlar olarak adlandırılır.

Mikotoksinler organizmada akut veya kronik olarak organlar ya da sistemler üzerinde yalnız toksik olarak değil, karsinojenik, teratojenik ve mutajenik yönden de etki gösterirler. Ayrıca hepatotoksik, nefrotoksik, nörotoksik, hematotoksik, hemorajik, dermatoksik oldukları gibi protein metabolizmasını ve gelişmeyi durdurucu, lökositleri azaltıcı etkilere de sahiptirler (62,22,51,44).

Dünya üzerinde ve ülkemizde genişlemesi önlenemeyen çevre ve gıda kirlenmesine bağlı olarak hızla gelişen gıda kontrolü sahasında yabancı madde kalıntılarının ve bunlar arasında da mikotoksinlerin araştırılması en aktüel konulardan biri haline gelmiştir.

Gıdalarda yabancı madde artıkları arasında ayrı bir öneme sahip olan mikotoksinler Aspergillus, Fusarium ve Penicillum gibi küf mantarlarının toksik karakterli sekunder metabolitleridir. Şimdiye kadar insan ve hayvanlarda patolojik değişikliklere neden olabilen 300'ün üzerinde mikotoksin varlığı bildirilmiştir (35,55).

Elde edilen bulgularda gıda maddelerinin mikrofloralarında birinci sırayı *Penicillium*, ikinci sırayı *Aspergillus*, üçüncü sırayı *Cladosporium* ve dördüncü sırayı da *Rhizopus*, *Mucor* ve *Fusarium*'un aldığı belirlenmiştir (40).

Gıdalarda küflerin gelişmesi ve mikotoksin meydana getirebilmesinde küflerin cins ve türü; gıdanın bileşimi ve rutubet oranı; çevre şartları (sıcaklık, muhafaza ve işleme teknikleri, süreleri) ve daha birçok faktörün rol oynadığı ancak gıda maddesinde potansiyel toksijenik küf mantarı türleri ürese bile her zaman mikotoksin oluşmayabileceği bildirilmektedir (93,77,32).

Gıda işleme teknolojileri de küf gelişimini olduğu gibi toksin oluşumunu ve varlığını da etkilemektedir (99,121).

Bitkinin büyümesi sırasında, hasat esnasında ve hasat sonrasında toksijenik mantarlar tarımsal ürünleri istila edebilirler. Kontaminasyon çevredeki miselyum fragmanları, sporlar ve konidia ile gerçekleşir. Görüntüsü küflü olmayan sporlarda bile büyük miktarlarda spor, konidia ve miselyum fragmanlarının varlığı; çevrenin genel kontaminasyonu veya küflü hammaddenin işlendiğini göstermektedir. Gıdanın işlenmesi sırasında mantarlar inaktive olabilir veya canlılıklarını kaybedebilirler. Mantar üremesi ancak uygun şartlar altında gerçekleşir. Mantarlar enerji ihtiyaçlarını karşılayabilmek, proteinler ve DNA gibi makromolekülleri yapabilmek için çeşitli besinlere gerek duyarlar. Karbonhidrat sentezleyemedikleri için substratların karbonhidrat içermesi gerekir. Fakat proteinden zengin bir substratta aminoasitleri karbon kaynağı olarak kullanarak çoğalabilirler. Organik nitrojen bileşikleri bütün mantarlar tarafından; inorganik bileşikler ise sınırlı sayıdaki suşlarca asimile edilebilir. Substratta belirli vitaminler bulunmalıdır.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Diğerleri ise suşa bağlı olarak sentezlenebilirler. Hemen hemen bütün besinler bu zikredilen nutrientleri içerirler ve dolayısıyla substrat olarak işlev görebilirler. Karbonhidratların yıkımı sırasında çok sayıda metabolit oluşur. Bunlar arasında insanlar ve hayvanlar için toksik olanlar (mikotoksinler) ve mikroorganizmalar için toksik olanlar (antibiyotikler) vardır.

Mikotoksin ürettiği bilinen mantar sayısı yaklaşık 150 'dir. Aşağıdaki tabloda iyi bilinen bazı mantarların ve mikotoksinlerin birkaçı sıralanmıştır.

Tablo II Toksijenik Küfler ve Bunların Toksinleri

Fungal Küfler	Toksinler
Aspergillus flavus	Aflatoxin
Aspergillus versicolor	Sterigmatocystin
Penicillium verrucosum	Ocratoxin
Fusarium reseum	Zearalenone
Fusarium tricinctum	Trichothecenes

(Krogh 1987'den alınmıştır).

Besinlerde küf oluşumu ve buna bağlı mikotoksin üretiminde nem ve sıcaklık çok önemli etkisi olan iki faktördür. Bu iki etken birbirine çok bağımlıdır. Genellikle küf gelişmesini yüksek sıcaklık ile yüksek nem kombinasyonu birlikte teşvik etmektedirler. Nem içeriği veya nisbi nem, besi ortamının (substrat) çerçevesinde olup küf gelişmesi ile mikotoksin oluşumunda etkin bir faktördür.

Alternaria, *Fusarium*, *Cladosporium* ve *Helminthosporium* gibi tarla küfleri ile *Fusarium* ve *Chaetomium* gibi ileri çürümelerdeki küflerin gelişmesi için % 20 -25 oranında yüksek nem gerekmektedir. Halbuki *Aspergillus* ve *Penicillium* gibi depo küfleri % 13 -18 düzeyinde bir neme gerek duymaktadır. *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* gibi küflerin gelişmesi ve muhtemelen mikotoksin oluşturması için % 13'ün üzerinde nem içeriği gerekmekte ise de, küf gelişmesi % 13 den daha az nem içeren besinlerde de oluşabilmektedir (25).

Gıdanın içerisinde bulunduğu ortamın bağıl nemi o gıdaya ait su aktivitesinin dengesi ve yüzey mikroorganizmalarının gelişmesi açısından çok önemlidir. Bir gıdanın su aktivitesi (a_w) ile bağıl

nem arasında yakın bir bağıntı mevcut olup (a_w = bağıl nem / 100) gıdanın bulunduğu ortamın bağıl neminin gıdanın su aktivitesi değeri ile dengelenmiş olması gerekir ki buna "Eşdeğer Bağıl Nem" denir.

Bağıl nem yüksek olduğu takdirde gıda maddesi çevreden nem almaya başlar, ve su aktivitesi, önce olmak üzere, bağıl nem ile denge oluşuncaya kadar artar. Böylece gıda üzerinde mikroorganizmaların aktiviteleri artar. Mikrobiyal gelişmenin başlaması ile birlikte tüm parametrelerde önce yavaş sonra ise hızlı değişmeler meydana gelir. Bunun sonucu olarak mikrobiyal gelişmeye uygun ortam sağlanmış olur.

Gıdalarda bulunan su aktivitesi (a_w) küf için gelişme faktörüdür. Su aktivitesi gıdada hazır olarak bulunan bağlanmamış su miktarıdır.

Aspergillus türlerinin ihtiyaç duydukları su aktivitesi miktarları tabloda belirtilmiştir.

Tablo III. *Aspergillus* Türlerinin Gelişebildiği Minimum Su Aktiviteleri (aw)

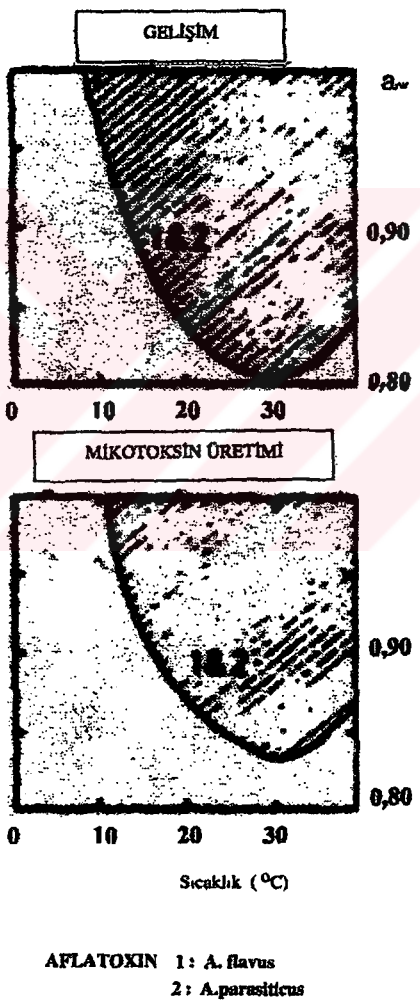
Türler	aw
Eurotium chevalieri	0.65
A. candidus	0.72
A. versicolor	0.75
A. flavus	0.80
A. fumigatus	0.82
A. niger	0.85

(Krogh 1987' den alınmıştır).

Funguslar genellikle bakterilerden daha düşük minimal aw ye ihtiyaç duyarlar. Tarım ürünlerindeki su aktivitesini 0,65'in altına düşürmek suretiyle kurutmak ve bu seviyeyi korumak fungal gelişimi önler. Bununla birlikte eğer depolanmış ürünlerde sıcaklık üniform değil ise soğuk kısımlarda lokal olarak su aktivitesi artabilir. Böylece fungal gelişmeye yol açılabilir.

Depolamada yeterli havalandırma veya sirkülasyonun sağlanması, küf gelişimi ve toksin oluşumunu hızlandıran kondensasyon odaklarından (ıslak cep) kaçınılması için ani sıcaklık değişimlerinin önlenmesi gerekir.

Aflatoksin üreten fungus türlerinin gelişmesi ve mikotoksin üretimleri için gereken su aktiviteleri ve ideal sıcaklık şartları aşağıdaki şekilde özetlenmiştir.



Şekil 1: Aflatoksin üreten türlerin küf gelişmesi ve mikotoksin üretimi için uygun sıcaklık ve su aktivitesi (a_w) şartları (taralı alan). (FAO Food And Nutrition Paper 1990'dan alınmıştır).

Substrata ne kadar çok su bağlı ise mantar için o kadar az su vardır ve a_w de o kadar düşüktür. Su aktivitesi sadece mantar üremesini etkilemez, mikotoksin üretimini de etkiler. Belirli a_w değerinin altında mikotoksin üretilmez. Toksin üretimi için optimum a_w (0,99), çoğalma için gerekenden (0,95) yüksektir. Aflatoksin B_1 üretimi için fungus gelişmesinde su aktivitesi ve sıcaklık gereksinimi minimumdur. Gıda hijyeni ile ilgili Codex Alimentarius Komitesi, yerfıstıklarında aflatoksin kontaminasyonunu önlemek için standart 0,70 su aktivitesini (a_w) önermiştir. 0,70 lik standart aw diğer tarımsal ürünlerin de güvenli bir şekilde depolanması için uygundur. Fakat a_w ölçen cihazların (dewpoint meters) karmaşıklığı, fiyatı ve sık kalibrasyon gerektirmesi nedeniyle aw standartlarının uygulanması zor olmaktadır. Bu yüzden Northolt Tuz Kristal Liquefaction testi denilen, tarla şartlarında uygulanabilen besinlerin su aktivitesini test etmekte kullanılan basit bir metot geliştirmiştir. Bu test tarlada kolayca uygulanabilir ve sadece birkaç saat içinde sonuç alınabilir. Bu test yalnızca mikotoksin bulunma ihtimalini gösteren indirekt tarla testidir (81). Mikotoksin varlığını belirleyebilmek için analiz metotlarının kullanılması gerekir.

Sıcaklık mikotoksin oluşmasına çok önemli etkisi olan diğer bir faktördür. Mezofilik bir küf olan *Aspergillus flavus*'un minimum 6 - 8 °C, optimum 36 -38 °C maksimum 44 -46 °C gelişme sıcaklığına ihtiyaç gösterdikleri belirtilmektedir (19,81).

Tablo IV : Farklı Türlerdeki Küf Mantarlarının Gelişebilmesi İçin Gerekli Minimum Sıcaklık ve Su Aktiviteleri (aw)

Tür	C	aw	Tür	C	aw
Alternaria tenuis	n.d.*	0.94	*Cladosporium herbarum*	-7	0.88
Aspergillus candidus	10	0.75	*Mucor racemosus*	n.d.*	0.88
Aspergillus clavatus	10	0.86	*Penicillium aurantiogriseum*	0.-	0.84
Aspergillus flavus	10	0.81	*Penicillium brevicompactum*	-2	0.81
Aspergillus fumigatus	12	0.82	*Penicillium chrysogenum*	4	0.84
Aspergillus niger	12	0.77	*Penicillium citrinum*	12	0.80.
Aspergillus ochraceus	10	0.78	*Penicillium expansum*	0.-	0.85
Aspergillus oryzae	n.d.*	0.86	*Penicillium glabrum*	4	0.81
Emericella nidulans	12	0.85	*Penicillium griseofulvum*	0.-	0.83
Eurotium amstelodami	6	0.7	*Penicillium islandicum*	10	0.83
Eurotium chevalieri	10	0.71	*Penicillium spinulosum*	n.d.*	0.8
Eurotium repens	6	0.72	*Penicillium verrucosum*	0.-	0.83
Eurotium ruber	10	0.7	*Rhizopus nigricans*	1	0.94
Aspergillus versicolor	4	0.78	*Scopulariopsis brevicaulis*	n.d.*	0.9
Botrytis cinerea	-4	0.94	*Stachybotrys atra*	7	0.94
Byssochlamys fulva	5	n.d.*			

nd * : Belirlenememiş

(Samson 1988 'den alınmıştır).

En önemli türlerin gelişmesi için gerekli minimum sıcaklıklar ve su aktiviteleri yukarıdaki tabloda gösterilmiştir. Bu tablodan *Penicillium* türleri için gerekli minimal sıcaklık sınırları *Aspergillus*'a göre daha düşük görülmektedir. *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinde mikroorganizma' nın ihtiyaç duyduğu minimum su aktiviteleri ise *Aspergillus* türlerinde *Penicillium* türlerine göre daha düşüktür.

Optimal sıcaklık çoğu *Penicillium* için 25 -30 °C; çoğu *Aspergillus* için 30 -40 °C dir. Max sıcaklık ise *Penicillium* için 28 -35 °C , *Aspergillus* için 37 - 45 °C dir.

Bazı suşlar O °C' nin altında çoğalabilirler bazıları ise min. 10 °C' ye ihtiyaç duyarlar. Yukardaki tablo incelendiğinde *Penisillium*' ların çoğu *Aspergillus*'lara göre daha düşük minimal sıcaklık istedikleri görülmektedir.

Alperden ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada mikotoksin oluşturan suşların bazılarının inkübasyon dereceleri ve süreleri aşağıdaki tabloda gösterildiği şekilde tesbit edilmiştir (12).

Tablo V : Yüksek Derece Mikotoksin oluşturan Suş'lar (25 °C de İnkübasyonda)

Aflatoksin	Süre :	
A. parasiticus	12 gün	Aflatoksin B1 ..... 3,4246 mg/kg Aflatoksin G1..... 0,6800 µg/kg
A. flavus	14 gün	Aflatoksin B1 ..... 7.2464 mg/kg Aflatoksin G1..... 3.143 µg/100gr
A. flavus	14 gün	Aflatoksin B1 ..... 65.5 µg/100gr Aflatoksin G1..... 2.71 µg/100gr
Patulin :		
P. urticae	10 gün	Patulin ..... 405.40 mg/kg
P. expansum	13 gün	Patulin ..... 223.88 mg/kg
Ochratoksin :		
A. ochraceus	11 gün	Ochratoksin ..... 30.60 mg/kg
Aspergillus	12 gün	Ochratoksin ..... 25.00 mg/kg

(Alperden 1978'den alınmıştır).

Mikotoksijenik küflerin gelişmesinde besi ortamının (maddenin) büyük önemi vardır. Buna rağmen bütün besi yerleri mikotoksin için aynı etkiye sahip değildir. Bazı besi yerlerinin mikotoksin oluşumuna etkileri ya çok az ya da hiç yok iken, küf gelişmesine etkileri geniş ölçüde olmaktadır (25).

Küf gelişimi ve mikotoksin üretimini etkileyen faktörlerden bir diğeri ise oksijen ve karbondioksit varlığıdır. Mikotoksin üreten küfler son derece aerobik organizmalar olup bu sebeple oksijene ihtiyaç duyarlar. Düşük oksijen konsantrasyonu ya da diğer gazların yüksek konsantrasyonu küf büyümesi ile mikotoksin oluşumunu engellemektedir (19).

Gıda bozulmalarına yol açan birçok küf türünün % 0,1 -0,2 oksijen içeren veya % 80 CO_2 li atmosferik ortamlarda gelişebildiği bildirilmiştir (56).

Oksijen genellikle fungus gelişimi için gereklidir. Bununla birlikte bazı fungus tipleri ayrıca organik asit ve etanol formasyonu ile birlikte anaerobik koşullarda da gelişebilmektedir. Oksijen ayrıca mikotoksin üretimini de etkiler. Aflatoksin üretimi 02 konsantrasyonu % 1 in altında olduğunda büyük ölçüde sınırlandırılmış olur (64).

Küfler için uygun PH değeri bakteri ve mayalara göre daha asit tarafta bulunmaktadır. Bu değer türlere göre değişiklik göstermesine karşın büyük çoğunlukla küfler PH 2-7.5 arasında etkinlik gösterebilirler (56).

PH faktörünün yanında maddenin bileşimide büyük ölçüde mikotoksin, oluşumunu etkiler. Örneğin aflatoksin oluşumu ortamda aminoasit, yağ asidi ve çinko elementinin varlığı ile stimüle edilir (117). Funguslar enerji ihtiyaçlarını karşılayabilmek ve protein, DNA gibi makromolekülleri yapabilmek için çeşitli besinlere muhtaçtırlar. İnsan ve hayvanların tükettiği gıdaların çoğu gerekli nutrientleri ihtiva ettiği için substrat olarak işlev görebilirler. Küfler çoğalma periyodu sırası ve özellikle bu periyodun sonunda enerji tedariki için gerekli olmayan belirli metabolitleri sentezler. İşte bu sekonder metabolitlerden bazıları mikroorganizmalar için toksiktir.

Küf gelişmesi ve mikotoksin üretimi üzerine etkili olan diğer bir faktörde mikrobiyal yarıştır. Mikrobiyal yarış küf gelişmesi ve mikotoksin üretimini azaltabilir (25). *Aspergillus flavus*'un *A. niger* Van Tieghem ile karışık kültüründe, gelişmesine göre daha az mikotoksin ürettiği ve yerfıstıklarında *A. parasiticus*'la birlikte bulunan bazı laktik asit bakterilerinin de mikotoksin üretimini azalttığı bildirilmiştir. Örneğin ortamda diğer küfler mevcutsa *A.flavus*'un aflatoksin oluşturması azalır (17).

Kuraklık, böcek ve mekanik etkilerin varlığı, *A. flavus* ve diğer küflerin hububat ve fındık gibi ürünlerde kontaminasyon kabiliyetini etkiler. Kuraklık etkisi *A. flavus*'un fındık, mısır, ve pamuk çekirdeğine kontaminasyonu arttırabilir. Bu artışın oluşu ürünün tarladaki hasatından öncedir. Kuraklık etkisi üründe toksijenik küflerin varlığı yanında çürüme artışını da hızlandırır. Genellikle fungal kontaminasyonda ilk vektör böcekler olup, küflerin duyarlı bitki dokularına girmesi sağlanmaktadır. Dolu, hasat sırasında kullanılan malzemeler ve böcek larvalarının ürünlerde verdikleri hasar da küf kontaminasyonunu etkilemektedir (25).

Gıdalara ilave edilen katkı maddeleri (Baharatlar, çeşni maddeleri veya teknoloji gereği katılan katkılar) çoğunlukla küf oluşumunu artırır (80).

Bütün bunlarla birlikte gıda prezervatifleri (sorbik asit, benzoik asit, tuz v.b) küf gelişmesini inhibe edebilirler. Örneğin sorbik, benzoik, propyonik, sitrik, asetik asit gibi zayıf organik asitler ve tuzları küflere karşı kullanılırlar. Ancak yasalar ve tüzükler çerçevesinde insan sağlığına zarar vermeyecek konsantrasyonların kullanılması esastır. Kullanılacak koruyucu madde seçimini ürün karakteristiği de belirler. Ancak bu uygulama bazen toksin üretimini hızlandırabilir (76).

Besinlerin mikotoksinle kontaminasyonu büyük ölçüde mantar üremesine ve toksin üretimine yol açan çevresel şartlara bağlı olmakla birlikte, mikotoksinin varlığının tesbiti için başka faktörlerde etken olmaktadır. Kontaminasyon düzeyini belirleyebilmek amacıyla yapılan araştırmaların başarısı; analizleri yapmada laboratuar imkanlarının varlığı, ve duyarlılığı, analistin yeterliliği, kullanılan örnekleme prosedürleri gibi pekçok faktör tarafından sınırlanır.

1960' ların başlarında aflatoksinlerin keşfinden beri besinlerde ve yemlerde çeşitli mikotoksinlerin oluşumu hakkında çok sayıda yayın yapılmıştır. Muhtemelen hiçbir yenilebilir madde mikotoksin kontaminasyonuna karşı tamamen güvenli kabul edilemez. Tarlada, harmanda, işlemede, depolomada ve emtianın taşınmasında mikotoksin üretimi görülebilir. Bugün kimyasal yapıları büyük farklılık gösteren 200 den fazla mikotoksin bilinmektedir.

Son zamanlarda başta tahıllar ve tahıl ürünleri olmak üzere fındık, fıstık salça süt ve süt ürünleri gibi birçok gıda çeşitleri üzerinde küfler ve metabolitleri toksinlerle ilgili araştırmaların yaygın olarak yürütülmesi konunun önemini açıkça belirtmektedir (12,15,63).

Küflerin oluşturduğu sekonder metabolitlerin muhtemel fonksiyonu hakkında üç farklı fikir vardır (41). Hipotezlerden biri sekonder metabolitlerin oluşumunun substrat tükendiğinde mantarı aktif tuttuğudur, ikinci hipotez anormal ve muhtemelen zararlı maddelerin birikimini önlediğini iddia eder. Üçüncü hipotez ise şudur : Sekonder metabolizma ekolojik sistemlerde selektif bir değere sahiptir. Bazı mikotoksinlerin daha yüksek yapılı hayvanlara,

böceklere ve mikroorganizmalara karşı bir kendini koruma mekanizmasıdır denilebilir.. Laboratuar şartlarında saf kültürün (pure culturing) mikotoksin üretme gücünün ortadan kalkmasına sebep olduğu gösterilmiştir. Bu, doğal düşmanların yokluğuyla açıklanabilir. Bu durum büyük ihtimalle mutasyona ve ortamdan dolayı zayıf toksin üreten suşların seleksiyonuna bağlıdır. Aslında mantarın mikotoksin üretmeye muhtaç olup olmadığı şüphelidir. Çünkü hem toksik hem de non toksik suşlar doğada bir dereceye kadar var olabilmektedir.

İnsan besininde bazı mikotoksinlerin varlığı şunlardan kaynaklanabilir.

a) Tarladaki tarımsal mahsullerin hem maddelerinin, mamul maddelerin ve son ürünlerin direkt fungal kontaminasyonu olabilir. Tarlada bozulmaya bir örnek yer fıstıklarında (pekçok gelişmekte olan ülkede önemli bir mahsül) aflatoksin oluşumudur (52).

b) Hayvansal ürünlerin kontaminasyonu; hayvan tarafından tüketilen yemin kontaminasyonundan kaynaklanır. Yemdeki aflatoksin B_1 ve B_2 hayvansal organizmada metabolize olarak M_1 ve M_2 'ye dönüşür. Bu durum pekçok ülkeyi besinlerde ve hayvan yemlerinde mikotoksin kontaminasyonunu kontrol etmek için yasal yaptırımlar koymaya götürmüştür.

Küflerin en yaygın cinsleri *Aspergillus* veya *Penicillium*'un çeşitli türlerine ait olanlardır.

Ceviz fındık badem gibi kuruyemişlerdeki mikroflora kuruyemişlerin yapılarındaki nisbeten düşük karbonhidrat muhteviyatı ile kombine haldeki yüksek yağ içerikleri nedeni ile tahıllardan oldukça fazla farklılık gösterir. Bu gıdalarda üreyebilen en önemli fungus çeşitleri *A. flavus*, *A. versicolor*, *P. citrinum*, gibi çeşitlerdir. Toksin çeşitleride aflatoksin, sterigmatocystin, citrinindir (95).

Tablo VI : Bazı mikotoksinler, bunları sentezleyen küfler ve sorun yarattıkları riskli gıdalar

Mikotoksinler	Küfler (Cins / tür)		Riskli gıdalardan örnekler
Aflatoksinler	Aspergillus flavus * A. parasiticus		Yerfıstığı, Antepfıstığı, pirinç, kahve, kakao, soya ve ürünleri, süt ve süt ürün. zeytin, incir, ceviz badem, kestane, K. biber.
Citrinin	*Penicillium citrinum**	*P.notatum*	Buğday, çavdar, arpa, pirinç, darı, peynir. baklagil, yulaf, hamurlu ürünler, yerfıstığı, un
	*P. viridicatum**	*P. palitans*	
	P.citreo-viride	*P. steckii*	
	P.expansum	*P. corylophilum*	
	P.fellutanum	*Aspergillus candidus*	
	P.implicatum	*A. niveus*	
	P.jensenii	*A.terreus*	
	P.lividum		
	P.canescens		
Ochratoksin	*Aspergillus ochraceus **	*P.variable*	Mısır, arpa, çavdar, buğday yerfıstığı, fındık, narenciye kahve, kakao, soya, peynir pamuk tohumu, Brezilya fındığı tütün
	A.melleus	*P.verrucosum*	
	A.sulphureus	*P.palitans*	
	*Penicillium viridicatum**		
	P.cyclopium		
Penisillik asit	*Penicillium cyclopium**	*P.roqueforti*	Mısır, bakliyat, meyva peynirler.
	P.aurantio-virens	*P.simplicissimum*	
	P.baarnense	*P.stoloniferum*	
	P.fenneliae	*P.viridicatum*	
	P.janthinellum	*Aspergillus ochraceus*	
	P.lividum	*A.alliaceus*	
	*P.martensii**	*A.melleus*	
	P.palitans	*A.sclerotiorum*	
	P.puberulum	*A.sulphureus*	
	P.thomii		
	P.verrucosum		
	P.piscarum		

* Toksini en çok üreten küf türü
(Ayata 1993 'den alınmıştır).

2.1.3. Mikotoksin Zehirlenmeleri

Funguslar, insanlara ve hayvanlara esasen kendi metabolik ürünü olan mikotoksinler ile zarar vermektedir. Vejetatif formlar ile funguslara ait sporlar toksinleri direkt olarak salgılayabilirler. Bilinen mikotoksinler arasında en önemlileri, *Penicillum* , *A. calavatus* ve *P. expansum*'dan elde edilen ve 1 : 800 000 kadar düşük yoğunlukta bile lökositler üzerinde toksik etkisi olan patulin, domuzlarda kanamaya yol açan ve *Fusarium tricinctum*'dan elde edilen bir toksin olan diacetoxyscirpenol; *Aspergillus oryzae*'nin toksini olan 1 - (4 - pentenoyl) - 2,3,6 trihydroxybenzene ve özellikle *Aspergillus flavus* tarafından üretilen aflatoksinlerdir.

Mikotoksinlerin metabolizmadaki protein sentezini ve büyümeyi inhibisyonu, yine önemli etkilerindendir. Ayrıca kısa dönemlerde gözlenemeyen ancak mikotoksinlerin vücuttaki kümülatif (birikme) etkilerine bağlı olarak ortaya çıkan ve zaman içinde kendini gösteren zararları da sözkonusudur (28).

Mantarlar insanlarda değişik şekilde hastalık meydana getirirler. Bunların içinde mantar çeşitlerinin oluşturduğu entoksikasyonları sayabiliriz.

Küf zehirlenmesinin belirtileri her zaman bir sonuca varacak kadar spesifik değildir.

Semptomlar ve seyirleri ;

- Canlının fungal zehirlenmeye karşı duyarlılığına,

- Fungusun organizma içine hangi yoldan girdiğine (barsak veya solunum yoluyla).

- Bulaştığı canlının yaşı ve bünyesine ,

- İnsan tarafından tüketilen küflü gıdanın miktarına bağlıdır.

Ayrıca zayıf bünyeli, çok genç, çok yaşlı ve hamileler küf zehirlenmesine karşı daha duyarlıdır.

Mikotoksin toksisitelerinin kişilerin malnütrisyon ve stres durumlarına bağlı olarak arttığı veya etkinliklerinin hızlandığı da saptanmıştır. Hassasiyet ilerleyen yaşla da değişebilmektedir, ki bu

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

durumun özellikle aflatoksinde artan yaşa göre azalan hassasiyet gösterdiği belirlenmiştir (120). Çeşitli toksik küflerin birçok canlı için oluşturdukları lezyonların boyutları, alındıkları doz, süre ve alınma sıklığına bağlı olarak belirlenmekte ve zaman zaman öldürücü etkiler yapabilmektedir.

Küf zehirlenmesinin yol açtığı bozukluklar 3 grupta toplanabilir:

1. Mide - barsak ve idrar yollarındaki değişiklikler,

2. Sinir sistemi bozuklukları,

3. Allerjik reaksiyonlar (120).

Küf zehirlenmesinin ilk belirtileri, karında şişkinlik ile birlikte akut mide - barsak iltihabı, kanlı ve sulu ishal veya umumi kabızlıktır. Merkezi ve çevresel sinir sistemi görevlerinde bozukluklar atraksi ile genel felç veya saldırgınlık nöbetleri şeklindedir.

Küf zehirlenmesinden ileri gelen allerjik reaksiyonlara fungal sporların sebep olduğu sanılmaktadır. Bu reaksiyonların bazı karakteristik özellikleri arasında; burun ve yutak mukozasının tahrişi, solunum sisteminin iltihaplanması, akut akciğer ödemi ve anfizemi ile birlikte gelişen şok durumları sayılabilir.

Akut küf zehirlenmesi (eğer öldürücü değilse) genellikle ikinci derece bakterial enfeksiyonlar, gelişme bozukluğu, kilo kaybı, gebeliğin ikinci yarısında düşük gibi arazlar tarafından izlenir.

Mikotoksinler genellikle bitkilerden yada ürünlerdeki kontaminasyonla oluşur. Mikotoksinler bugüne kadar bitkilerde gösterildiği halde bugün sıcak kanlı hayvanlarda da gösterilmiştir. Böylelikle eksojen ve endojen olarak insanlarda mikotoksinler hastalık yapabilir.

Doğadaki maddelerin substrata dönüşümü mikroorganizmalardan ayrı düşünülemez. Bu değişim herzaman organik karbona dönüşmez. Bu dönüşüm sırasında ayrıca insan sağlığını tehdit eden metabolitler de ortaya çıkar. Bunlar arasında mikotoksinleri örnek göstermek mümkündür. Mikotoksinler yüksek zehirli ürünlerdir. Bunlar genellikle kültür bitkilerinde meydana gelir ve insan vücuduna zaman zaman bitkisel besinlerle geçer.

Ayrıca hayvansal ürünlerle de geçebilir. Buna ilaveten kuşlarda kanıtlandığı gibi hayvansal hücrelerden de geçebilir.

İnsanlar hem toksinle kontamine gıdaları alarak hem de inhalasyon veya cilt teması yoluyla mikotoksinlerle karşılaşabilirler. İnhalasyon yoluna bir örnek olarak fabrikalarda yerfıstığı ve diğer yağ tohumlarının yağa işlenmesi sırasında (oil - mill crushing) burada çalışan işçilerin birkaç yıl boyunca aflatoksin yüklü küçük toz partiküllerini inhale etmeleri sonucunda bu işçilerin çeşitli organlarında kanser geliştiğini bildiren Van Nieuwenhuize 'nin gözlemleri verilebilir (41). Yine de en önemli yol kontamine besinlerin tüketimi yoluyla vücuda alınmasıdır. Bu nedenle mikotoksinlerle kontamine olan besin maddelerinin risklerinden de söz etmek yerinde olur. Genelde bitkilerle alınan mikotoksin miktarı bir insanda intoksikasyon meydana getirmeye yeterli değildir. Çünkü bunun için kg başına miligram dozunda mikotoksin lazımdır. Mikrogram düzeyinde olanlar yaşayan hücrelerde karbonhidrat, protein ve lipid değişimini ve mitokondrial nükleik asit sentezini bozar (59).

Mikotoksinler toksik etkilerinden dolayı bunların besinlere kontaminasyonu araştırılmıştır.

Aflatokxin
Ocratokxin A
Zearalenone
Deoxynivalenol

→ *Aspergillus*
→ *Penicillium* dan
→ *Fusarium*'dan oluştuğu tesbit edilmiştir.

Yapılan araştırmaların sonucunda yiyeceklerdeki aflatoksinler kanıtlanmıştır. Diğer mikotoksinler aflatoksinlerden daha az toksik olmadığı halde kanıtlanmış bir şey yoktur.

Mikotoksinlerin insan ve hayvan bünyesinde oluşturdukları toksik etkilere karşın bitkiler mikotoksinlere karşı savunma mekanizmaları geliştirirler; savunma maddeleri salgılarlar (B. Phytoalexinen, Lektinen gibi). Bitkinin ayrıca transformasyon özelliği vardır. Yabancı maddeleri glikozla nötralize eder. Bunun için bitkilerde tam olarak gerçek toksin miktarı belirlenemez (45). Mantarların salgıladığı toksik ürünler doğadaki hayvanlara toksiktirler. Çünkü onların savunma mekanizmaları yoktur.

Mikotoksinlerin bitkilerde, hayvanlarda ve mikroorganizmalarda davranışları onların bütün insanlara olan riskini belli etmez.

Kuş organizmaları *Aspergillus* için çok iyi bir ortam oluştururlar. Araştırılmış hayvansal vakaların % 4'ünde bahçelerdeki ve doğadaki kuşların öldükten sonra akciğer dokusundaki *Aspergillus (A. fumigatus)* ortaya çıkarılmıştır. Bunlar karaciğer ve böbrek bozukluklarına neden olurlar. *Aspergillus*'un mevcut olduğu toksik hücre membranlarında enterobakterilere ait lipopolisakkarit - protein - komplekslerine rastlanmıştır. Ayrıca aflatoksin B1 ve B2 ile gliotoksine de rastlanmıştır. Gliotoksin, incelenen 12 veya 17 vakada 0,1 - 4,5 mg/kg arasındaki konsantrasyonlarda ölçülmüştür (47).

Gliotoksinler ve metabolitleri sitotoksiktir. Mikotoksinlerin immun supressiva etkileri vardır. Ayrıca mikotoksinler sistemik etkide tek organ değil birden fazla organ tutarlar. Kuşlarda etkili olan mikotoksinler insanda da etkili olabilir. Aynı mikotoksinler insanda bitkilerde ve hayvanlarda hastalık oluşturur. Ancak bitkilerde buna karşı savunma mekanizmaları vardır. İnsanlarda ve hayvanlarda savunma mekanizması oluşmadığı için mikotoksinler uzaklaştırılamaz.

Mikotoksikoziz insan ve hayvanlarda toksik küf metabolitlerinin gıdalarla alınması ile ortaya çıkan toplu zehirlenme ve hastalıkların insan sağlığında küflerin etkisiyle gelişen rizikoları tahmin edebilmek için mikosisler ile mikotoksikozları birbirinden ayırmak gerekir. Mikotoksikozlar, mikotoksinlerle toksikasyon sonucu gelişen hastalık ve bozukluklardır (28). Küflerle direkt temas (kontakt) suretiyle beliren mikozislere benzemezler. İnsan mikozlarının yapısı genel de kozmopolittir. Dermatofitlerin bir kısmı ölçülü seviyede toprakta bulunurlar (Geophyl tip), uzun ömürlüdürler ve toprakta gelişirler. Diğer bir kısmı sadece hayvan (zoophyl tip) veya insan ve hayvanda müşterek rastlananlar, veyahutta sadece insanda hastalık yapanlar (Antrophyl tip) vardır.

Bilindiği gibi mikotoksinler küf mantarlarının madde değişimi sekonder bileşiklerdir. Gıda ve yemlerde birinci derecede *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* sınıfında çeşitli küfler tarafından oluşturulurlar.

Küf toksinleri üzerine bilgiler yönünden daha gerilere gidersek ; *Claviceps purpura*'nın ürettiği Ergot alkoloidleri dikkatimizi çeker. Bilhassa Birinci Dünya Savaşı öncesinde dünya üzerinde önemli olaylara neden olan bu küf toksini artık o günkü korkulu durumda değildir ve tıpta çeşitli ilaçların esasını oluşturmaktadır. Son yıllarda Avrupa'da gıdalarda yeniden sorunlar yaratma eğilimi belirlenmektedir. Aslında bir bakıma mikotoksinler üzerine bilgiler daha da eskiye dayanmaktadır.

Küf mantarları geliştikleri besi ortamına göre değişik yapı ve karakterde bileşikler oluşturmalarıyla, bakterilere benzemeyen bir durum gösterirler. Tanınan en şiddetli toksik madde ve bileşikler içinde ön sırada mikotoksinler yer alır. Akut çeşitli toksisiteleri yanında bir kısmı kanserojen, teratojen, mutajen karakterlidir. Mikotoksinler akut toksisitesi çeşidine göre değişik semptomlarla kendisini gösterir. Etkilerine göre bir özetleme yapılarak önemli mikotoksinler ve sebep oldukları mikotoksikozlar aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir.

Tablo VII. Bazı Mikotoksinlerin insan sağlığı üzerinde yaratabileceği riskler :

Mikotoksin	Mikotoksikozis	Referans
Aflatoksin	Aflatoksikozis,Ensefalopaty, karaciğerde yağ dejenerasyonu, karaciğer tümörü, immunosuppression, Hindistan çocukluk çağı sirozu , Rey's sendromu	Dennig (1987)
Fusarium metabolitleri	Akakabi -bio hastalığı	Yoshizawa (1983)
Ochratoksin	Balkan nefropaty Böbrek tümörleri	Krogh (1987)
Citreoviridin	Kardiak beriberi	Uraguchi ve Yamazaki (1978)
Zearalenone	Servikal kanser	Martin ve Keen (1978)
Ergot alkoloidleri	Ergotism	Matossian (1989)
F. equiseti metabolitleri	Kashin-Beck hastalığı	Yu and Chu (1991)
Aflatoksin	Kwashiorkor	de Vries ve ark.(1990)
Amotoksin, agaritine, amanitin, phallotoksin	Mantar zehirlenmesi	Lampe (1983)
F.monili forme metabolitleri	Özafagus kanseri	Marasas ve ark.(1988).
T-2 toksin	Pellegra	Schoental (1980)
Zearalenone	Prematüre doğum	Rodriguez (1984)

(Pohland 1993'den alınmıştır).

Tablo VIII. Doğal Mikotoksikoza Sebep Olan Bazı Mikotoksinler :

Mikotoksinler	Toksik Küf	İnsan ve Hayvan duyarlılığı	Biolojik Etki
Aflatoksin	*A. flavus* *A.parasiticus* *A.nomius*	İnsan, sütemen memeliler, kanatlılar, Balıklar.	Hepatotoksik
Citrinin	*P. citrinum* *P. viridicatum*	Domuz, insan ?	Nefrotoksik
Ochratoksin - A	*P. viridicatum*	Domuz, insan	Nefrotoksik
Penitrem - A	*P. palitans* *P. crustosum*	Sığır, at, koyun	Tremor, konvulsion
Psoralene	*Sclerotinia Sclerotirum*	İnsan	Dermatoksik
Scaframine	*Rhizoctonia Leguminicola*	Sığır	Exessivite (tükrükte)
Sporodesmine	*Pithomyces chartarum*	Sığır, koyun	Hepatotoksik, facial egzama
T- 2 Toxin	*F. tricintum*	Sığır, insan	Deri nekrozu hemoraji
Zearalenon	*Gibralle zea* *Fusarium tipleri*	Domuz, diğer ?	Vulvavaginitis abortus
Vomitoksin	*F. graminearum*	Domuz, insan	Kusma

(Alperden 1985'den alınmıştır).

Aflatoksin *A. flavus* dışında *A. parasiticus* ve *A. nomius* tarafından da üretilmektedir (109).

Mikotoksinlerin bir kısmı ağız yolu ile alındığında kanserojen etkiler gösterir. İnsan ve evcil hayvanlarda meydana getirdikleri hastalık belirtileri gözönüne alınarak etkilediği organ ve doku ile günlük dozlar aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Tablo IX : Ağızdan Alınmasıyla Kanserojen Etki Geliştiren

Mikotoksinler	Doğal bulunuşları	Etkilediği organ ve doku	Günlük doz
Aflatoksin B1	+	Karaciğer, böbrek trake, subkutan	0.5 - 1.5 Ratlar (sıçanlar)
Aflatoksin G1	+	Karaciğer, böbrek mide, derialtı dokusu	1 - 3 Ratlar (sıçanlar)
Sterigmatosistin	+	Karaciğer	30-100 Ratlar (sıçanlar)
Patulin	+	Derialtı, dokusu	
Rugulosin	+	Karaciğer	200 fare
Griseofulvin	+ ?	Karaciğer	5000 - 10 000 fare

(Alperden 1985'den alınmıştır).

Mikotoksinler arasında en fazla toksik etkiye sahip olan aflatoksinler doğada yaygın olarak bulunan *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* küflerinin metabolitleri olup kanserojen etkileri de söz konusudur. Diğer önemli bir mikotoksin olan okratoksin A da nefrotoksik özellikte olup *Aspergillus, Fusarium, Ochraceus* ve *Penicillium* türleri tarafından üretildiği bildirilmiştir (66).

Toksijen küflerin nem ve sıcaklık istekleri farklı olduğundan mikotoksin oluşumunda değişik iklim kuşakları önemli rol oynar. Örneğin aflatoksin üreten küfler dünyanın her yerinde gelişebilmekte ancak aflatoksin oluşumuna tropikal ve subtropikal iklim kuşaklarında sıklıkla rastlanmaktadır. *Penicillium* küfleri ve toksinleri daha çok ılıman bölgelerde *Fusarium* küfleri ise soğuk bölgelerde özellikle de soğuk şoku geçiren ürünlerde görülmektedir.

2.1.4. Aflatoksin Üreten Aspergillus'lar

Aflatoksini oluşturan *Aspergillus* sınıfı küfler *A. flavus A. parasiticus ve A. nomius* türleridir. Erken dönemde tanınan önemli bir toksijenik küf olan *A. flavus* depolama florasının bir parçasıdır ve örneğin yer fıstığında yetersiz hasat sonrası depolamada, ürünlerin dağıtımı sırasında uygun olmayan şartlarda aflatoksin problemini gözönünde tutmak gerekir.

İlk defa *Aspergillus* ismi 1729'da Micheli Corda tarafından kullanılmıştır. 1926 da Thom ile Church ve 1945 'de Thom ile Raper bu gruba Ascosporik safha üretsin veya üretmesin hepsine birden *Aspergillus* adını vermişlerdir.

Aspergillus türleri çevrede yaygın olarak bulunan mantarlardır. *Aspergillus*'ların bazı türleri gıda katkılarında ve gıda üretiminde yoğun olarak kullanılmaktadır. A. niger Van Teighem, sitrik asit üretiminde, birkaç türü ise enzimlerin endüstriyel olarak üretiminde kullanılır. Birçok türleri fırsatçı patojen olup vücut direnci düşük kişilerde aspergiloz yaparlar. *Aspergillus*' ların birkaç türü hayvan vücudunda gelişerek patojenik etki oluştururlar. Daha ziyade geniş bir organik substratlar yelpazesinde gelişebilen saprofittirler. *Aspergillus*'lar mikroorganizmaların istilasına müsait şartlar taşıyan ortamlarda depolanan bitkisel ürünler üzerinde gelişebilen küflerdir.

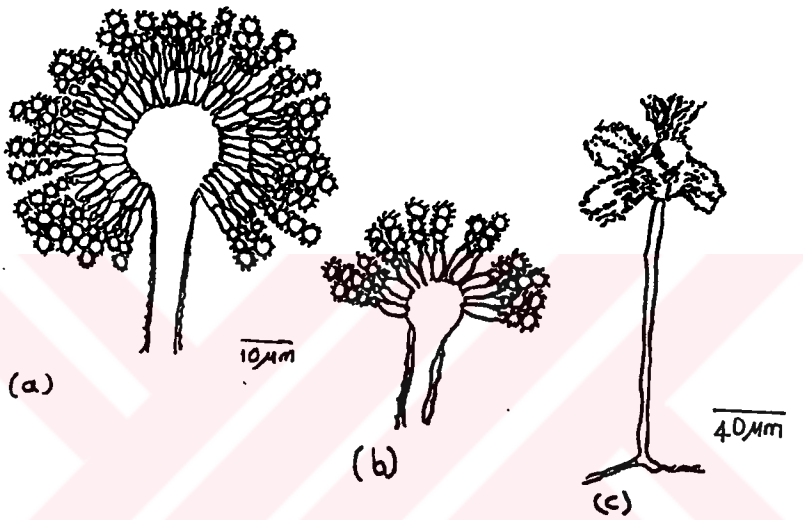
Aspergillus'ta vegatatif miselyum septalı dallanmış hiflerden ibarettir. Lokalize olmuş olanlar renksiz, açık renekli veya birkaç formda olduğu gibi yavaş yavaş kahverengileşen veya başka türlü renklidir. Ayak hücresinden (= foot cell) conidioforlar gelişir. Conidioforlar septalı veya septasız olabilir. Conidiofor yukarı doğru genişleyerek fertil vesicülü verir. Fertil vesicüller fetil hücreleri veya sterigmatayı taşır. Sterigmata ya paralel yada salkım şeklinde terminal gruplar halinde olabilir. Tek serili sterigmalar uniseriate 2 serililere de biseriate denir.

Her 2 küf mantarıda (*A. flavus, A. parasiticus*) yuvarlak kafa yapısı gösterirler. Yalnız tipik olarak olgunlaşmışlarda *A. flavus* da sterigmalar 2 serilidir ve konidiler bunun ucunda meydana gelir. *A. parasiticus*'ta sterigma tek serilidir. Fakat geçit kültürlerde veya genç kafalarda *A. flavus*'da tek serili sterigma görülür. Çok yaşlı *A. parasiticus*'larda 2 seri halinde sterigma görülür.

Yüzeyi pürtüklü veya dikensi çıkıntılı konidiofor tüm kesecik yüzeyini kaplayan ve tüm yönlere uzanan sterigmata ve pürtüklü yüzeyli konidiumların yaptığı zincirler mevcuttur.

Sterigmalar ucunda oluşan konidiumlar değişik renklerde, değişik biçimde ve ölçüde olabilir.

Konidiumlar dallanmış zincirler halinde tertip edilmiş, küre şeklinde ışınsal (Radial) clavat veya kompakt sütunlar halinde conidial başları oluştururlar. Bazı gruplarda ascocarplar bulunur. Birçok türlerde Ascocarp bilinmez.



Şekil 2 : *A. flavus* genellikle biseriate conidial başlar oluşturur.

(Kroghl 1987 'den alınmıştır).

(a) daki şekilde olduğu gibi üniserite başlar.

(b) olgunluk döneminde biraz düzensiz ışınsal koloniler halinde spor yığınları oluşur.

(c) Karakteristik ayak şekli yapısına bağlı olarak septasız konidioforun miselyuma bağlandığı not edilir.

Besi yerlerinde koloni renkleri beyaz, sarı, sarı - kahverengi, kahverengiden siyaha kadar ve yeşil tonlarındadır.

Roper ve Fennell'e göre *Aspergillus*'un 18 grubu 132 türü ve 18 varyetesi vardır. *Aspergillus*'lar genellikle değişik substratların kontaminantlarıdır. Tropikal ve subtropikal bölgelerde aspergillusların ortaya çıkması *Penicillium*'lardan daha yaygındır. Bu yüzden dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerinde ürünlerde oluşan toksinin aspergillus türleri tarafından üretilmesi bununla bağlantılıdır (60).

Toksin oluşturan türlerin *A. flavus* ve *A. parasiticus* olduğu ve bunların aflatoksini sentezlediği bilinmesine rağmen uzun zamandır bilinmekte olan mikotoksinlerden ilk tanınanı *Claviceps purpurea*'dır. Bu küf ile kontamine olmuş tahıl tüketiminin yol açtığı ortaçağ Avrupasında "Kutsal Ateş" adıyla bilinen, nekroz ve gangren ile karakterize bir hastalık olan ergotizimdir.

Toksijenik potansiyele sahip *Aspergillus* türleri ve bunların geliştikleri ekolojik koşullar ile *Aspergillus* türü toksik küflerin mikotoksinleri ile mikotoksikozları aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir.

Tablo X: Aspergillusların toksijenik potansiyeli ve ekolojisi

Grup	Genellikle yaygın olduğu ekoloji	Potansiyel toksik metabolitleri
A. clavatus	Toprak, çürümüş organik materyal, hayvan gübresi, alkali - tolerant.	Patulin, ascladiol, cytochalasin E, trytoquivaline
A. glaucus	Düşük aw, organik materyal, depolanmış tohum ve tahıl, işlenmiş ve tuzlanmış et ürünleri.	Echinulin, xanthocillin x, gliotoksin
A. restrictus	Düşük su aktiviteli substratlar	----------
A. candidus	Toprak, depolanmış hububat ve un	Chlorflavonin, terphenylin
A. ornatus	Toprak	-------
A. cervinus	Tropikal toprak	-------
A. fumigatus	Çürümüş organik materyal, atılmış yiyecekler, kuş ve memeliler için olan patojenler.	Viriditoxin, gliotoxin, Fumitremorgin A, B, fumagillin.
A. ochraceus	Topraklar, çürümüş bitkiler, tahıl, hastalıklı hayvanlar	Ochratoxins, penicillic asid, destruxin B
A. niger	Özellikle tropik bölgeler olmak üzere bütün dünyada	Oksalik asit, Malformin
A. flavus	Tropikal ve subtropikal topraklar, bitkisel ürünler, böceklerin patojenleri	Aflatoksinler, kojik asit, maltoryzine, aflatrem
A. wentii	Topraklar, rutubetli tahıl	-------
A. cremeus	Subtropikal topraklar	-------
A. sparsus	Tropikal ve subtropikal topraklar	-------
A. versicolor	Toprak, çürümüş bitkiler, olgunlaşmış peynirler, işlem görmüş etler.	Sterigmatocystin, sterigmatin, versimide nidurufin, cyclopiazonic asit
A. nidulans	Sıcak, subtropikal ve bozkır topraklar, kuş ve memeliler için olan patojenler	Emerin, sterigmatocystin, nidurufin.
A. ustus	Topraktaki kozmopolitler	Austocystins, austdiol, austamide.
A. flavipes	Verimli topraklar, çürümüş bitkiler	--------
A. terreus	Ilık işlenebilir topraklar, depolanmış tahıl, atılmış yiyecekler	Aranotin, gliotoksin.

(Krogh 1987'den alınmıştır.)

Tablo XI: Morfolojik sınıflamalarına göre riskli gıdalardaki en önemli toksik küfler ve bunların mikotoksinleri ile mikotoksikozları

Morfolojik özelliklerine göre Aspergillus türleri	Toksinleri	Toksinlerin etkin olduğu Canlılar	Organlar	Toksikozları	Riskli gıdalar
I. GRUP Yalnız phialide içeren baş yapısına sahip olanlar:					
A. clavatus	Patulin (klavasin + klaviformin)	memeliler	merkezi sinir sistemi	Sinirsel tahribatlar (neurotoksikozis), tremorgenik	arpa maltı, pirinç, sorgum maltı, ceviz
A.glaucus	antraquinonlar, aflatoksinler	çeşitli hayvan ve insanlar	karaciğer	karaciğer kanseri	
A. fumigatus	gliotoksin, fumigatoksin, fumitremogen A ve B	kuşlar ve memeliler	merkezi sinir sistemi, kan dolaşımı sistemi, solunum sistemi ve cilt, böbrek	öldürücü hastalıklar, kanamalar, sinirsel, ciltte ve solunum sisteminde tahribatlar (neurotoksik, hematoksik histotoksik)	tahıllar, yemler, ayç.
II. GRUP Phialide ve metula yapısını birlikte içeren veya yalnız phialide'li başa sahip olanlar :					
A. candidus	sitrinin, B-nitropropionik asit, kandidul'in, kojik asit	memeli ve kanatlılar	böbrek	böbrek sistemi bozuklukları (nefrotoksik)	sorgum, un, tahıllar yerfıstığı, hamurlu ürünler vs.
A.niger	(çok toksik değil) 13 sp. den sadece 1'i malformin, oksalik ve kojikasit üretir.				bütün tarımsal ürünler
A. ochraceus	Ochratoksin A ve B penisillik asit ve sekalonik asit	domuz, sığır, koyun ve insanlar	böbrek	nefrotoksik	arpa, buğday, ayçiçek pirinç, diğer tahıllar biber ve ceviz
A. flavus grup	aflatoksin B,G, ve M kojik asit, B-nitropropionik asit, aspergillik asit, aspertoksin, flavutok	insan, kanatlılar, domuz, sığır, sıçanlar	karaciğer, beyin	hepatit, siroz, reyes sendromu, beyin anomalisi, hepatom kanseri	fındık, tahıllar, havuç, baklagiller kakao, yerfıstığı kahve, yem ve süt.ürün
III. GRUP Baş yapısında mutlaka metula ve phialide'leri birlikte bulundurarılar:					
A. versiculer	sterigmatosistin (kumarin) ve ochratoksinler	insan hayvanlar	sindirim sistemi	hepotom	Sert peynirler, tahıl. baklagiller, ayçiçeği kahve
A. nidulans	sterigmatosistin ve nidulotoksin	insan hayvanlar	sindirim sistemi, karaciğ.	hepotom	Sert peynirler, tahıl. baklagiller, ayçiçeği kahve
A. ustus	austosistin, austamid, austdiol				
A. flavipes	sitrinin	memeliler ve kanatlılar	böbrek	nefropatik	
A. terreus	patulin, sitrinin, terreik asit	insan ve hayvanlar	sinir sistemi, böbrek	ödem, neurotoksik	mısır,arpa,ot,saman silaj pırınç,yerfıstığı

(Ayata 1993'den alınmıştır).

2.1.5. Aflatoksinler ve Özellikleri

Mikotoksinler uzun zamandır bilindiği halde mikotoksikozlar 1960'ların başlarına kadar "İHMAL EDİLEN HASTALIKLAR " dı. Büyük Britanya'da "Hindi X Hastalığı " nın patlak vermesiyle bu tavır değişmiştir. Birkaç ay içinde 100 0000 den fazla hindi bu olay sonucunda ölmüştür. Hindi X Hastalığı'nın (Turkey - X Diseases) ortaya çıkışı, problemin sebebini bulabilmek için multi disipliner bir yaklaşımın oluşmasına yol açmıştır. Çabalar başarıya ulaşmış; hastalık sebebinin kümes hayvanlarının ithal edilmiş yemlerinde protein kaynağı olarak kullanılan Brezilya yer fıstığı yemeğindeki (Brazilian groundnut meal) bir toksik faktör olduğu anlaşılmıştır. Toksik faktörün 3 mantar tarafından üretildiği görülmüştür. *A.flavus* *A. parasiticus ve A. nomius* (109). .

A. flavus ismindeki 2 kelime kullanılarak bu küfün ürettiği toksine ortak bir isim bulunmuş, aflatoksin adı verilmiştir (97).

Aflatoksinlerin varlıkları her ne kadar ilk olarak İngiltere'nin güneyinde yüzbinlerce hindinin toplu alde ölmesi ile anlaşılmış ise de bu durum aflatoksinin daha önceleri olmadığı anlamına gelmemektedir. Muhtemelen özellikle tropik koşullarda *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un toksijenik ırkları asırlardan beri aflatoksin oluşturmaktaydı. Bu koşullarda yaşayan hayvanlar ya aflatoksikoza karşı bir duyarlılık oluşturmakta, ya mantarla en az bulaşık yemleri tükettiği için yaşamakta, aksi durumda da ölmekteydi. Sonuçta bazı yıllar çoğalarak doğal bir dengeye ulaşıldığı varsayılmaktadır.

Ülkemiz açısından ilk sorun 1967 yılında Kanada'ya gönderilen 10 ton iç fındığın aflatoksin içerdiği gerekçesiyle geri çevrilmesi ile bu konudaki çalışmalar başlamıştır. Ayrıca 1971 yılında A.B.D. ye gönderilen yer fıstıklarının, 1973 - 1974'de yine aynı ülkeye gönderilen fındıkların, aflatoksin içerdiği gerekçesiyle geri çevrilmesi ülke ekonomisi açısından büyük kayıp olduğu gibi sağlık yönünden de üzerinde önemle durulması gereken bir sorun olmuş ve bugüne kadar aflatoksin üzerine çeşitli gıdalarda, özellikle uluslararası ticareti yapılan ürünlerde araştırmalar yapılmıştır.

Toksik faktörle ilgili sonraki çalışmalar materyalin kromotografik olarak 4 ayrı noktaya ayrıldığını göstermiştir. Bu 4 komponent floresans renklerine ve rölatif kromotografik mobilitelerine göre aflatoksin B1, B2, G1 ve G2 olarak adlandırılmıştır.

A. flavus tarafından yalnız aflatoksin B1 ve B2 üretilmesine karşın, *A. parasiticus* tarafından Aflatoksin B1 ve B2' nin yanısıra G1 ve G2 bileşikleride üretilmektedir.

Sütlerde bulunan aflatoksin M1 ve M2, aflatoksin B1 ve B2'nin 4 - OH türevleridir. Bu konuda Mısır'da yapılan bir araştırmada 24 saat süreyle aflatoksinli yemle beslenmiş süt veren keçilerin feçes, süt ve plazmalarında B1, B2, G1 ve G2 bulunmuştur. Besleme periyodunda, vücut ağırlığı ve süt verimi önemli oranda azalmıştır. Aflatoksin kontaminasyonu sütün besleyici değerini düşürmüş, yoğunlaştırmış ve ayrıca süt tozu üretimi ve peynir işlemi için uygunluğunu etkilemiştir. Aflatoksin kontaminasyonu protein sentezinde kalitatif ve kantitatif değişimlerede sebep olmuş; çiftlik hayvanlarının et ve sütlerinin protein içeriklerinde azalma, kümes hayvanlarının kas dokuları ve ciğerlerinde protein sentezi düşmüştür (100).

Kültür extraktlarından alınan örneklerine ince tabakada 365 nm dalga boyunda bakıldığında 4 ayrı madde saptanmıştır.

Blue B1 Green G1

Blue B2 Green blue G2

Aflatoksinler ultra viyole ışık altında ışıma yaptıkları renge göre isimlendirilmekte ve mavi ışıma yapanlar B, yeşilmesi mavi ışıma yapanlarda G2 ile gösterilmektedir. Daha çok sayıda aflatoksin olmasına rağmen en önemlileri B1, B2, G1, G2, M1, M2, GM, GM2, M2a, GM2a, Ba, Q1, P1, aflatoksikol ve dihidroaflatoksikol ' dür. Bunlar içinde ilk dördü (B1, B2, G1, ve G2) diğerlerine göre çok daha yaygın olarak ve genellikle birlikte bulunur. Kültür filitratlarında en çok B1 ve G1 görülür. B2 (C17 H14 06), B1 (C17 H12 06) in; G12 (C17 H14 07) ise G1 (C17 H17 07) in dihidro türevidir. M grubu aflatoksinler ise ilk olarak isimlendirilmişlerdir. Ancak sütten başka vücutta safra salgısında, idrarda da saptanmıştır. Aflatoksin M 'lerin ortak özelliği, hidroksil grubunun son furan halkasında C-2 pozisyonunda olmayıp C-4 pozisyonunda olmasıdır. Görüldüğü gibi alfatoksinlerin temel yapıları benzemekle birlikte birleşimlerindeki küçük farklılıklar toksisiteleri üzerinde etkili olabilmektedir.

Alfatoksin B1 (AFB1) normal olarak daha yaygın olarak bulunur ve çok toksiktir. Alfatoksin M1 AFB1'in toksik metabolitidir. Bu mandıra sığırlarının sütlerinden ve alfatoksin kontaminasyonuna maruz kalmış gıdaları tüketen memeli türlerinden elde edilmiştir (90).

Aflatoksinler toksisiteleri açısından sıralandığında şu sırayı takip eder.

B1 > M1> G1 > B2 > M2 ≠ G2 (54).

Alfatoksinler süt veren bünyesinde değişikliğe uğrayarak süt toksini denilen M1 ve M2 ye dönüşmektedir. Aynı durum et yumurta gibi hayvansal ürünler içinde geçerlidir. Böylece bu hayvansal ürünler küf mantarı ihtiva etmediği halde mikotoksin ihtiva etmiş olur. En güçlü mikotoksin olan AFB1'in inek tarafından, sütte görülen 4 - hidroksi türevi alfatoksin M1'e dönüştüğünün bulunmasından beri süt ürünlerinin kontominasyonuna büyük bilimsel dikkat harcanmıştır. İneklerle yapılan deneyler göstermiştir ki aldıkları alfatoksinin yaklaşık % 1 -4 'ü sütte alfatoksin M. olarak görülmektedir. M1' in karsinojenik özellikleri olup olmadığı belirsizdir. Ayrıca alfatoksinlerin diğer metabolitleri aflatoksin Q1, aflatoksin P1, aflatoksin Ro (alfatoksikol), aflatoksin D1, aflatoksin B2, aflatoksin G2a olarak literatürde yer almaktadır (72).

Daha sonradan yapılan çalışmalarda aflatoksinler grubunun birbirleriyle yakın ilişkili en az 17 maddeden oluştuğu açığa çıkmıştır. Bu maddelerin bazıları sığırlar tarafından yenen yemdeki mikotoksinler yoluyla hayvan ürünlerinde bulunabilmektedir. Sadece yüksek dozlardaki akut toksisiteleri değil, aynı zamanda güçlü karsinojenik özellikleri sebebiyle aflatoksinler insan ve hayvanlar için çok tehlikelidir. Epidemiyolojik kanıtlar, düzenli olarak aflatoksinle kontamine olmuş gıdaları tüketenlerde karaciğer tümörlerinin daha yüksek insidans gösterdiğini belirtmektedir.

Hindi X hastalığının patlak vermesini takip eden 20 yıl içinde aflatoksinler hakkında çok miktarda bilgi üretilmiş, çok sayıda mantar türünün mikotoksin üretebildiği açığa çıkmıştır. Aflatoksin B1 en kuvvetli mikotoksindir. Aflatoksinler yapılarında oksijen bulunan iki difuran halka sistemine sahip mikotoksinlerdir. Karakteristik bir difuran ve bir lakton halkasına sahiptir. Molekülün her iki kısmın karsinojenite de rolü olduğundan şüphelenilmektedir.

İlk kez yerfıstığı unundan izole edilmiş olan aflatoksinler (AFT) üzerinde son yıllarda araştırmalar yoğunlaşmış ve çeşitli formların yapısı saptanmıştır. Esasen *A flavus*'tan üremekte olan aflatoksinler aynı zamanda diğer *Aspergillus* ve *Penicillium* suşlarından da ürerler. Kojik asit (5 - hydroxy - 2- hydroxy - methyl - gamma - pyrone) ile sterigmatosistin'in aflatoksinlerin biosentezi ile olması mümkündür. Sterigmatosistin, *Aspergillus versicolor*'un bir metaboliti olup kimyasal olarak aflatoksin gibi bio - dihidrofuran halkasına sahiptir.

Aflatoksinler 300 ^{O}C ' ye kadar olan ısıya karşı dirençlidir. Tümüyle parçalanmaları için 300 ^{O}C ' nin üzerinde sıcaklığa ihtiyaç vardır.

Aflatoksinlerin toksisiteleri otoklavlama yolu ile azaltılır. Münferit tiplerin toksisitesi birbirine benzemez.

Pişirmenin aflatoksin üzerine etkisi yapay ve doğal olarak aflatoksin B1, B2, G1, ve G2 bulaştırılmış yiyeceklede araştırılmış ve pişirmeden sonra % 60 oranında bozulmamış toksin saptanmıştır. Buna göre 4 ayrı tip aflatoksinde de önemli bir azalma sağlanamamış, aflatoksinin sıcaklık uygulaması ile azalma oranı % 10 -30 arasında belirlenmiştir. Ancak sulu çözeltilerinin kaynatılması durumunda aflatoksinlerin % 80 ' den fazlasının etkisini kaybettiği belirtilerek bu farklılığın yiyeceklerdeki koruyucu faktörlerin varlığından kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Örneğin anorganik tuz ilave edilmeyen besinlere indirgen şeker, protein ve aminoasitler ilavesinin besindeki aflatoksin üzerine koruyucu rol oynadığı belirtilmiştir.

Aflatoksin bulaşmış besinlerden, bunların dekontamine edilmesi hemen hemen olanaksızdır. Bu yönde yapılan bir çalışmada ısıl işlem veya $Ca(0H)_2$ ile işlemenin bir fayda sağlamadığı görülmüştür (1).

Tablo XII: Bazı aflatoksinlerin molekül ağırlıkları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Aflatoksin	MW
B1	312
B2	314
G1	328
G2	330
M1	328

(FAO Food and Nutrition paper 1990'dan alınmıştır.)

Aflatoksinler yüksek ısıya dayanıklı olmalarına rağmen kromosülfirik asit gibi kuvvetli asitler ve kostik soda gibi kuvvetli alkaliler tarafından da yok edilebilirler.

Aflatoksin B1 'in alkalin solüsyonlarındaki değişimi üzerine bir çalışma yapılmıştır. Alkalin fosfatazın aflatoksin üzerindeki etkisi araştırılmış ve görülmüştür ki aflatoksin B1 dietanol amin içinde 9.8 PH da dört ayrışma ürününe ayrışmaktadır. Laktonların alkali ile hidrolizinin dengesi aflatoksinin siklik tarafında PH 7-10 arasında ve hidroliz ürünleri tarafında PH 10.4 -14.0 arasında stabil kalmaktadır. Bu ürünlerden bir tanesi metillenebilir, bu yüzden o, kumarinin kumarin aside dönüşümüne benzeyen "Aflatoksin asit " olarak tanımlanabilir. Kütle, UV ve IR spektroskopi ile dikarboksi aflatoksin asit gibi ileri hidroliz ürünleri keşfedilmiştir. Bunlardaki metoksi grubu ileri ayrıştırma esnasında kaybolmuştur. Floresans özellikte olmayan bileşenlerin alkalin solüsyonlarında kuvvetli toksik forma dönüşebildikleri Hen - embriyo - test kullanılarak gösterilebilmiştir (58).

Tablo XIII. Ağız yolu ile Aflatoksin Uygulamasının Ördek Palazlarındaki Toksitesi

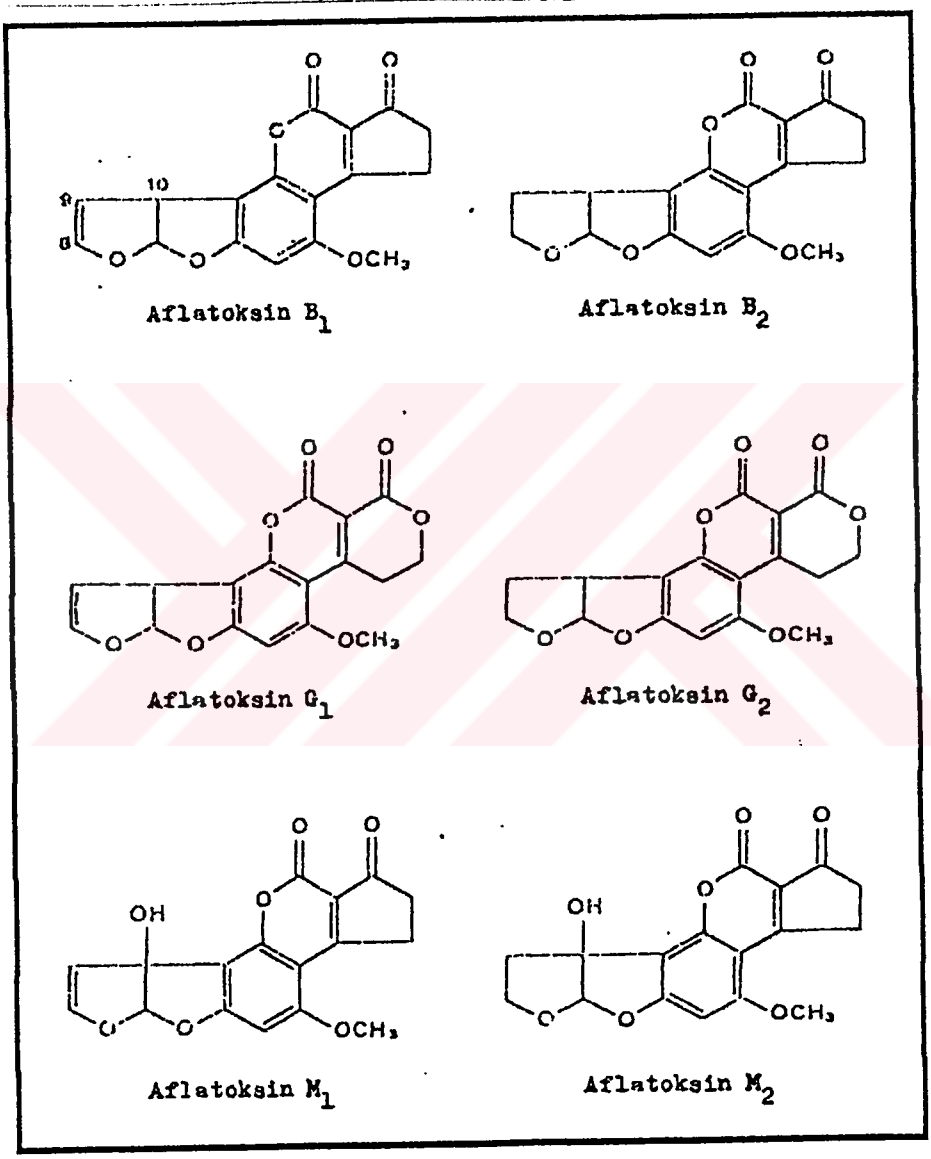
Aflatoksin türü	Ördek palazlarında LD 50 (µg / 50 gr)
B1	18.2
B2	84.8
G1	39.2
G2	172.5
M1	16.0.
M2	61.4

(Aflatoksin sorunu Roche vitamin dergisi 1976'dan alınmıştır).

Aflatoksinler koyun hariç kasaplık hayvanlarda ve kanatlılarda şiddetli kanserojen tesirlidir. Çok küçük dozları dahi ördek civcivlerini öldürür (LD 50 = 0,4 mg /kg) (10,76).

Başlıcaları B1, B2, G1, G2 ve M1 olan aflatoksinlerin difuronocumarin halkasından türemiş 18 ayrı tipi teşhis edilmiştir (18).

Aflatoksinlerin yapısal formülü aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 3: Aflatoksinlerin yapısal formülü.

(Alperden 1985'den alınmıştır)

Erken dönemde tanınan önemli bir toksijenik küf olan *A.flavus*'u depolama florasının bir bölümü olarak göz önünde tutmak gerekir. Örneğin yer fıstığında, yetersiz hasat sonrası depolamada malların dağıtımı sırasındaki elverişsiz şartlarda aflatoksin problemini daima göz önünde tutmak gerekir. Eğer depolama ve dağıtım sırasında doğru sıcaklık ve nem koşullarının sağlanması sürdürülebilirse ve bu durum kontrol altında tutulabilirse gıda ve yemlerde aflatoksin oluşumu engellenebilir. Bununla birlikte ürünün hasattan önce tarlada enfeksiyona uğraması ve aflatoksin üremesi; yerfıstığı gibi bazı ürünlerin kontaminasyonunun çok kompleks bir olay olduğu artarak kabul edilmekte olan bir görüştür (60).

Doğada aflatoksin oluşumunu teşvik eden ana faktörler yüksek sıcaklık ve yüksek nem koşullarıdır. O nedenle mikotoksinler yeryüzündeki tüm ülkelerin sorunu olarak belirtilirken aflatoksinler tropik ve subtropik kuşakta sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Tarla koşullarında zararlıların yapmış oldukları hasarlar çiğ düşmesi gibi faktörler aflatoksin oluşumunu hızlandırırken diğer küflerin bulunması bazen aflatoksinlerin oluşumunu sınırlayıcı etki yapabilmektedir. Gelişebilecekleri uygun sıcaklık ve rutubet şartları altında küf mantarlarının gıda maddesi üzerinde gelişebildikleri ve sonuçta aflatoksin ürettikleri gözlenmiştir.

Gıdalardaki mikotoksin kontaminasyonunun en önemli şartları incelenerek toksik küf gelişmesi ve aflatoksin oluşumunu etkileyen değişik fiziksel ve kimyasal faktörler tesbit edilmiştir. Bu faktörler gıdanın fiziko kimyasal yapısına bağlı olan su aktivitesi, PH, redoks potansiyeli, besin elementleri, antimikrobiyal maddeler ve biyolojik yapı gibi iç faktörler ile gıdaların toplandıkları çevre koşullarını kapsayan; sıcaklık, nisbi nem, atmosferik kompozisyon gibi dış faktörlerden oluşur (56).

Northolt ve ark. (79), aflatoksin B1 için optimum su aktivitesinin (aw) 0.99 olduğunu belirtirlerken, Davis ve Diener (29), aw değerinin besin ortamına bağlı olarak 0.95 -0.99 olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırıcılar yaptıkları çalışmada; makul düzeyde azaltılmış bir su aktivitesi ile birlikte optimum ya da düşürülmüş bir sıcaklığın toksin üretimini daha fazla inhibe ettiğini göstermişlerdir.

A. flavus ve *A. parasiticus* aerobtur. Yani gelişmeleri için mutlaka oksijene ihtiyaç duyarlar. Ortamda CO2 oranı % 15'e çıkarıldığında küf gelişmesi artmakta ancak bunun üzerinde önlenmektedir (48).

Karapınar (56), *Aspergillus halophilicus, A. glaucus, A. restrictus, Penicillium rubrum* gibi kserofilik küfler için aw 0.6 - 0.75 gibi daha düşük olduğunu bildirmiştir.

Davis ve ark. (29), yaptıkları araştırmada yerfıstıklarında sıvı ortamda *A. flavustan* aflatoksin üretimi için optimum sıcaklığın 25 ^{o}C ; *A. parasiticus*'un ise maksimum nemde aflatoksin üretimi için optimum sıcaklığın 25 -30 ^{o}C olduğunu göstermişlerdir.

Shih ve Morth (104), kalıp kaşar peynirlerde *A. parasiticus*'un 12, 8 ^{o}C de aflatoksin ürettiğini fakat *A. flavus*'un aflatoksin üretmediğini bildirmişlerdir.

Northolt ve ark. (79), *A. parasiticus*'un gelişmesi ve aflatoksin üretimi ile ilgili yapılan çalışmada, aflatoksin B1 üretimi için besi ortamına (substrat) bağımlı olarak optimum sıcaklığın 24 -32 ^{o}C olduğunu gözlemişlerdir.

Bullerman ve ark (25), yüksek nemde aflatoksin üretiminin 24 -32 ^{o}C ' lerde olduğunu ve 10 ^{o}C 'nin altındaki sıcaklıklarda su aktivitesi çok yüksek olmazsa aflatoksin üretiminin engellendiğini bildirmişlerdir.

Alperden ve ark. (11), tarafında hayvansal ürünlerden oluşan model örneklerde aflatoksin üretme denemelerinde maksimum toksin oluşumunun 25 ^{o}C de ve ilk 20 -25 gün içinde olduğu ve 25 günden sonra toplam toksin miktarında azalma olduğu gözlenmiştir. Fakat bu azalma hayvansal ürünlerin 1-2 aylık sürede tüketilmeleri göz önünde bulundurulduğunda insan sağlığı yönünden toksinlerin zararlarını azaltıcı hiç bir etki yapmayacağı belirtilmiştir.

Abdollahi ve Buchanon (3) , genel olarak bol aflatoksin üretimi için besi yerlerinin yüksek düzeyde özel karbonhidratları içermesi gerektiğini bildirmişlerdir. Sakkaroz, glukoz ve fruktoz bulunmasının

en yüksek aflatoksin birikimine neden olduklarını; laktoz, maltoz, ksiloz, gliserol ve glutamatın gelişmeyi desteklediklerini ama az aflatoksin birikimine neden olduklarını belirtmişlerdir. Karbon kaynağına ilaveten maya içeren bir ortam kullanıldığında glikoz, riboz ve gliserolün bol miktarda gelişme ve aflatoksin üretimini desteklediğini fakat oleik, fumarik, pürivik, sitrik ve α - keto glutarik asitlerle sodyum asetat ve etonolün gelişmeyi yavaşlattığını ve hiç aflatoksin biriktirmediklerini belirtmişlerdir.

Aspergillus flavus'un toksin üreten bir suşu ile gerek doğal (pirinç ve mısır) gerekse semisentetik (YES) vasatlarda aflatoksinler elde edilebilmektedir. Bu A.flavus suşu pirinç, mısır ve YES (Yeast extract sucrose) vasatlarında başlıca B1, B2 G1, ve G2 olarak bilinen 4 tip aflatoksin üretebilmektedir. Kantitatif veriler göstermiştir ki üretilen B1 ve G1 konsantrasyonları 50 gr pirinç, mısır ve YES vasatı başına sırasıyla 64,7, 45.0, 58.0 µg ve 52,40, 3, 39.6 dır. B2 ve G2 aflatoksinlerinin üretimi ise çok daha düşüktür. 50 gr pirinç, mısır ve YES vasatı başına sırasıyla 28,9, 40.3, 39.5 µg ve 11.5, 17.9, 17,5 olarak bulunmuştur. Yine aynı araştırmada 5 bakteri suşu üzerinde aflatoksinlerin inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Bu bakteriler *Bacillus megaterium, Bacillus subtilis, Streptococcus feacalis, Staphylococcus epidermidis ve Paracoccus denitrificans*'dır. *P. denitrificans* hariç bütün suşların 5-40 µg/ml aflatoksinlerle muamele edildiğinde çeşitli derecelerde inhibisyona uğradığı görülmüştür. *P. denitrificans*'ı inhibe etmek için gerekli minimum aflatoksin konsantrasyonu 10 µg /ml 'dir. Hem seyretilmemiş, hem de seyreltilmiş (1/ 10, 1/100, 1/1000) bakteriyel et suyu (broth) kültürlerinde inhibisyon zonlarının çapı ile aflatoksin konsantrasyonları arasında dirkt bir ilişki gözlenmiştir. Yine aynı araştırmada *A. flavus* suşunun başlıca B1, B2, G1 ve G2 olarak bilinen 4 tip aflatoksin üretebildiği görülmüştür. En yüksek konsantrasyonda üretilen aflatoksin G1 iken en düşük konsantrasyondan üretilen B2 olduğu tesbit edilmiş ve aşağıdaki Tabloda gösterilmiştir (91).

Tablo XIV: Doğal vasatlarda (pirinç ve mısır) ve yeast extract sucrose (YES) broth vasatında üretilen aflatoksinlerin miktarları

Vasatlar	Miktar	Aflatoksin Konsantrasyonları (µg)			
		B1	B2	G1	G2
Pirinç	(50 g)	52.0.	11.5	64.7	28.9
Mısır	(50 g)	40.3	17.9	45.0.	40.3
(YES) brot	(100 ml)	39.6	17.5	58.9	39.5

(Refai ve ark. 1993 'den alınmıştır).

Fransız tipi ekmek üretiminde üretim aşamasında koruyucu (preservatif) olarak kullanılan propyonik asit ve potasyum sorbatın (%0.2) Af B1 ve Af G1 in yıkımına olan etkisi üzerine bir çalışma yapılmıştır. Ekmek imalatındaki karıştırma ve pişirme işleminden sonra Af B1 ve G1 in yıkımları belirlenmiştir. Bu yıkım B1 için karıştırma aşamasında sonra % 71.2 ve pişirmeden sonra % 52 olarak; G2 için ise bu oranla % 73.9 ve % 54 olarak tesbit edilmiştir. Ferm antasyon aşamasında bu yıkıma ilaveten B1 ve G2 için sırasıyla % 15,3 ve % 15 oranında yıkımlarda meydana gelmektedir.

Diğer bir tesbitte ise propyonik asit kullanıldığında Af B1 in yıkımı karıştırma ve pişirme aşamalarından sonra % 79,2 (karıştırmada) ve % 50.7 (pişirmede) oranınında olmaktadır. Af G1 için bulunan değerler ise şöyledir : Karıştırma ve pişirme aşamalarındaki yıkım propyonik asit kullanıldığında sırasıyla % 81,9 ve % 53,4; potasyum sorbat kullanıldığında ise bu değerler % 75,1 ve % 49,4 olmaktadır.

Bu çalışmalardan sonra genel olarak şu sonuca varılmıştır. Fransız tipi ekmek yapımından preservatif olarak kullanılan propyonik asidin Af B1 ve G1 in yıkımına olan etkisi potasyum sorbattan daha fazla olmaktadır (13).

Bir başka çalışmada rafine edilmiş bitkisel yağların aflatoksin yönünden tamamen güvenilir gıdalar olduğu bulunmuştur. Çünkü bu yağların üretimi sırasında uygulanan kimyasal işlemler (alkalin

yıkama, ağartıcı ajanların kullanılması gibi) aflatoksini ortamdan uzaklaştırmakta veya yıkıma uğratmaktadır. Genellikle, bileşimlerindeki amonyakla birlikte sıcaklığın yükseltilmesi, basıncın yükseltilmesi veya her ikisinin birden yükseltilmesi; nem seviyesinin yükseltilmesi kadar tanedeki aflatoksinin detoksifikasyonunu sağlayan en iyi yol olarak takdim edilmektedir. Ayrıca yapılan bu araştırma göstermiştir ki aflatoksinle kontamine olmuş tüm mısırların amonyaklanma işlemine tabi tutulması ile AfB1 kimyasal olarak tesbit edilemeyecek düzeyde düşük bulunmuştur ve bu amonyaklanmış ürünlerin ördekler ve kümes hayvanları için toksik etkisi bulunmamaktadır (21).

Northolt ve ark. (79), yağ asitlerinin genellikle büyümeyi desteklediklerini ancak daha az aflatoksin üretimine neden olduklarını bildirmişlerdir.

Abdollahi ve Buchanon (3), aflatoksin oluşumundan sorumlu enzimlerin çoğunun veya birinin sentezinin özel metabolize edilebilir karbon kaynaklarının bulunabilirliğiyle düzenlendiğini ileri sürmüştür.

Aflatoksin üretimine O2 ve CO2 in etkisi konusunda da birçok çalışma yapılmıştır. Sanders ve ark (96), yer fıstıklarında aflatoksin üretiminin sabit sıcaklıkta yüksek CO2 ve düşük nemde % 8.6 engellendiğini, havadaki % 20 konsantrasyondaki CO2 in yer fıstıklarında aflatoksin oluşumunu önemli ölçüde azalttığını ve küf gelişmesinde % 80 den fazla inhibe ettiğini; Shih ve Marth (104), artan CO2 konsantrasyonunun sadece toksin üretimini azalttığını, fungal gelişmeye etki etmediğini bildirmişlerdir.

PH'nın *A. flavus*'un gelişmesi ve toksin oluşturması üzerine etkileri çeşitli çalışmalarla ele alınmıştır.

Davis ve ark. (29), *A. flavus*'un aflatoksin üretiminde başlangıç PH'sının etkisinin çok az veya hiç olmadığını ancak aflatoksin oluşumu için ortamın son PH 'sının 4'ten yukarı olması gerektiğini bildirmişlerdir. Bir başka çalışma ile de Aflatoksin oluşumu için optimum PH'nın 8 civarında olması gerektiği belirtilmiştir (19).

2.2. Aflatoksin Riski Taşıyan Gıdalar

Aflatoksin riski için hasat zamanı yetersiz kurutma ve kötü saklama koşulları eskiden en önemli neden olarak görülüyordu. Ancak şimdi deliller hasattan öncede kirlenmenin olabileceğini göstermektedir. Bazı durumlarda böceklerinde kontaminasyonda rol oynadığı görülmüştür. Diğerlerinde herhangi bir neden hemen bulunamaz.

A. flavus'un tarlada oluşumu özellikle kuraklık sıkıntısı ve böcek hasarı ile ilişkilidir. Ancak bu tür küflerin bazı ürünlerde sağlıklı bitki dokularını da enfekte edebildikleri görülmüştür. Amerika gibi gelişmiş ülkelerde bile aflatoksin kontaminasyonu problemi; gelişmekte olan ülkelerden ithal edilen ürünlerin çok sıkı denetimine, ve yetiştirilen ürünlerin iyi şartlarda depolanmasına rağmen kolayca çözülememiştir. Bütün bunların yapılması ve hasat öncesi kontaminasyon kontrolünün sağlanması bile bu tehlikeye çözüm getirememiştir. Afrika ülkeleri için de aflatoksinler en tehlikeli mikotoksinler olarak kabul edilmektedir.

1977 yılında A.B.D. nin güney doğusunda kuraklık ve aflatoksin kontaminasyonunun hem darı hem de yer fıstığında çok büyük kayıplara neden olması dolayısıyla bilim dalları arası ve koordine edilmiş major bir çalışma yapılmıştır. *A. flavus* etiyolojisinin karışıklığı yapılan çalışmaların çoğunun sonuçlarıyla ispat edilmiş, darıda *A. flavus* ve aflatoksin problemi yayınlarla rapor edilmiştir (34).

Mısır ve ürünlerinde aflatoksin dünyanın pekçok ülkesinde de bir seri probleme neden olmuştur. Amerika da aflatoksin kontaminasyonunun büyük yüzdesi güneydoğuda yetişen mısırlarda sıklıkla görülmüştür. Diğer bölgelerde ise bu olay zaman zaman atipik hava koşullarında olmuştur. Ancak yine de güneydoğu bölgesinden daha az olmuştur.

Güneydoğu eyaletlerinde mısırdaki aflatoksin arasında yüksek sıcaklıklar zararlıların hasarları, çeşit, bitki yoğunluğu, toprak yapısı, ekin zamanı kuraklık stresi, hasat dönemindeki yağışlar, depo koşulları sayılmaktadır.

Yerfıstığında da mısırdakine benzer şekilde birçok faktörün etkili olduğu bulunmuştur. Özellikle belirli bir devredeki kuraklık stresinin bitkinin savunma mekanizmasını oluşturan fitoaleksinlerin

meydana gelmesini engellediği ve sonuçta toksin oluşumunun arttığı belirlenmiştir.

Ayrıca hasat sonrası tarlada kuruma süresinin uzaması da toksin oluşumunu arttıran bir diğer faktör olmuştur. *A. flavus* ve *A.parasiticus*'un toksijenik ırkları bir ürün üzerinde gelişmeye başlarsa bile toksin oluşumu için birkaç gün geçmesi gerekir. Dolayısıyla çabuk bozulabilen depolanmayan ürünlerde sorun olarak ortaya çıkmazlar.

Bu konu ile ilgili olarak daha önce yapılmış çalışmalara ait şu veriler elde edilmiştir : Dünya ülkeleri arasında bazı sıcak ülkelerde aflatoksin kontaminasyonunun yüksek olduğu, serin iklimlerde kontaminasyon seviyelerinin özellikle hasat öncesi dönemde daha düşük olduğu şeklindedir.

Hasat öncesi mevsimde havanın soğuk olması genellikle kontaminasyonu engelleyici etki yapmıştır (33).

Özellikle A.B.D.'nin güneydoğu bölgesinde aflatoksin kontaminasyonunun uygunsuz koşullarda depolanmış mısırlarda büyük problem olduğu düşünülmemiş, kontaminasyonun büyük bölümünün hasattan önceki dönemde meydana geldiğine inanılmıştır (14,67). Bu bölgede yetişen mısırlardaki hasattan önceki dönemde aflatoksin kontaminasyonuna genotip ve çevre şartlarının etkisi incelenerek bazı sonuçlar bulunmuştur (67). Buna göre çiçeklenme ve hasat arasında geçen periyot ile kontaminasyon arasında bir korelasyon olmadığı tesbit edilmiştir. Aynı çalışmada bununla birlikte tane hasarı ve böcek istilasının söz konusu olduğu durumlarda genotip ve tarla şartlarının (çevre) her ikisinin birden aflatoksin kontaminasyonunun şiddeti arasında bir ilişkinin olduğu tesbit edilmiştir.

Hasat öncesi mısırlarda aflatoksin kontaminasyonunun çevresel faktör etkileri Lillehoj (1983) tarafından rapor edilmiştir (67). Yapılan pekçok çalışmada elde edilen sonuçlar şunu göstermiştir. Bitkinin yetişmesi sırasında oluşan yetersiz su, yetersiz toprak verimi, yabani ot bürümesi gibi faktörler mısır tanesindeki aflatoksin kontaminasyonunu arttırıcı, geliştirici etki yapmaktadır.

Tarladaki ürünün kontaminasyonu böcek hasarı tarafından direkt etkilenmesine rağmen *A. flavus*'un sağlam darıları enfekte ederek sağlam tanenin parlak dış yüzünden içine doğru geliştiği ve asalak gibi taneyi sömürdüğü bilinmektedir. Küf sporları öyle gelişir ve

tohumun içine doğru miseller verir ki ; dıştan görünüşte döllenme işlemi ve embriyonun gelişmesi tanede hiç hasar yokmuş gibi devam eder.

Hasat öncesi ve hasat sonrası dönemde kimyasal madde kullanılarak mısırda aflatoksin üretiminin kontrol altına alınması denenmiştir (36). Propyonik asit ve sodyum asetat *A. flavus* üremesi olmamış mısır tanelerine uygulanmış ve serin depolarda önleyici etki yapmıştır. Hasat öncesi mısırlara kimyasal madde uygulanması ile ilgili kesin sonuçlar bulunamamıştır.

İsveç'te de *A. flavus* ile kontamine olmuş yulaf örneklerinde aflatoksin B1 260 µg/kg olarak bulunmuştur (60). Sıcak iklimlerde propyonik asit ile az olarak muamele edilmiş örneklerin depolanmasında Aflatoksin B1 tesbit edilmesine rağmen *A. flavus* arpa ve buğday gibi tahıllarda büyük problem olmamıştır. Propyonik asidin mevcudiyetinin *A. flavus*'un aflatoksin üretimini küf gelişmesini azalttığı ancak engellemediği bulunmuştur (60).

A. flavus'un birçok ırkı aflatoksin meydana getirmediği halde yaygın olarak bulunması ve karbonhidratça zengin substratlar üzerinde çok geniş sıcaklık sınırları içinde gelişebilmesi doğada aflatoksin oluşumunu, teşvik edici ögelerdir. Arpa, fasülye, mısır, mısır ürünleri, buğday, yerfıstığı, fındık, ceviz, baharatlar, zeytin, incir, ayçiçeği gibi birçok üründe doğal olarak belirlenmiştir. Bu ürünler önemli miktarlarda aflatoksin içeren gıdalardır. Aflatoksinlere sıklıkla hububat ve yağlı tohumlarda rastlanması yanında kuru incir de aflatoksin oluşumu açısından uygun ürün özelliğindedir. Kurutulmuş meyvalardan incir, kayısı ve üzüm karşılaştırıldığında incirlerin küf gelişimi ve aflatoksin oluşumu için en uygun ortam oldukları belirtilmiştir. Ülkemiz ekonomisinde önemli bir yeri olan incir ihracatında ürünlerde aflatoksin varlığı sebebiyle zaman zaman sorunlarla karşılaşılmaktadır. Aflatoksin yukarıda sayılan gıdalardan başka diğer gıdalarda çok düşük seviyede veya önemsiz miktarlarda bulunabilmektedir. Bu çalışmanın yukardaki ürünlerin birkısmında aflatoksin aranması şeklinde düşünülmesinin nedeni de aflatoksinin bazı ürünlerde sıklıkla bulunmasıdır.

Marketlerde bulunan ve aflatoksinle kontamine olmuş ürünler A.B.D. de genellikle yerfıstığı, Brezilya fıstığı, şam fıstığı, badem, ceviz, pamuk tohumu, mısır, pirinç ve incirdir.

Aflatoksin oluşumuna neden olan funguslar saprofit karakterli depo fungusları olarak tanınmaktadır. Doğada yaygın olarak

bulunurlar ve toprakta çürümekte olan otlarda depolanan gıdalarda ve tohumlarda çoğunlukla izole edilirler. Uygun olmayan koşullarda depolanan ürünlerde kolayca gelişebilirler. Ancak bugün aflatoksinin büyük boyutta sorunlar yarattığı mısır, yerfıstığı, badem gibi ürünlerde toksin oluşumunun hasattan önce tarlada başladığı görülmektedir.

2.2.1. Yer Fıstığı

Yerfıstığı dünyanın pekçok ülkesinde yetiştirilen ve iki sebepten dolayı çok önemli olan bir üründür. Bunun birinci sebebi birçok sıcak bölgede kolayca yetiştirilebilmesi, ikinci sebebide yüksek protein ve kalori değerleri içermesidir. Ne yazık ki yerfıstığı içerdiği değerli besin ögelerinden dolayı *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un üreyebildiği uygun bir ortamdır. Bunun sonucunda da aflatoksin oluşmaktadır. Aflatoksin kontaminasyonunun kapsamı çevresel faktörlere bağlı olarak hasat öncesi, hasat sırası, elle işleme ve depolama şartlarına göre incelenmiştir. Yer fıstıklarında hasattan önce ve hasattan hemen sonraki aflatoksin kontaminasyonu potansiyeli araştırılmıştır (33).

Hasat öncesi kontaminasyonun fazla miktarda küf yükü ile yetişme mevsiminin son dönemi sırasında olan kuraklık ve toprak sıcaklığına bağlı olduğuna inanılmıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar aflatoksin kontaminasyonunun ilişkili olduğu diğer faktörlerin şu olduğunu göstermiştir.

a) Aflatoksin gelişimi için ihtiyaç duyulan ortam sıcaklığı 25,7 ve 27 ^{o}C arasındadır.

b) Çekirdeğin (tane) hasarlı oluşu aflatoksin kontaminasyonu için önceden gerekli olan bir husus değildir.

c) Rutubetli sağlam yerfıstıklarında aflatoksin kontaminasyonu muhtemel değildir.

Bu şartlar altında aflatoksin oluşumunun mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte hasat öncesi stresin azaltılması ve hasattan sonra hemen ürünün optimal kuruluğunu sağlayarak uygun depolama koşullarında ürünün depolanmasıyla aflatoksin kontaminasyonu minimumda tutulabilmektedir.

Brezilya fıstıklarında ilk olarak aflatoksin tesbit edilmesi 1965 yılında Kanada "Food and Drug Directorate" tarafından tesbit edilmiştir. A.B.D.'de FDA (Food and Drug Administration) alarma geçip 1967 de ithal edilen fıstıkların tümü incelenmiş, % 27 sini geri göndermiştir. Daha sonra 1968 de başka bir araştırma yapılmış ve % 32 ' sine el konulmuştur. İthal ediciler kaynak konusunda eğitildikten sonra son zaman larda bu oran % 1 'e düşmüştür.

Yer fıstığı aflatoksin kontaminasyonu açısından enfazla çalışılmış olanıdır. Önemli bir mahsuldür ve A.B.D. de satışı Tarım Bakanlığının kontrolu altındadır. Bu nedenden ötürü ve ayrıca devlet makamları ve endüstriler nedeniyle kabuklu fıstıklar için bir sertifikasyon sistemine karar verilmiş ve kapsamlı olarak yıllık datalar toplanmıştır. Datalar insidans ve miktar olarak yıldan yıla ve bölgeden bölgeye farklılıklar gösterilmiştir. Kavrulmuş kabuklu fıstıklarda göreceli olarak düşük bir bölüm aflatoksinsiz bulunmuştur. Sadece belli bir seviyenin altındaki alfatoksinli kabuklu kuruyemişlerin yenilebilir olması ve kavrulma işleminin aflatoksin seviyesini düşürmesi nedeniyle A.B.D. 'deki yerfıstıklarının aflatoksin içermemesi beklenir. Rutin FDA taramaları da bunu desteklemiştir (93).

A. B.D. de FDA'nın monitör programından alınan yerfıstığı ürünlerindeki aflatoksin varlığı yıldan yıla aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir.

Tablo XV . Tüketiciye sunulan yerfıstığı ürünlerinde bulunan aflatoksin seviyelerinin artan yıllara göre dağılımı (FDA raporlarına uyularak)

		ppb düzeyinde toplam aflatoksin içeren örneklerin yüzde oranı						
Yıllar	İncelenen örnek sayısı	ND	> T	> 5	> 10	>15	>20	>50
1980	297	82.2	17.8	13.8	6.4	4.7	4.7	1
1981	202	84	16	11.5	7.5	4.5	4.5	0.5
1982	272	91.2	8.8	7.7	3.7	2.2	2.2	0.4
1983	312	86.9	13.1	12.5	9.3	6.4	5.4	1.9
1984	207	95.1	4.8	4.3	2.4	1.9	1.9	1.4

ND : Aflatoksin tesbit edilmemiş örneklerin yüzdesi; yaklaşık 1 ppb limitinden az .

(Krogh 1987'den alınmıştır).

FDA monitör programından alınan bu sonuçlara A.B.D. de tüketiciye sunulan yerfıstığı ürünlerindeki aflatoksin miktarının ölçüsü yıldan yıla değişiklik göstermektedir.

Tablo XVI : Birbirini izleyen yıllarda FDA 'nın programı dahilinde spesifik, yaygın yerfıstığı ürünleri örneklerinden tesbit edilebilen ve violatif aflatoksin seviyeleri

			% olarak aflatoksinli örnekler	
Ürün adı	Yıllar	Çalışılan örnek sayısı	Tesbit edilen (a)	Beklenen (b)
Yer fıstığı ezmesi	1980	220	17.2	3.2
	1981	140	17.8	4.2
	1982	187	9.6	2.1
	1983	177	10.7	2.2
	1984	122	4.9	2.4
Kabuksuz kavrulmuş	1980	72	22.2	9.7
yerfıstıkları	1981	56	10.7	5.4
(kabuğu soyulmuş)	1982	81	7.4	1.2
	1983	120	18.3	10.8
	1984	81	4.9	1.2
Kabuklu olarak	1980	5	0.-	0.-
kavrulmuş yerfıstıkları	1981	6	33.3	0.-
	1982	4	0.-	0.-
	1983	15	0.-	0.-
	1984	4	0.-	0.-

(a) Tesbit edilen aflatoksin limiti yaklaşık 1 ppb olanlar
(b) Toplam aflatoksin miktarı 20 ppb den büyük olanlar
(Krogh 1987'den alınmıştır).

Yerfıstığı ezmesi ve soyulmuş kavrulmuş yerfıstıklarında aflatoksin kontaminasyonunun kabuğu içinde (kabuklu) kavrulmuş yerfıstıklarına nazaran daha fazla olduğu yukardaki tabloda görülmektedir. Kavurma işlemi uygulamak ve 1. sınıf yerfıstığı kültür varyetesi kullanmak; Bu iki uygulamanın birlikte yapılması ile aflatoksinli ürünlerin yıldan yıla rölatif olarak azaldığı görülmektedir.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İsrail'de yerfıstığındaki *A. flavus*, diğer mikroflara ve oluşan aflatoksin azlığı üzerine bir çalışma yapılmıştır. Değişik bölgelerden toplanmış 300 den fazla yerfıstığı örneği aflatoksin kontaminasyonunun tesbiti amacıyla eliza testi ile analiz edilmiştir. Örnekler ihraç edilecek ürünlerden, tüketime sunulanlardan ve tohumluk olarak kullanılacak olanlardan seçilmiştir. Örneklerin hiçbiri daha önceden toksinle kontamine edilmemiştir. Ürün yüksek neme sahip ortamda muhafaza edildiği zaman inkübasyondan 7 gün sonra sıklıkla aflatoksin oluştuğu ve bu toksinin taneler arasında üniform olarak dağılmadığı görülmüştür. İncelenen ticari örneklerin hemen hemen yarısının *A. flavus*'da yoksun olduğu görülmüştür. *A. flavus* ile enfekte olmuş taneler içeren yerfıstığı örneklerinin az çok yaygın olmasına rağmen, bölgedeki iklim ve uygulanan zirai teknikler sayesinde aflatoksin birikimi olayı çok fazla olmadığı belirlenmiştir. Yine de bununla birlikte eğer ürün yetersiz şartlarda depolanmış ise enfekte tanelerin sağlığı tehdit eder hale gelebildiği gözlenmiştir (68).

Mısır'da likit kromotografik yöntemle yapılmış ve gıdalardaki aflatoksin düzeyini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada rastgele piyasadan toplanan kabuklu ve kabuksuz yerfıstığı örneklerinin % 100 ünde aflatoksin bulunduğu tesbit edilmiştir (100).

2.2.2. Mısır

Önemli bir tarım ürünü olan mısır 1960'tan önce küflü mısır hayvan zehirlenmelerinde sık sık konuşulmuş, *A. flavus* toksik olarak izole edilmiş ve hastalık semptomları aflatoksinlerle benzerlik göstermiştir. Mısır küflenmeyi sağlayacak nemlilikte toplanan tek tahıldır. Özellikle toksik hepatit epizootikleri gösterildiğinde mısırın aflatoksin kontaminasyonu doğal bir olgu olarak görülmüştür. Olasılığı ve insidansı bulmak için A.B.D. Tarım Araştırma Servisi (ARS) 1964, 1965, 1966 yıllarının mahsullerinden örnekler (toplam 1594 örnek) almış ve bunların % 2,5'unda aflatoksin tesbit edilmiştir.

Mısırdaki BGY (Bright Greenish Yellow) floresan saptaması aflatoksin varlığıyla büyük bir korelasyon göstermektedir. Mevcut bilgiler aflatoksin kontaminasyonunun öncelikle bir tarla problemi olduğunu gösterdiğinden bu metotla kontaminasyonun büyük bir bölümü önceden tesbit edilebilmektedir.

Mısırdaki aflatoksin bütün dünyada bir problemdir. Mısır örneklerinde yapılan araştırmalar sonucu Uganda da % 40 (Aflatoksin B1 ortalama 133 µg /kg), Tayland'da % 35 (Ag B1 ortalama 400 µg /kg), Filipinlerde % 97 (Af B1 ortalama 213 µg/kg) aflatoksin bulunmuştur. Mısırın alkali işlemlerden geçirilmesiyle de aflatoksinin büyük bölümünün yok olduğu tesbit edilmiştir (93).

Mısırdaki aflatoksin kontaminasyonu dünyanın birçok ülkesinde çok ciddi bir problem olmuştur. Mısırda aflatoksin oluşumu çeşitli ülkelerde sorunlar yaratmaktadır. Nitekim Hindistan'da aflatoksinli mısır üretiminden ileri gelen bir akut zehirlenme olayında 400 kişi etkilenmiş ve 106 kişi ölmüştür. A.B.D. mısırda aflatoksin problemi, sık rastlanan ülkeler arasında yer almaktadır. Aflatoksin oluşumu nedeniyle önemli miktarlarda ürün kayıpları ve hayvan ölümleri olmuştur (83,34).

Şiddetli kuraklık ile kötü iklim şartlarının görüldüğü dönemlerde aflatoksin kontaminasyonu şiddetli olmuş ve geniş bir bölgeyi etkilemiştir (106).

1983 de yetiştirilen üründen hazırlanan mısır ürünlerinde ve kurutulmuş, kavrulmuş mısırlarda aflatoksin kontaminasyon düzeyinin çok düşük olduğu not edilmiştir (60).

Mısır aflatoksin yönünden riskli bir gıda olmakla birlikte bir ısı işleminden geçirilerek tüketilen bir gıdadır. Kuruyemişçilerde satılan mısırlar ısı işlem görmemiş, ürünler olduğundan dolayı bu şekilde tüketilemezler.

Bu tez çalışmasında örnekler kuruyemişçilerde, satılan ve tüm işlemleri bitmiş olarak tüketiciye sunulmuş ürünlerden seçilmiştir. Bu sebeple kuruyemişçilerdeki mısır örnekleri çalışmaya dahil edilmemiştir.

2.2.3. Kuru İncir

Türkiye kuru incir üreticisi ve ihracatçısı bir ülkedir. Son birkaç yıl içinde aflatoksin Türk incir ihracatı için korkutucu bir hal almıştır. Her ne kadar kuru incirde aflatoksin kontaminasyonunda söz edilse bile, kurutulmuş incir yüksek riskli bir ürün olarak kabul edilmez. Çünkü incirde bulunan substratlar aflatoksinlerin doğal koşullar altında yada kendiliğinden oluşmasını güçleştirir.

Kurutulmuş incirlerde meyva bahçelerinde oluşan problem mevcut ve ürün olgunlaştıkça aflatoksine karşı hassasiyetin arttığı bildirilmiştir (6). Deneysel şartlar altında incir gibi kurutulabilen meyvelerde toksin üretimi açısından kayısı, ananans ve kuru üzüme göre yüksek potansiyele sahip bulunmaktadır. Pişirilen meyvelerde inokulasyondan sonra küf üremesi ve sporulasyon görülmez (6).

Aflatoksin taramaları çerçevesinde yapılan çalışmalarda hurma, üzüm gibi kuru meyvelerde *A. flavus* kontaminasyonuna sık rastlanmasına karşılık, bu ürünlerde aflatoksine rastlanmadığı, ancak taze ve kuru incirlerin, aflatoksin kontaminasyonuna çok duyarlı olduğu bildirilmiştir (65).

Henüz olgunlaşmamış incirler *A. flavus* kolonizasyonu ve aflatoksin üretimine elverişli olmamaktadır. Substrat olarak incirin kimyasal yapısı, yüksek oranda karbonhidrat içerdiğinden toksin oluşumuna elverişlidir. Karbonhidratça zengin gıdalar proteinli gıdalardan daha çok *A. flavus* gelişmesini desteklemekte, az miktarlarda karbonhidrat bile *A. flavus* tarafından kullanılabilerek, önemli oranlarda toksin üretilebilmekte ve bu faktör, küf üremesinden ziyade toksin oluşumunda etkili olmaktadır (65).

Küf kontaminasyonu yarı kurumuş halde yere (toprağa) düşen ve sergilerde kurutmaya alınan incirlerde de devam edebilir. Çünkü sıcaklık ve aw (su aktivitesi) değerleri bu duruma elverişli olabilmektedir. Ayrıca yere düşen incirlerde homojen bir kuruma olmamaktadır.

Depolanan hububatta nem % 13 -17 den fazla olursa küf ve mikotoksin oluşumu açısından risk oluşturmaktadır (25). İncir için bu değer daha yüksek (% 18 -23 nem) olmaktadır (65). Çok kötü depolama koşulları olmadıkça küf gelişmesi beklenemez. Ancak depolanacak ürünlerde kurumanın homojen olmasının büyük önemi vardır. İncir iri taneli olduğundan güvenilir düzeyin üzerinde kalan bir tek incir bile depolanan ürün için risk oluşturabilmektedir. Bu, tane küf gelişmesi için inokülasyon kaynağı oluşturarak, bu noktadan itibaren yanındaki taneler ve yığının büyük bir kısmı küf ve mikotoksinle kontamine olabilirler. Bu durum "Hot spot" (kızışma noktası) oluşumu olarak bilinir.

İncirlerde *A. flavus* enfeksiyonu ve aflatoksin oluşumu ile ilgili olarak yapılan çalışmada, aflatoksin oluşumunun, bahçede meyveler ağaç üzerinde iken başladığı belirlenmiştir. Henüz ağaçta iken *A.. flavus* sporları ile aşılanan incirlerin olgunlaşmadan önce aflatoksin oluşumu için uygun bir ortam olmadıkları fakat giderek meyveler olgunlaştıkça toksin oluşumunun arttığı belirlenmiştir (48).

Kuru incirde aflatoksin oluşumunun, incir ağaçta olgunlaşıp yumaşadıkça başladığı anlaşılmıştır. Bu durum gözönünde bulundurularak incir bahçelerinde tarımsal (budama yoluyla hastalıklı dalların atılması, nem lokalizasyonunun önlenmesi için ağaç aralıklarının ayarlanması zararlılarla mücadele v.b) uygulamalar ve incir teknolojisinin her aşamasında gerekli sanitasyonun uygulanması zorunlu hale gelmektedir. Kontaminasyonu önlemek için kurutmanın en kısa zamanda yapılması gerekir. Kurutma sırasında ürünle direkt temas eden bütün gereçler ve yüzeylerin temizliğine özen gösterilerek düzenli dezenfeksiyonun yapılması gerekmektedir.

İnsan sağlığına zararlı etkileri gözönünde bulundurarak çeşitli ülkeler ithal ettikleri ürünlerde bulunabilecek aflatoksin miktarları için sınırlar koymuştur. Bu oran incir için ülkelere göre 1 -10 ppb (µg/kg) B1 veya toplam aflatoksinler olarak değişmektedir.

Kuru incirlerde aflatoksin sorunu ile ilk 1973 -74 yıllarında karşılaşılmıştır. Bu yıllarda ABD, Gıda ve ilaç örgütü (FDA) tarafından yapılan tarama çalışmasında Türkiye'den ihraç edilen incirlerde toplam 67 örneğin 6 sında iz miktar 33 µg /kg düzeylerinde değişen konsantrasyonlarda aflatoksin saptanmıştır. Aynı çalışmada İspanya'dan ithal edilen incirlerde 8 örnekten bir tanesinde 19 µg /kg ve A.B.D. incirlerinde 187 örneğin bir tanesinde 10 µg /kg düzeyinde aflatoksin bulunduğu bildirilmiştir. Kuru incirlerde aflatoksin oluşumunun meyve henüz yeşilken sözkonusu olmadığını, ancak meyve olgunlaşırken daha duyarlı hale geldiği ortaya konulmuştur. Diğer bir deyişle aflatoksin konsantrasyonu ve küf üremesindeki hızlı artış, meyve kuruyup nem miktarı düşene kadar devam etmektedir. Morton ve ark. (75), kuru incir, kuru kayısı, kuru üzüm ve ananas gibi meyvelerin aflatoksin oluşturma güçlerini, aflatoksin oluşturan *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* türlerini aşılayarak incelemişler ve kuru incirlerin aflatoksin oluşturma potansiyeli yönünden kayısıdan sonra ikinci sırayı aldığını aflatoksin B1 ile beraber aflatoksin G1 ve G2 oluşturduklarını bildirmişlerdir. Türk

incirlerinde aflatoksin nedeniyle yaşanan sorunlar 1973 -1974 den sonraki yıllarda da devam etmiştir. Özellikle İsviçre'de Basel - Landschaft Kanton bölgesinde incelenen ithal Türk incirlerinde 14 örnekte ortalama 4 µg/kg aflatoksin B1 ve aflatoksin G1 bulunduğu bildirilmiştir (75).

Hasat sonrası aflatoksin kontrolünde UV ışığı altında aflatoksinli ürünlerin ayrılması fiziksel ayırma işlemleri içinde en pratik olanıdır. Elektronik ayırmada UV ışığı ile aydınlatılan partiküllerden yansıyan floresans renge göre ayrım yapılır. 1991 yılında yapılan bir çalışmada UV lamba altında fiziksel olarak ayıklanması yöntemi kullanılmıştır. İncelenen 250 tonluk bir incir partisinin % 84'nün flaresans renk vermediği % 15, 87 sinin ise floresans renk verdiği tesbit edilmiştir. Floresans renk vermeyen incirlerin sadece birinde 1,38 ppb değerinde aflatoksin bulunmuştur. Floresans renk veren incirlerin toplam aflatoksin değerlerinin 20,03 ppb ile 170, 02 ppb arasında değiştiği tesbit edilmiştir (16).

2.2.5. Fındık ve Ceviz

Fındık *Fegales* takımının *Betulaceae* familyası, *Corylus* cinsi içinde *Corylus avellana* olarak yer almaktadır. Fındık sert kabuklu meyvelerden olup ağaç üzerinde gelişmekte ve sert bir kabuk tarafından korunmaktadır. Sert kabuklu ürünler diğerlerine göre küf bulaşmasından daha az etkilenmektedir. Buna rağmen fındıklarda zaman zaman küf bulaşması olduğu ve aflatoksin oluştuğu görülmektedir. Bu duruma iç fındıklarda daha sık rastlanmaktadır. Aflatoksin oluşturan küfler daha çok üründe hasattan sonra ölü hücrede gelişerek uygun nem ve sıcaklık bulduğunda aflatoksin oluşturmaktadır. Üzerinde küf üretiğine dair hiç bir belirti olmayan, sağlıklı görünen fındıklarda dahi aflatoksine rastlanabilir.

Örneğin Mısır'da 1996 yılında yürütülen bir çalışmada piyasadan toplanan fındık örneklerindeki aflatoksin oranı 24 ppb olarak bulunmuştur (100).

Fındığın anavatanı Anadolu olup Dünya'da fındığın ilk üretimi ve ticareti Türkiye'de başlamıştır. Fındık Karadeniz bölgesinde 4 milyondan fazla kişinin özellikle Giresun ilinin tek gelir kaynağıdır. Son yıllarda bilinçli bir fındık yetiştiriciliği sayesinde kaliteli ve sağlıklı bol ürün elde edilmiş dolayısıyla yeni pazarlar bulma ihtiyacı ortaya çıkmıştır.

Geleneksel ihraç ürünlerinin başında gelen fındığın ulusal ekonomimizde ve tarımımızda özel bir yeri vardır. Dünya fındık üretiminin % 70 'ini ve ticaretinin de % 70 -75 'ini "Türk Fındığı " olarak Türkiye gerçekleştirmektedir. Ülke ekonomimizde önemli bir paya sahip olan fındık ihracatında, çeşitli ülkelerin üründe aflatoksin miktarını sınırlandırması güçlükler yaratmaktadır. Var olan ihracat sıkıntılarından dolayı her yıl satılamayan fındığın adi depo koşullarında uzun süre bekletilmesi sonucu küf üremesi ve aflatoksin oluşma riskini arttırmaktadır.

Yapılan çalışmalarda fındık ve ceviz gibi dış kabuklu ürünlerde saptanan aflatoksinin genel olarak düşük miktarda olduğu, bununla birlikte çok yüksek aflatoksin içeren örneklere de rastlandığı bilinmektedir. Dış kabuğu zedelenmiş ceviz ve fındıkların iç kısmında *A. flavus* gelişmesi görülmektedir. Aflatoksin oluşumu sadece *A. flavus* gelişmesi saptanan örneklerde harman ve depolama aşamalarında görülmekte, tanelerde aflatoksin dağılımı homojen olmayıp bazı tanelerde yüksek miktarlara ulaşmaktadır. Ülkemizde uygulanan depolama koşulları ve özellikle yığın şeklindeki depolama; aflatoksin oluşumunun arttırmamakla birlikte küf gelişmesini teşvik etmektedir. Sonuçta ürün tamamen küflü bir görünüm almakta çürüyerek bozulmakta ve tüketilmeyecek duruma gelmektedir (37).

2.2.5. Antep Fıstığı

Kuru yemişlerde küf oluşması ve ikincil metabolitlerin meydana gelmesi, içlerinde Türkiye'nin de bulunduğu kuruyemiş (fındık, ceviz, fıstık, badem, v.s) üreten ve tüketen birçok ülke için çok büyük önem taşımaktadır. Hasattan önce antep fıstığı ağaçda iken sert kabukları tarafından küf istilasına karşı büyük ölçüde korunmaktadır. Bununla birlikte eğer hasattan önce doğal yolla dış kabuk çentilmiş veya çatlamışsa endosperm, küflerin saldırısına uğrayacaktır. Hasadı takiben fıstıkların küflere karşı savunma mekanizmalarında azalma olmaktadır (86). Bundan dolayı fungal populasyon artabilmekte ve sonradan kurutma, depolama ve işleme esnasında mikotoksin üretimi meydana gelmektedir.

Aflatoksin kontaminasyonu Kanada, Japonya ve Almanya gibi birçok ülkelerin ihraç antepfıstıklarında bulunmaktadır. Bu sebeple antepfıstıklarında mikotoksin kontaminasyonu üzerinde hassasiyetle

ırulması gerekir. 1971 yılındaki aflatoksin kontaminasyonundan ılayı A.B.D. ve Kanada ithal ettiği fıstıkların % 80 ini ithal ettiği kelere (İran, Türkiye) geri çevirmiştir. Bunun sonucunda 4-5 milyon merikan doları kaybı meydana gelmiştir. Bu olaydan sonra ithalat rketleri gönüllü bir sertifikasyon anlaşması organize ettiklerinde ırboğaz aşılmıştır. aynı zamanda bir grup Amerikalı aflatoksin :manı Türkiye ve İran'ı ziyaret etmiş ve kirliliğin nasıl ılenebileceği konusunda önerilerde bulunmuşlar ve analitik kontrol etotları sunmuşlardır. Ziyaret sonrası kontaminasyon neredeyse 0'a işmüş; Türkiye böyle devam ederken 1974 'te İran'dan gönderilen 16 parti malın % 13'üne el konulmuştur.

1976 -1983 yılları arasında yürütülen araştırma çalışmaları ınucunda FAO, WHO, Birleşmiş Milletler çevre programında latoksinler potansiyel kontaminantlar olarak rapor edilmiştir. Fıstık neklerinde *A. flavus*'un toksijenik türlerinin izolasyonu aflatoksin ntaminasyonu yönünden potansiyel risktir. Bu durum tüm gıdalar in aflatoksin varlığı, bakımından mutlak bir indikatör değildir.

İngiltere'nin mikotoksin araştırmaları ve işlem prosedürü ;çmişi tecrübelidir. Bu diğer EC ülkeleri için geçerli değildir .8).

Hasattan itibaren depolamaya kadar geçen süre içinde ve epolama sırasında fıstıklardaki koruyucu kabuk çıkarılmadığı sürece flatoksin kontaminasyonu riski yoktur. Hasat sonrası işlem rtlarında ve taşınma sırasında özel dikkat gösterilmelidir. İç ve dış abuğu soyma, ıslatarak kabuk soyma, ezme, güneş altında kurutma lemleri *A. flavus* gelişimi ve aflatoksin üretimi için potansiyel risk ışımaktadır. Ayrıca bu yöntemler sert kabuğun hasarına yol çarak dolayısıyla kabuk yüzeyinden endospermin *A. flavus* ontaminasyonu sonucunu doğurur (49).

Antep fıstığı meyvasının dış kabuk kısmı (mezokarp, ve epikarp), hum veya çekirdeğin dışı (testa) ve çekirdekler olmak üzere bütün ısımları antep fıstığındaki aflatoksin içeriğinin değişmesine hep irlikte iştirak ederler. Kabuklu ve kabuğu soyulmuş taneler küf şılanmadan önce ya zedelendirilmeden bırakılmış ya da hasar erilerek yaralanmıştır. 10 günlük inkübasyondan sonra kabuklu ve abuksuz tanelerde gerçek *A. flavus* kolonileri oluşmuştur. Ancak edelenmiş tanelerde zedelenmemişlerden 37 kez daha fazla flatoksin üremiştir. Her bir tanedeki aflatoksin seviyeleri çok

değişiklik göstermiştir. Tohum kabuğu olmayan ve hasarsız tanelerde ne fungal kolonizasyon ne de aflatoksin tesbit edilmemiştir. Tohum kabuklu zedelenmemiş tanelerde bunların hasar görmüş eşlerine göre mukayese edildiğinde limit düzeyde fungal kolonizasyon ve düşük aflatoksin konsantrasyonuna sahip olduğu görülmüştür. Hasar görmüş dış kabuklardaki önemli derecedeki fungal kolonizasyona rağmen aflatoksin tesbit edilememiştir. Dış kabuklu hasarlanmış tanelerdeki aflatoksin seviyelerinin dış kabuğu alınmış tanelerden daha düşük olması anlamlı bulunmuştur. Yapılan bu araştırmada hem testa hem de dış kabuğun suda eriyen ekstraktının *A. flavus*un aflatoksin üretimini engellediği bulunmuştur (69).

Antep fıstığının yenilebilir iç kısmı ve yenilemeyen üst üste iki ayrı kabuğu mevcut olduğu için örneklerde ölçümden önce kabuklarından arındırılarak iç kısım analiz, edilmesi düşünülebilir. Ancak dış kabuklarda da aflatoksinin mevcudiyeti olabilecektir. Eğer kabuklu fıstık tolere edilebilir konsantrasyonda Af B1 içeriyorsa böyle bir problem için çözüm, tüm ürünün öğütülmesi, analiz edilmesi ve sonradan aflatoksin içeriğinin hesaplanmasıdır. Bu hesaplamalar için kabuktaki B1 miktarı ve kabukların ağırlığı bilinmelidir. Bu iki nokta üzerine literatür sayısı azdır. Yapılan bir çalışmada 60 µg/kg aflatoksin içeren 46 fıstık içi örneğinin 8'nin kabuklarında aflatoksin tesbit edememişlerdir. "Tesbit edilmedi" ifadesi miktarsal olarak tesbit edilmedi anlamında değil hiç tesbit edilmedi anlamındadır. Kabukların ağırlığı toplam ağırlığın % 50 'si olarak tahmin edilmiştir (98). Bir başka çalışmada, 14,8 kg örnekteki yüksek kontamineli 3 çam fıstığının yalnızca kabuklarını analize almışlardır. Bu araştırıcıların yayınları, 1992 de yayınlanmamış veriler, 1983 -1986 ve 1990 -1991 yıllarında U.S Department of *Agriculture* (USDA) 'nın yayınlanmamış verilerin hepsi birden değerlendirilerek aflatoksin dağılımı hesaplanmıştır. Elde edilen sonuca göre kabuk ve iç fıstık yaklaşık olarak eşit ağırlıktadır ve en az miktarda aflatoksin kabukta mevcuttur (98).

Yakın zamanda EC'nin İran Şam fıstığına (Antep fıstığı) geçici ambargo koyması aflatoksinle ilgili test tekniklerinin güvenilirliği konusunda Avrupa Birliği ülkelerinde endişe yaratmıştır. Avrupa Birliğinin diğer ülkelerinden İngiltere'ye gelen kontamine gıdalar tüketiciler için potansiyel risk taşımaktadır (18).

2.2.6. Kuru Kırmızı Biber

Ülkemizde sıklıkla kullanılan baharatlardan biri olan kırmızı biber Capsicum genusuna ait *C.annuum* ve *C.frutescens* gibi bitkilerin meyvelerinin olgunlaştıktan sonra kurutularak öğütülmesi sonucu elde edilmektedir.

Kırmızı biber tohumlarının *A. flavus, A. ochraceus* ve *A.versicolor*'un büyüme ve toksin oluşumuna etkisi % 0,41 gibi çok küçük oranlardadır.

Farklı konsantrasyonlardaki kırmızı biberin *A. parasiticus* aflatoksigenik küfünün üremesine etkisi incelenmiş ve kırmızı biber içeren bütün kültürlerde üreme olduğu, 10 gün sonunda da tüm kültürlede yoğun bir sporlanma olduğu görülmüştür. Hatta bu kültür erlenlerindeki üremenin kontrol kültürüne göre daha hızlı seyir ettiği saptanmıştır (57).

Son zamanlarda özellikle önem kazanan kırmızı biberlerin halk sağlığı açısından mikrobiyal kalitesini ortaya koymak amacıyla aflatoksin potansiyelinin bulunup bulunmadığının saptanması zorunluluğu doğmuştur.

Piyasada satışa sunulan kuru kırmızı biberler pul ve toz biber olmak üzere 2 çeşittir.

Ülkemizde kuru kırmızı biber üretimi sırasında kurutma işlemi; toprak üzerinde her türlü dış etkenlere (toz, toprak, haşere, hayvan artıkları, yağışlar v.b.) açık olarak yapılmaktadır. Bu yüzden küflerin bulaşması engellenememektedir. Ayrıca rutubet oranının yüksek olduğu kurutma aşamasının başlangıç dönemlerinde küf gelişmesi ve toksin oluşumu için uygun bir ortam oluşmaktadır. Hava koşullarının iyi olmadığı, yağış ve serin olduğu zamanlarda ürün, uzun süre yüksek rutubet taşımaktadır. Daha sonraki depolama ve pazarlama aşamalarında da ürün çuvallar içinde açıkta bulunduğundan küf gelişmesi için küf gelişmesi ve toksin oluşumu için uygun olan bu ortam devam etmektedir.

2.3. Aflatoksinlerin İnsan Sağlığı ve Diğer Canlılar Üzerine Olan Etkileri

Aflatoksin B1 insan ve hayvanlarda çok çeşitli zararlı tesirler gösteren ve sayıları 300 ün üzerinde olduğu bildirilen mikotoksinlerin halk sağlığı açısından önem taşıyan değişik etki mekanizmalarına sahip çeşididir. AfB1 *A. flavus* ve *A..paraciticus*'un salgıladığı en kuvvetli kanserojen özellikteki aflatoksindir. Af B1 'in insan karaciğerinde kolayca metobolize olduğu ve uzun süreli birikim neticesinde de karaciğer tümörü ve karaciğer sirozuna neden olduğu bildirilmektedir (40). Aflatoksinler karaciğerde yıkıma uğrar ve ürünleri bütün hücrelere yayılır. Çok az bir kısmı idrar feçes ve sütle atılır.

Aflatoksinlerin farklı biyolojik etkilerini tesbit etmek için laboratuvar hayvanları üzerinde çalışmalar yapılmıştır.

Bu etkilerden bazıları şunlardır :

1. Akut etkiler - karaciğerde yağ birikmesine yol açarak ölüme sebep olmak
2. Kronik etkiler

. Mutajenik

. Karsinojenik

. Halusinojenik

. Nefrotoksik

Akut ve kronik etkiler yapılan çalışmalarla çok iyi tesbit edilmiştir. Çalışmalar sonucu Af B1 hakkında edinilen bilgilere göre Aflatoksin B1 in G1, B2 ve G2 den çok daha toksik olduğu bulunmuştur (41,18).

Aflatoksinlerde lethal doz 7 gün süreyle LD 50 yaklaşık 1 µg/gr'dır. Af B_1'in toksik tesiri hayvanın türüne göre değişiklik gösterirken, LD 50 değeri çeşitli türlerde 0.3 - 17.9 mg Af B1/kg vücut ağırlığı arasında değişir. Bugüne kadar aflatoksinlerin toksik tesirlerine karşı dirençli özellik kazanabilen hiçbir hayvan türüne rastlanmamıştır. Gerek akut gerekse subakut Af B1 zehirlenmelerinde ençok zarar gören organın karaciğer olduğu tesbit edilmiştir. Çok sayıda araştırma sonuçları göstermiştir ki, Af B_1 aflatoksinler içinde en kuvvetli kanserojen olup karaciğer tümörlerine ve karaciğer kanserine neden olmaktadır. Ratlarda günlük 10 mg/kg vücut ağırlığı; kanatlılarda da 6,5 -16,5 mg/kg vücut ağırlığı Af B1 miktarlarının karaciğer kanserine neden olduğu bildirilmektedir. Bugün için bilinmektedir ki vücuda alınan Af B1'in büyük bir kısmı karaciğerde enzimatik yolla metabolize olmaktadır (Şekil 5)



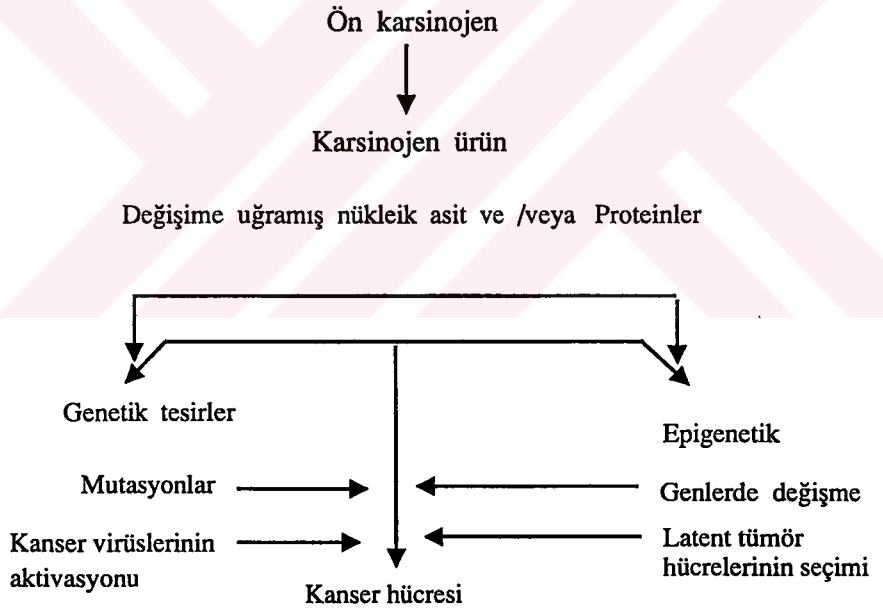
Şekil 4 : Aflatoksin B1 ve Metabolitleri

(Ergün 1992 'den alınmıştır).

Aflatoksinlerin hayvanlarda kansorejen etkilerinin bulunması bu toksinlerin insanlar için de kanser etmeni olmalarını mümkün kılmaktadır. Aflatoksinin akut zehirlenmelerinde ölüm, toksin alımından 72 saat sonra olmakta ve yapılan otopside karaciğerde büyüme, barsaklarda ve periton boşluğunda kanama görülmektedir.

Bütün aflatoksinler ve onların biotransformasyon ürünleri içerisinde Af B1 ; akut toksite, mutajenite ve karsinojenite için en optimal yapıyı taşımaktadır. Çünkü Af B1'in molekül yapısında ki her değişiklik biyolojik aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır.

Af B1 'in bazı metabolitlerinin neden olduğu kanser olayları şematize edilerek aşağıda açıklanmıştır.



Şekil 5: Af B1'in bazı Metebolitlerinin Kansorejen Tesirleri (Ergün 1992'den alınmıştır).

AF B1 ve diğer aflatoksinlerin gıdalardaki kalıntılarından tüketiciyi korumak amacıyla gelişmiş ülkelerde maksimum sınır miktarlar tesbit edilmiştir. Bu miktarlar ülkelere göre 10-50 ppb arasında değişmektedir (38).

Karsinojenlerin hayvanlarda tümörün meydana gelişi sırasında şaşırılacak oranlarda etkisi gösterilebilir. Aflatoksini sublethal dozda birkaç gün veya birkaç hafta alan hayvanlarda subakut toksite belirtileri; koyunlarda safra kesesi hiperplazisi, ve sığırlarda karaciğer lezyonları ve karaciğer sirozunu andıran belirtiler görülmüştür. Uzun süre subakut seviyede ve farklı toksin olan farelerde, tatlı su balıklarında kanserojen tipte karaciğer tümörleri saptanmıştır. Uzun süreli çalışmalar karaciğer tümörü insidansı ile alınan aflatoksin arasında bir oran olduğunu ve bunun miktarının 0,06 - 0.8 ppm arasında değiştiğini göstermiştir. Karsinojenlerin bazıları p -dimetil - amin - azobenzene, nitrozaminler ve aflatoksinlerdir.

Yapılan çalışmalar sonucunda aflatoksinlerin farelere çok yüksek oranda kanser etkisi olduğu kanıtlanmıştır. Fransa'da *A.flavus*'un hepatocarcinogenik bileşikler oluşturduğu gösterilmiştir. Bu bulgular WHO (FAO /UNICEF) 'nun yerfıstığı içeren yemekleri yetersiz beslenmiş çocuklar için kullanmaya karar vermesiyle aynı zamanda yapılmıştır. Bu dönemde Auborn Üniversitesi (ABD) yerfıstıklı yemeklerin kobaylarda karaciğer kanserine yol açtığını bildirmiştir. Aflatoksinle ilgili çalışmalar İngiltere'de de yapılmış ve sonuçlar hükümetlerinin dikkatini çekmiştir. Bu sebeple bu bileşiklerin basit,duyarlı analitik incelemeleri ve kontrolleri yapılmaya başlamıştır (93).

Kanserle ilgili araştırmalarda başlangıçtan gelişme ve sonucuna kadar birçok adım atılmıştır. Karsinojen, DNA'ya kovalent bağ ile bağlıdır.

Kanserdeki gelişme DNA'nın konakçıdaki onarım yeteneğine veya karsinojenin onu tolere edişine bağlıdır.

Aflatoksinin DNA'ya etkisi şu şekilde olmaktadır.

Aflatoksin ;

- Hücre ile hücre çekirdeklerine nüfuz eder ve sonra

- DNA (Deoxyribonucleic Asid) ile birleşir;

- Birleşme sonucu RNA (Ribonükleik Asid) sentezi azalır, m -RNA oluşturulması engellenir;

- M- RNA'nın engellenmesi nedeniyle takriben 15 dak. içinde protein sentezi bloke edilir ve mitoz safhasıda engellenmiş olur. ;

- Mitoz safhasının engellenmesini hücrenin ölümü izler.

Aflatoksinin yüksek karsinojenik olduğu gökkuşağı alabalık, fare, Gine domuzu ve maymunlar üzerinde tesbit edilmiştir. Aflatoksine duyarlı değişik türler vardır. Sıçan ve gökkuşağı alabalık türlerinde Aflatoksin B1 bilinen en kuvvetli kimyasal karsinojendir (76). Aflatoksinlerin ticari amaçlı üretilen gökkuşağı alabalık (rainbow trout) rasyonlarında karaciğer kistlerine sebep oldukları tesbit edilmiştir. Bu durumdan alabalıkların beslenmesinde kullanılan pamuk tohumu ve yerfıstığı yemlerinin sorumlu olduğu rapor edilmiştir. Yem olarak kullanılan pamuk tohumu keklerinde de (cottonseed cake) aflatoksinin mevcudiyeti ayrıca rapor edilmiştir (27).

Yapılan denemelerde alabalıkta 20 ppb Af B1 ile 20 aylık beslenme sonunda tümör oluşurken, Rhesus maymununda 500 mg B1'in 7 yıl verilmesi gerekmiştir. Civcivlerin hassasiyeti büyük farklılıklar göstermektedir. New Hampshire çok hassas, Beyaz Leghorn özellikle dayanıklıdır. New Hampshire - Beyaz Leghorn melezlerinin aflatoksikoza dayanıklı olmaları hassasiyetin genetik kökenli olduğunu göstermektedir (88).

Afrikanın değişik bölgelerinde gıdalarla alınan tahmini minimum aflatoksin miktarı ile başlıca karaciğer kanserlerinin görülme sıklığı arasında bağlantı kurulmuş ve bu durum aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo XVII : Aflatoksin alımı ve hepatoma oluşumu :

Ülke	Bölge	Aflatoksin alımı (ng/kg/gün)	Hepatoma görülme sıklığı (Yılda 100.000 kişide)
Kenya	Yüksek altitude	3.5	1.2
Tayland	Songkhla	5	2
Swaziland	Yüksek Veld	5.1	2.2
Kenya	Orta Altitude	5.9	2.5
Swaziland	Orta Veld	8.9	3.8
Kenya	Alçak Altitude	10	4
Swaziland	Lebombo	15.4	4.3
Tayland	Ratburi	45.6	6
Swaziland	Alçak Veld	43.1	9.2
Mozambik	İnhambane	222.4	13

(Sherlock ve Dooley 1989 'dan alınmıştır).

Tabloda görüldüğü gibi günlük aflatoksin alımının artışına bağlı olarak hepatoma oranının görülme sıklığı artmaktadır.

Aflatoksinin karaciğer karsinomu oluşumunda hepatit B virüsüyle sinergistik etkileyebilmesi karsinojen olma ihtimalini kuvvetlendirmektedir.

Hepatit B virüsüyle ilişkili primer hepatik karsinom vakalarının hepsinde olmasa da çoğunda HBV DNA'sı tümör hücresi DNA'sına entegre olmuştur (76).

Henan'da (Çin) Hepatoselüler karsinom gelişiminde risk faktörlerini araştırmak için vaka kotrollü bir çalışma yürütülmüş , bu çalışmanın bulguları hepatit virüsü enfeksiyononun, alkol içmenin, diyetle aflatoksin almanın HCC'nin olası etyolojik ajanları olduğunu düşündürmüştür (121).

Aflatoksin hepatit B ile ko - karsinojen olarak rol oynayabilir. Aflatoksinin hücresel cevabı baskılaması ve hepatit B taşıma oranı ve bundan dolayı primer karaciğer kanseri gelişme riskinin artabilmesi mümkündür.

Toksikolojik bakış açısından, aflatoksin epoksid oluşumunun önemli bir reaksiyon olduğu açıktır. Bu madde sentezlenmiştir. Aflatoksin B1 epoksidin, DNA'nın guanin rezüdüleriyle reaksiyona girdiği bilinmektedir. Guanin, tümör süpresör p53 geninin 243 - kodunun da 3.pozisyonda yer almaktadır. Bu gen ise hepatoselüler karsinomuyla ilişkili en önemli noktadır. Bu durum Mozambik'ten, Güney Afrika'dan ve Çin'den alınan tümör örneklerinde tesbit edilmiştir. Aflatoksinin artmış olan oranı da bu durum ile ilişkili olarak bulunmuştur. Mutasyonlarda coğrafik farklılıklar vardır. Aflatoksinin sorun olarak gösterilmediği İngiltere'de mutasyonlar nadirdir ve p53'ün kodonlarında fark vardır. Japonya'da farklı kromozomal lokalizasyonlar tesbit edilmiştir (8, 76).

ABD'nın güneybatı bölgesinde insanlar tarafından tüketilen aflatoksin ile ilgili olarak geçmişe yönelik yapılan çalışmada karaciğer kanserinden ölüm riski olan populasyon ile ülkede kırsal kesim populasyonu arasındaki ilişki araştırılmış ve şu görülmüştür . ABD' de aflatoksin düşük bir ihtimalle karaciğer kanserinin sebebi olmaktadır (8).

Sudan'da yapılan bir çalışmada yer fıstığı ürünlerindeki aflatoksin konsantrasyonunun hepatoselüler karsinom (HCC) insidansını arttırıp arttırmadığı araştırılmıştır. Yöresel pazarlardan 37 yerfıstığı yağı ve yerfıstığı numunesinden alınmıştır. Riskli bölge olan Batı Sudan'da, düşük riskli olan orta Sudan'a göre aflatoksin konsnatrasyonu anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Yerfıstığı ürünlerinin rutubetli yöresel depolama şartları, yüksek aflatoksin konsantrasyonu ile ilişkilidir. HCC hastaları ve kontroller üzerinde yapılan küçük bir vaka çalışmasında rutubetli depolama şartlarında, kuru depoloma şartlarına göre vaka sayısında bir artış olduğu görülmüştür (82).

Aflatoksin karaciğer kanseri ile ilişkisi en iyi gösterilmiş toksindir. Karaciğer kanserinin gelişmesi aflatoksinle bulaşmış besinlerin yenilen miktarı ile yakın ilişkilidir. Oluşan tümör

genellikle beyaz, bazen nekrotik ve safrayla boyalı ve hemorajik olabilir. Büyük hepatik ven dalları ile portal ven dalları tümörle tromboze olabilir. Japonya'da görülen tipinde tümörün etrafının fibroz bir kapsülle sarılı olduğu saptanmıştır. Aflatoksin B1 sitoplazmik redüktaz vasıtası ile aflatoksikole dönüşür. Dokularda birikir.

Ayrıca epoksid meydana gelir ve bunun mutajen etkisi vardır. Aflatoksikal toksin rezervuardır. Mikrozomal oksidaz sisteminin oluşturduğu metabolitler tümör meydana getirmezler. İnek sütündeki Aflatoksikal ve aflatoksin M1 aflatoksin B1 den 1/3 oranında tümör potansiyeli ve mutajen etkisi vardır. Hsich'e (53), göre aflatoksinin karaciğer karsinomunda rol oynadığı bilinen bir husustur.

Karsinojen etki için M1 den 50 kg bir insanın hergün 0,5 mg Aflatoksin alması gerekir (48). Küçük çocukların besinlerinde aflatoksin B1 B2, G1, G2 ve M1 'in azaltılması gerekir. Üçüncü dünya ülkelerinde aflatoksinler bitkisel ürünlerden alınır. Aflatoksin B2 ve primer metabolitleri inek sütünde, horoz ve domuz karaciğerinde ve yumartada bulunur (71). Domuz karaciğerinde aflatoksin B1 aflatoksin M1 'e dönüşür.

İnsanlardaki önemli aflatoksin hastalıkları aşağıda özetlenmiştir (11).

1) Akut Hastalıklar :

Ülkelerde gıda hijyeninin gelişmesi, gıdaların aflatoksinle kontaminasyonları ile genel sağlık rizikosunu geriletmiştir.Ancak yine de aflatoksine bağlı akut hastalıkara ait haberler de mevcuttur.

Welbech ve ark. (1968) Kanada'daki bir hastada ağır hazım bozuklukları ve tanınan hastalık semptomlarına benzemeyen belirtiler tesbit etmişlerdir. Bu hastanın yediği etli börek ve spagetti den aflatoksinojen küfler izole edilmiştir (102).

Uganda'da ölen bir gençte karaciğer sentral lobüler - nekroz tesbit edilmiştir. Bulgular maymuna suni olarak aflatoksin verilmesiyle beliren hastalık tablosunun aynısıdır (ölenin evinde hemen yapılan kontrollerde, menüde 1.7 µg/kg aflatoksin bulunmuştur).

Münih Hijyen Enstitüsünde incelenen bir vakada alınan aflatoksine bağlı olarak hastalık belirtisini göstermiştir. Erkek bir hasta sarı karaciğer distrofisi akut üst karın hastalığı ile ölmüştür. Hasta ölümden önce çok yüksek miktarda ceviz yemişti. Geriye kalan cevizden aflatoksinojen 3 tip küf suşu izole edilmiştir. Ölünün karaciğerinde de aflatoksin B1 bulunmuştur. Burada karaciğerin zarar görmesi ve aflatoksin arasındaki ilişki çok açıktır.

Philips ve ark. (1976) Missouri'de (USA) rektum ve karaciğer kanserli bir erkek hastanın karaciğerinde 0,52 µg/kg aflatoksin B1 tesbit etmiştir. 50 Fransız ölüsünün 3'nün karaciğerinde 3 µg/kg 'ın altında aflatoksin B1 tesbit edilmiştir (102).

2) Kronik Hastalıklar

Özellikle tropik ülkelerde gıda ile uzun süre aflatoksin alınırsa gelişir. Sıcak bölgelerde birçok toksijenik küf üreme şansı yüksek olduğu için hastalık riski de yüksektir.

Ayrıca bu bölgelerde yaşayan halk iyi depolanmamış bitkisel tarım ürünleriyle beslenir, bunların çok azı işlenmiştir. Genellikle gıdalar, taşıma ve depoloma kötü olduğundan küflenmiştir. Bu sayılan şartlarda hastalık riskini arttırır.

Aflatoksin alımına bağlı olarak gelişebilen primer karaciğer tümörü Avrupa Rusya ve Kuzey Amerika'da görülür. Afrika'nın güneyi ve uzakdoğu gibi tropik ülkelerde yaygındır.

Primer karaciğer kanserli vak'a sayısı yıllık olarak Norveç, Hollanda ve Kanada'da 100.000 de 1; Nijerya'da 9,8, Afrika'da 19.2 ve Singapur'da 31'e ulaşır. Endonezya'da benzer şekilde primer karaciğer karsinomu yüksektir. Endüstri bölgelerin de yaşan Afrika'lı ve Asya'lılarda kanser yüzdesi azalır.

Güney Afrika Cumhuriyetinde primer karaciğer kanseri 100.000 de 0,1; Danimarkalılarda 0,17 'dir. Sıklıkla küflü buğday tüketen Bantu halkında bütün kanser çeşitlerinin % 68'i karaciğer kanseridir. Güney Afrika'da beyazlar ayrı bir yemek alışkanlığına sahiptirler ve primer karaciğer kanserine yakalanlar nadirdir. Mısır'da da sıcak iklim, küf üremesi için uygun şartları taşımadığından primer karaciğer kanseri çok nadirdir.

Ancak Swasiland'da küflü gıdalar alımıyla ilişkili olarak çok yaygındır. Yerfıstığının *A. flavus*'la şiddetli bulaşık olduğu merkezde hastalık yüksektir. Burada yer fıstığı % 40 oranında aflatoksinlidir.

Bu ülkede aflatoksin kontaminasyonu olduğu belirlenen yerfıstıklarının toplandığı bölgelerdeki karaciğer kanseri vakalarının coğrafi dağılımını belirlemek için bir araştırma yapılmıştır. Sonuçta yer fıstığında kontaminasyonun yüksek olduğu bölgelerde karaciğer kanseri oranının diğer bölgelerden yüksek olduğu bulunmuştur.

Etyopya'da primer karaciğer kanseri çok yaygındır .

Mozambik'de gıdaların % 5,25'i aflatoksinle kontaminedir. Bu ülkede yerfıstığı önemli bir protein kaynağıdır. Ortalama günlük aflatoksin alımı vücut ağırlığı üzerinden kg başına 222.4 mg dır. 100 .000 de 28 -35 oranında karaciğer kanseri tesbit edilmiştir.

Kenya'da hububatta *A. flavus* izolasyonu yüksektir. Mısır, bezelye darıda günlük kontamine gıda alımı 3,2 µg / kg dır.

Tayland'da araştırma yapılan 2180 gıda numunesinin % 9.4'ü nün aflatoksinli olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada 2 yıllık süre içinde marketlerden, çiftliklerden, evlerden, dağıtıcılardan, imalathanelerden toplanan gıda maddeleri incelenmiştir. Yerfıstığı, darı, mısır, kurutulmuş kırmızı biber, örneklerinin aflatoksinle ençok kontamine olabilen gıda oldukları tesbit edilmiştir. En yüksek kontaminasyon değerlerinin insan beslenmesinde sık olarak tüketilen kurutulmuş balık (772 µg/kg), kuru kırmızı biber (966 µg/kg) mısır (2700 µg /kg) ve en yüksek oranda da yerfıstığı (12 000 µg / kg) örneklerinde olduğu belirlenmiştir (102).

Tayland'da ve yeni Zellanda'da ekseri çocuklarda sık görülen Rey's sendromunda kusma, kandaki glikoz düzeyinde anormal düşme, kasılma, koma ve çoğu kez ölüm şeklinde olmaktadır. Ölen 23 çocuğun 22 sinin karaciğerlerinde 93 µg/kg aflatoksin B1 saptanmıştır.

Uganda'da yerfıstıklarının % 15 'nde aflatoksin B1 1 µg /kg; % 2,5 'unda 10 µg /kg dan fazla bulunmuştur. Bitkisel gıdalarda bilhassa fasülye, darı, mısır, yerfıstığı v.b'de % 3.7 ' sinde 1 µg/kg'dan yüksek aflatoksin mevcuttur ki bu da aşırı kontaminasyon olarak kabul edilir. Bu ülkede aflatoksin zehirlenmesinde akciğer ödemi, kalp yetersizliği karaciğer nekrozu, ve büyümesi görülmüştür.

ABD'de kalın barsak kanserinde aflatoksinin etkenler içinde olduğu bildirilmiştir.

Batı Hindistan'da 1974 'de 200 köyde yüksek sayıda ölçümler olmuştur. Evlerde gıda artıkları ile beslenen köpekler de hastalanıp ölmüştür. Bunların tükettikleri gıda (mısır, buğday) da, kan ve idrarlarında aflatoksin tesbit edilmiştir.

Çekoslovakya'da *A. flavus* ile bulaşık yer fıstığı ununun sterilizasyonda 3 ay çalışan bir erkeğin akciğer dokusunda aflatoksin B1 saptanmıştır.

Genellikle çocuklarda encephalopati ve karaciğer başta olmak üzere, iç organlarda yağlı dejenerasyonla beliren hastalık tablosu, Tayland ve yeni Zelanda gibi pirinç yenen bölgelerde önemlidir. Ölen 23 çocuğun 22'sinin karaciğerinde 93 µg/kg miktarında aflatoksin B1 ispatlanmıştır.

Çekoslovakya'da 27 vaka'nın karaciğerinde aflatoksin tesbit edilmiştir.

Karbonhidratları metabolize eden enzimlerle ilgili bir çalışma yapılmış ve bu çalışmanın sonucunda Aflatoksin B1 in sebep olduğu Hepato - selüler karsinomaya karşı Semecarpus anacardium yemişinin etkstraktlı bitkisel ilaç olarak geliştirilmiştir. Glikolitik ve glikoneogenik enzimlerin aktiviteleri ve tümör gelişimi arasında belli bazı bağlantılar

vardır. Bu enzimlerin aktivitelerindeki değişikliğin tesbiti; teşhis ve sonucun başarılı göstergesi olarak kullanılabilmiştir. Bu mevcut çalışmada ilaçla tedavi edilmiş hayvanlarla, hepato - selüler karsinomaya maruz kalmış farelerde glikolitik ve glikoneogenik enzimlerin aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Bu enzimlerin değişimi hepatoselüler karsinomalı farelerin karaciğer ve plazmasında gözlenmiştir. *Semacorpus anacardium* yemişinin ekstraktı ile tedavi edilmiş hayvanlarda normal değerlere yakın glikoneogenik (yeniden sentez) enzimlerin aktivitelerinde artış ve glikolitik enzimlerin aktivitelerinde azalış anlamlı bulunmuştur (89).

Bilinen en kuvvetli kimyasal kanserojen maddelerden biri olan aflatoksin B1'in insan ve hayvanlar üzerindeki toksik etkisi bugün tamamen belgelerle sunulmuş durumdadır.

Aflatoksin B1'in birçok hayvan türünün karaciğer ve diğer organlarında kanser yapıcılığı kanıtlanmıştır. Afrika ve Güneydoğu Asya'daki epidemiolojik çalışmalar, insanlardaki karaciğer kanseri oranı ile günlük diyetlerdeki aflatoksin kontaminasyon düzeyi arasında korelasyon olduğunu göstermiştir. Bununla beraber gıdalardaki Af B1 , gözlemlemek ve gıdaların depolama özelliklerindeki ve işleme tekniklerindeki halk bilincini arttırmak için gösterilen çabalar sınırlandırılmıştır (100).

Türkiye'de 1983 -1984 kasım aylarında Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığına ihbar edilen 183 karaciğer kanser olgusuna sahip kişilerin aflatoksin oluşumu için elverişli iklim koşullarına sahip olduğu varsayılabilecek bölgelerde toplanmış olması dikkat çekicidir (72).

Yaygın toksik madde ve maddelerin sebep olduğu karaciğer hasarı gibi benzer morfolojik değişiklikler öne sürülmüştür. Bazı aflatoksin zehirlenmelerinde tarif edildiği gibi çok çekirdekli (multinükleotid) dev hücreler veya fibrosis delil olarak bulunmasa bile birçok aflatoksin ve parasetamol zehirlenmelerinde pekçok morfolojik değişikliğin olduğu tesbit edilmiştir.

Malezya ve Singapur laboratuarlarında yaygın zehirler üzerine toksikolojik analizler yapılmış ve esas olarak negatif sonuçlar bulunmuştur.

Liverpool School of Tropical Medicine'e gönderilen doku örnekleri çalışılmış ve sonuçların çok fazla negatif olmadığı görülmüştür. Bu çalışmadan aflatoksin mağdurlarının beyin, akciğer, böbrek, karaciğer dokularındaki aflatoksin seviyeleri de bulunmuştur.

Ne yazık ki daha sonraki zamanda aflatoksinle kontamine gıdalar hem pişmiş hem de çiğ olarak analiz edilmediğinden ve negatif sonuç vermiş mamullerden örnekler toplandığından elde edilen negatif sonuçların pek sağlıklı olmadığı sonucuna varılmıştır.

Yaygın olan faktör ve faktörlerin sebep olduğu salgınların epidemiyolojik, klinik, patolojik ve toksikolojik araştırması yapılmış olup; aflatoksin ve borik asitle kirlenmiş gıdaların en çok görülen intoksikant (zehirli madde) olduğu bulunmuştur (26).

Bugün ayrıca pirimer karaciğer kanserine sebep olan hepatit B virüsüyle aflatoksin arasında sinerjistik etki olduğuna inanılmaktadır. Bu multifaktörial etyoloji teorisi hepatokarsinojen mekanizmaları üzerindeki moleküler genetik araştırmalardan elde edilen son bulgularla hızla destek kazanmaktadır (41).

Aflatoksinle kontamine olmuş gıda maddelerinin büyük bir problem olduğu şimdiye dek sistematik uygulamalarla ana hatlarıyla çizilmiştir. Aflatoksinin karsinojenik bir bileşik olduğu ve insan populasyonunu bu yönde etkilediği de tesbit edilmiştir. Bu nedenle tümör oluşumunun azaltılması ile kontaminasyonun engellenmesi konusunda önde gelen faaliyetleri olan otorite kuruluşlar oluşturulmuştur. FAO , WHO, EEC ve Afrika Yerfıstığı Konsülü (African Groundnut Council) gibi kuruluşlar ithal edilen, ihraç edilen veya iç piyasada satılan kontamine ürünlerin kontrolllerinde yol göstermek amacıyla kurulmuştur. Aflatoksinler için çeşitli ülkelerde 0 -1000 µg / kg sınırları arasında tolerans limitleri belirlenmiştir. Bu limit ABD 'de yerfıstıkları için total aflatoksin (B1, B2, G1, G2) limiti 20 -25 µg / kg olarak tesbit edilmiştir. Bu limitler yer fıstığı ürünlerinde 15 µg / kg 'a düşmektedir. Ancak bu resmi tolerans seviyesi değildir. ABD de son yayınlarda tolerans seviyesi 15, 10 veya 5 µg /kg seviyede kanser riski görülmez.

Aflatoksinin kanser riski üzerine bir araştırma pirinç yetiştiren toplum olan Texas'ta yürütülmüştür. Bu araştırmada pirinç yetiştiren ve yetiştirmeyen bölgelerde yaşayan insanlarda gastrointestinal ve ürüner sistem kanserlerinin sebep olduğu ölümlerin oranları karşılaştırılmıştır. Sonuçta 2 bölgedeki ölüm oranları arasında anlamlı bir farklılık görülememiştir. Bununla birlikte 100 pirinç örneğinde hiç Af B1 , Af B2, Af G1 , veya Af G2 izine rastlanmamış, 2 pirinç tozu örneğinde 55, 6 µg/kg seviyesinde aflatoksin tesbit edilmiştir (60).

ABD 'de FDA (Food and Drug Administration)'nın yürüttüğü insan tüketiminde kullanılan yerfıstığı ve yerfıstığı ürünlerindeki aflatoksin konsantrasyon ortalamasını 2 ppb bulmuş, bu miktarın ABD 'de kişi başına günlük tüketimin 0,005 ppb olduğu tahmin edilmektedir (60).

Gıdalar içinde kabuklu yerfıstığının üretiminin tüketildiğini düşünürsek ABD 'de günlük ortalama olarak vücuda alınan miktarı 0,01 ppb Afrika ve Tayland'daki epidemiyolojik verilere dayanılarak, aflatoksinin 0,01 ppb lik vücuda alımı sonucunda 58 adet aflatoksine bağlı karaciğer kanseri vakası yıllık olarak tahmin edilmiştir. Daha yüksek bir tahmin olarak yıllık 158 aflatoksine bağlı kanser olgusu oldukça hassas bir tür olan fareler için tahmin edilmiştir. Karaciğer kanseri için aflatoksin alımına bağlı risk tesbiti gereklidir. Bu gereklilik çiftçilik ve üretimdeki maddi kayıplar olduğunda, gelişmekte olan ülkelerde aç insanlara gıda desteğindeki azalma meydana geldiğinde ve halk sağlığındaki uzun dönem riskleri düşünüldüğünde söz konusudur.

Sekiz doğal besinin Af B1 ve fungus extrelerinin mutajenik etkilerini inhibisyonunu tesbit etmek için yapılan bir araştırma da küfün TA 98 ve TA 100 mutantlarında mutajenik aktiviteyi uyaran *A. versicolor ve A. ochraceus*'un metabolik ekstreleri ve AFB1, üzerindeki antimutajenik etkinlikleri açısından 8 doğal besin test edilmiş, bu doğal besinler ilave edildiğinde *A. versicolor* ve *A. ochraceus*'un metabolik ekstreleri Af B1 tarafından uyarılan dönüşümünün anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir (94).

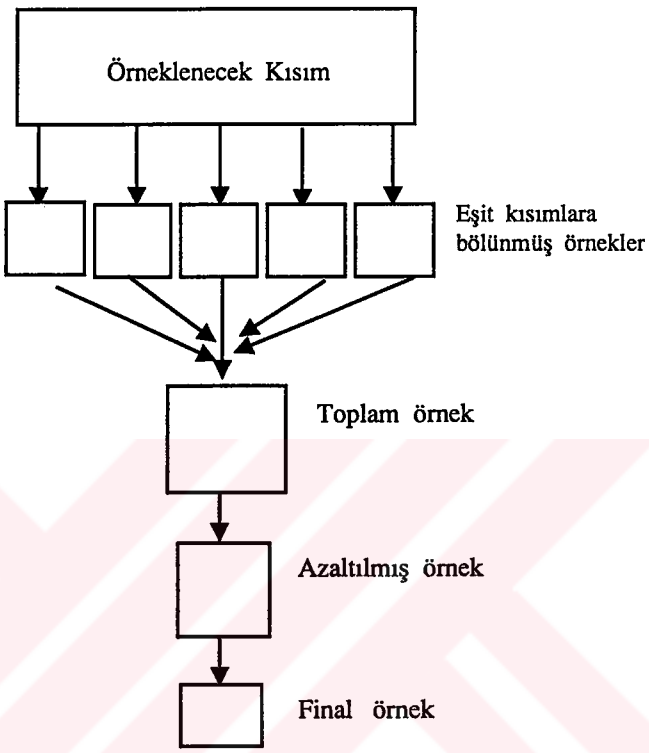
Meksika'ya has bir besin olan Tortillalardaki (bir çeşit sac pidesi) aflatoksinler üzerinde bir çalışma yapılmıştır. Ticari kaynaklı tortillarda çevreden olan kontaminasyonu sonucu oluşan veya bunların yapımında kullanılan doğal olarak kontamine olmuş mısırdan yapılan aflatoksinli tortillalar ördek yavrularına verildiğinde aflatoksikoza işaret eden karaciğer hasarı ve belirgin kilo kaybı bildirilmiştir. Meksika'da ve diğer Latin Amerika ülkelerinde olduğu gibi mısır tortillasının diyetteki ana besinlerden biri olduğu yerlerde, bu çalışmanın sonuçlarına göre anlamlı aflatoksin miktarları içerdiği söylenebilir. Bu durum bu ülkelerde önemli bir halk sağlığı problemi olarak kabul edilebilir (1).

2.4. Örnek Alma ve Aflatoksin Analizleri

Örnekleme analiz prosedürünün tamamlayıcı bir parçasıdır. Örnekleme prosedürünün amacı alındığı grubun temsilcisi olabilecek bir laboratuar numunesi elde etmektir. Bir grubu kabul veya reddetme kararı, numunenin analizinden elde edilen delillere dayanacaktır. Bu açıdan örnekleme önem taşımaktadır. Örnekleme bazı durumlarda büyük sorun olabilir (Örneğin toksinin görünen tüm yığına homojen olmayarak dağıldığı durumlarda). Yerfıstığı tarlalarında iyi taneler arasına eşit olmayarak birkaç aflatoksin türü içeren yerfıstığı karışmış olabilir. Örneğin yapılan bir çalışmada aflatoksin B1 'in ortalama konsantrasyonu 36 µg/kg olarak bulunmuştur. Halbuki sonuçlar 0 -165 µg /kg arasında değişmektedir (95). Bu örnek açıkça göstermektedir ki grubun, birkaç analize dayanarak kabul veya reddedilmesi istendiğinde zorluklarla karşılaşılmaktadır. Gerçek toksin içeriğini en iyi şekilde tahmin edebilmek için hangi örnekleme yönteminin kullanılması gerektiği hususunda istatistikçiler ihtilafa düşmektedirler. Bu problemlere rağmen bazı ürünler için örnekleme önerilmiştir. Avrupa ülkelerinde resmi olarak kullanılan yemler için yapılan örnekleme metodu bir örnek olarak verilebilir.

Aflatoksin kontaminasyonu tek bir çeşit değildir. Temsili örneğin büyük yığınlarda analiz için alınması güçtür. Bilinen yaklaşım, öğütme için büyük örnek alımı, daha sonra da ekstraksiyon ve analiz için daha küçük alt örneklerin alınmasıdır (95).

Yanlış örneklemeden kaynaklanan sağlıksız sonuçları önlemek amacıyla bazı komiteler oluşturulmuştur. Örneğin bunlardan bir tanesi Avrupa Birliği (AB)' dir. Bu komitenin kullandığı örnekleme metodu aşağıdaki şekilde şematize edilmiştir. Örnek miktarı olarak analiz için 20 -100 gr örnek hazırlanmış olur.



Şekil 6 : Gıda maddeleri ve yem için örnekleme metodu

(Samson ve Von Reenen 1988'den alınmıştır).

Örnek alma aşamasındaki esas sorun aflatoksinin üründe homojen bir dağılım göstermemesi nedeniyle her partide genellikle çok az sayıdaki tane, aflatoksinle yüksek düzeyde bulaşık; buna karşılık partinin büyük kısmı ise temizdir. Yüksek düzeyde bulaşık tanelerin analiz edilecek örneğe girmesi halinde değerler ortalamanın çok üzerinde çıkacak örneğe alınmaması halinde de gerçek değerlerin altında sonuçlar bulunacaktır.

O nedenle yukarıdaki şekilde de görüleceği gibi her ürünün özelliğine uygun ve hem üretici hem tüketici açısından kabul edilebilir örnekleme planlarının hazırlanması gerekir. Tüketicinin uygun şekilde korunması ve toplumun gereksiz yere faydalı besinlerden mahrum

kalmaması için örnekleme (numune alma) planları şarttır (76). Öncelikle aynı özelliğe sahip partiler tanımlanmalı, ürünün hareket halinde olduğu noktalar partiyi temsil edecek tesadüfi örnekler alınmalıdır. Bu örnekler mutlaka belirli sayıda küçük örnekten oluşmalıdır.

Örneklemede esas ilke, örneği partiyi olabildiğince iyi temsil edecek şekilde seçerek hem tüketici hemde üretici riskini mümkün olan en alt düzeye çekebilmektir.

Rastgele örnekleme de iyi bir örnekleme yöntemidir. Bu çalışmamızda piyasadan rastgele seçilen örnekler analize edilmiştir. Alınan örneklerin homojenize edilerek analize hazırlanması ikinci adımı oluşturmaktadır. Bu açıdan kuru yemiş, yerfıstığı, mısır gibi öğütülerek iyi bir karışım elde edilebilen örnekler, zeytin veya incir gibi yağ veya şeker oranı yüksek ürünlere oranla daha avantajlıdır.

Mikotoksinlerin tetkik ve tesbitine imkan veren iki yaklaşım vardır : Biyolojik ve kimyasal metotlar. Biyolojik metodlar bilinen ve bilinmeyen mikotoksinlerin belirlenmesinde yardımcı olabilir. Bir örnek olarak, aflatoksinlerin keşfedildiği dönemle de önemli rol oynamışlardır. keza bio - assay'lar genellikle özgünlük ve tekararlanabilirlikten mahrumdurlar. Mikotoksinlerin tesbiti için kimyasal tayinler tercih edilirler. Ancak bunlar biyolojik metodlardan daha pahalıdır.

Aflatoksinlerin kimyasal analizinde örnek alma ve örneklerin analize hazırlanması (kabuk soyma, tartma v.s) aşamalarını toksinin extraksiyonu takip eder. Mikotoksinler genellikle kloroform, diklormetan, asetonitril, aseton ve methanol gibi bir organik solvent ile extrakte edilir. Bu solventler çok az miktarda su veya asit kombinasyonu ile kullanılır. Final ayırmanın mümkün olabilmesi için az miktardaki extraktta dahi geri kazanım (recovery) yüksek olmalıdır. Sıklıkla yağlar ve uygun konsantrasyonu engelleyen diğer maddeler ayrılır. Kalitatif ve Kantitatif analize geçmeden önce toksinin saflaştırılması , yanlış sonuca neden olabilecek maddelerin uzaklaştırılması gerekir. Böylece örnekler HPLC deki ayırmaya hazır hale getirilmiş olur.

Çeşitli kolon kromotografik temizleme işlemi için kullanılan materyaller silikagel, aliminyum oksit, polyamide, Florisil® ve

Sephadex ® ' tir. Silikagel ise sıklıkla kullanılır. Bu materyaller laboratuarda kolonlar içine paket edilebilir. Ancak günümüzde bu kolonlar mikotoksinlerin analitik analizleri için hazır halde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Silikagel'de absorbe edilmiş aflatoksinin çok kuvvetli floresans verdiği uzun zamandan beri bilinmektedir. Son zamanlarda araştırıcıların floresans dedektörü ile silikagelli cell - packed kullanarak 4 aflatoksin için de çok hassas sonuçlar almayı başardıkları rapor edilmiştir (95).

SEP - PAK , BAKER gibi hazır kolonların çok fazla avantajı vardır. Örnek extraktı bu kolona ilave edilir ve mikotoksinin kolonda tutulması sağlanır. Daha sonra kolon toksinin içinde çözünmeyeceği bir çözücüde yıkanır. Buradaki toksin bir solvent kompozisyonu tarafından elue edilir. Eluat ise bir kapta toplanır. Likit extrakt ayırıcı huniye konur. Burada toksinler yok olmadan yağlar uzaklaştırılır. Konsantrasyondan sonra final extrakt elde edilmiş olur. Bu extrakt HPLC' ye enjekte edilir ve mobil faz bu esnada kolonun içinden yüksek basınç altında geçirilmektedir.

HPLC fungal tiplerin (küf tiplerinin) ikincil metabolitlerinin profillerini kullanarak onları identifiye ve karakterize eden bir düzen dahilinde ayırma yapan çok etkili bir yöntemdir.

HPLC işleminde mikotoksin konsantrasyonunu determine etmek için sıklıkla UV (Ultraviyole) veya floresans detektörü kullanılır. UV detektörü çok seçici değildir. Ayrıca TLC ile elde edilen aflatoksinler için dedeksiyon limitleri çok fazladır. Nano gram (ppb) düzeyinde hassasiyetle sonuç verir. Öncelikle floresans dedektörleri ayırım için iyi alt limitlere sahiptir. Çünkü aflatoksin B1 ve B2 normal fazda kuvvetli floresans sergilemezler. Floresans detektörü pikogram düzeyinde (ppt) rahatlıkla ayırım yapabilir.

Aflatoksin floresansının şiddetini arttıran çok çeşitli teknikler önerilmiştir. Bunlar arasında özellikle dünyaca kabul edileni; kolon sonrası iyot ile türevlendirilerek tanımlamadır (95).

Aflatoksinlerin miktar tayinlerinde ince tabaka kromotografisi (TLC) , yüksek basınç likit kromotografisi veya enzim bağlı immuno Sorbent Assay yöntemi (ELİSA) kullanılabilmektedir.

Yerfıstığı ezmesindeki aflatoksin tayini için üç ayrı metod uygulanmış ve bu metodların istatistiki mukayesesi üzerine bir araştırma yürütülmüştür. Uygulanan metodlar HPTLC (High - performance Thin - Layer chromatographic metod) ELİSA (Enzyme - Linked Immunosorbent Assay) ve HPLC (High - performance Liquit Chromatography) istatistiksel testler sonucu elde edilen veri kümelerinin dağılımının her üç metodda da benzer olduğu bulunmuştur. Genel sonuçlar HPTLC metodunun daha sabit veriler, nisbeten daha düşük standard sapmalar verdiğini göstermiştir. ELİSA yönteminin HPTLC ve HPLC metodlarından daha az kesin olduğu ve matrix interferansından (çatışma / uyumsuzluk) kaynaklanan bir miktar duyarlılık kaybına eğilimli bulunduğu belirlenmiştir (30).

ABD'de mısır yemeği, patlamış pısır, pirinç, buğday, çiğit ve yerfıstığında aflatoksinleri saptamak için spektrofotometrik yöntem kullanılmış ve bu yöntemle 5-5000 ppb aflatoksin dilisyonsuz nicel olarak saptanabilmiştir (70).

Metodoloji konusunda yapılan çalışmaların sonucu şu şekilde özetlenebilir. HPLC TLC'den daha geniş sınırlar içinde çeşitli bileşikleri analiz edebilmekte, hava, ışık ve ısı ile kolayca bozulabilen bileşikler tayin edilebilmektedir. Burada kullanılan floresans dedektörüyle daha hassas teşhis olanakları elde edilmekte olduğunda ve HPLC otomasyonunda ciddi ilerlemeler kaydedildiğinden kısa sürede sonuç veren bir enstrümental analiz tekniği olarak kabul edilmektedir (88).

Tarımsal ürünler ve gıda maddelerindeki aflatoksinlerin tesbiti için birçok kromotografik metot kullanılmaktadır. Geçtiğimiz son 20 yıl içinde aflatoksinlerin belirlenmesi ve miktar tayini için ince tabaka kromotografisi (TLC) kullanılıyordu. Çünkü bu metot kolay hızlı ve ucuzdu. Bununla birlikte yukarıda sayılan avantajlarından dolayı floresans dedektörü, kullanılan HPLC metodu aflatoksin tayinini ve aflatoksinlerin belirlenmesi açısından güncelliği gittikçe artan bir metod olarak seçilmiş ve bu teknik uzun ve zor bir iş olan aflatoksin tayinini kolaylaştırdığından tercih edilerek kullanılan bir metot olmuştur (50).

Aflatoksin ekstraksiyon yöntemlerinin kullanılmasında Aksoy ve Nagler (6), 3 farklı yöntem olan Florisil kolon, Bondelut kolon ve İsviçre Resmi Yöntemi kullanarak kuru incir örneklerinde extraksiyon ve temizleme işlemlerini yaparak aflatoksin tayini

yapmışlar ve bu üç metodun şu anda kuru incirlerin aflatoksin analizinde uygulanan diğer metodlarla karşılaştırıldığında uygun göründüğünü bildirmişlerdir.

Tayland'da Hükümet, akademi ve sanayi kesiminin laboratuvarlarında bir aflatoksin yeterlik testi yürütmek amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Aflatoksinsiz yerfıstığı ve mısır örnekleri ile aflatoksinle doğal olarak kontamine olmuş yerfıstığı ve mısır örnekleri analiz edilmiştir. Enzim bağlı immunosorban assay, ince tabaka kromotografisi ve minikolon yöntemi olmak üzere 3 ayrı yöntem karşılaştırılmıştır. Doğal olarak kontamine olmuş mısırlar için sonuç bildiren 19 laboratuvardan, 13'nün performansı akredite bir laboratuvar tarafından elde edilen sonuçlara göre yeterli olduğu bulunmuştur. Doğal olarak kontamine olmuş yerfıstıklarında aflatoksin konusunda sonuç bildiren 21 laboratuvardan 10'nun yeterli olduğu bulunmuştur (178).

Bu çalışmada aflatoksin analizinde yukarıda açıklanan avantajlar dikkate alınırak, HPLC yöntemi en uygun yöntem olarak seçilmiştir.

2.5. Aflatoksinlerle İlgili Mevzuat

Mikotoksinler ve bu arada aflatoksinlerin insan sağlığına aşırı etkisi nedeniyle bu metobilitlerin gıda ve yemlerde sınırlanması yoluna gidilmiştir. Bu konuda belirlenen sınır değerler ülkelere göre bazı farklılıklar gösterse de büyük ölçüde benzerlik veya yakınlık görülmektedir. Örneğin ABD ve Meksika'da tüm gıdalarda bulunabilecek toplam aflatoksin (B1 +B2 + G1 + G2) miktarı 20 µg /kg olarak sınırlanmıştır. Güney Afrika Cumhuriyeti aflatoksin B1 için 5 µg /kg üst sınırını getirirken, toplam aflatoksinleri 10 µg /kg üst sınırı ile kısıtlamıştır. İngiltere, fındık ürünleri için B1 'i 50 µg /kg, Fransa bebek maması üretiminde kullanılacak sütlerde M1'i 0,2 µg /kg ; Almanya ise sütte 0,05 µg /kg ve bebek maması için 0,01 µg /kg M1 üst sınırlarını getirmiştir (41).

Gökkuşağı alabalık ve sıçanlar üzerinde yapılan karsinojenite çalışması M1 'in aflatoksin B1 'den çok daha az karsinojenik olduğunu ortaya çıkarmıştır. Fakat bu çalışmalar M1 'in gerçek karsinojenitesini yeteri kadar belirtmekten uzaktır. Yüksek toksisitesi ve muhtemel karsinojenik etkisi konusundaki belirsizlik dolayısıyla, besinlerde bu maddenin varlığı istenmeyen bir husustur. Bu yüzden birkaç ülke sütte ve süt ürünlerinde M1 kontaminasyonunu kontrol etmek için yasal uygulamalar getirmiştir (41).

Amerika Birleşik devletlerinde aflatoksinin sağlığa risk altına sokmasının mümkün olduğunun görülmesi üzerine 1965 den beri gıdalardaki aflatoksin miktarının sınırlarını tesbit çalışmasını ABD Gıda ve İlaç Bakanlığı ya da kısa adıyla FDA yürütmüştür. Günümüzde gıda işleme uygulanmaları nedeniyle aflatoksinlerin bulaşmasından korunma veya onların eliminasyonu mümkün olmadığı gözönünde tutulan bir görüş noktası olmuştur. Gıdalarda aflatoksinlerin sağlığa zararlı olduğunun kabul edilmesinden beri aflatoksinler FDA tarafından zehirli ve zararlı bir gıda kontaminantı olarak düşünülmüştür (60).

1965'de aflatoksinler zehirli ve sağlığa zararlı maddeler sınıfına dahil edilerek, yerfıstıkları ve ürünlerinde 30 ppb düzeyi sınır kabul edilmiştir. Ancak bu düzey 1969'da 20 ppb'e indirilmiş ve tüm gıdalara uygulanmıştır. Daha sonraki yıllara FDA mısır, tahıl ve yerfıstığı ürünlerinde yaygın survey çalışmaları yapmış ve 1974'de yerfıstığı ürünlerinde ve yağında 15 ppb 'lik düzeyi kabul etmiştir. Fakat bu kararı tüketici grupları desteklerken endüstriden büyük itiraz

gelmiştir. 1977 de hasat mevsiminin yağışlı geçmesi sonucu mısırda aflatoksin düzeyi 20 ppb'yi aşmıştır. Ekonomik kayıplar yönünden FDA kontamine olmayan ürünlerle paçal yapılması ve aflatoksin düzeyinin bu şekilde indirilmesini önermiş ve kontamine mısırın yalnızca hayvan yemi olarak kullanılmasına izin verilmiştir (72).

FDA, çevresel koşullar yüzünden kontamine olmuş tahılların hayvansal yem üretiminde kullanılması durumunda oluşacak istisnaları dahi tekrar tekrar inceleyerek limitleri belirlenmiştir. Çünkü bu istisnalarda kabul edilebilirlik limitlerinin üzerine çıkılabilmektedir. Bazı ürünlerdeki kabul edilebilir. Aflataksin limitleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo XVIII : FDA tarafından belirlenen aflatoksin seviyeleri

Gıda	Limit (µg/kg)
Brezilya fıstığı	20
Gıda ve Yem	20
Süt	0.5
Yerfıstığı ve ürünleri	20
Antep fıstığı	20

(Labuza 1983 'den alınmıştır)

Günümüzde birçok ülkede gıdalardaki aflatoksin limitleri tesbit edilerek düzenli olarak bu limitlerin kontrolu yapılmaktadır.

Tablo XIX 'da görülebileceği gibi bu değerler ülkelere göre farklılık gösterir. Ayrıca bazı ülkeler toplam aflatoksin için tolerans bildirirken bazıları B1 ve toplam için ayrı ayrı limitler ortaya koymaktadır. Bu değerler bazı ülkeler de tüm gıda maddelerini kapsarken diğer ülkelerde aflatoksinle bulaşma riski en yüksek olan ürünlerde (yerfıstığı, kabuklu meyveler veya tahıllar) geçerleri olmaktadır. Yine bazı ülkeler bebek mamaları ve çocuklarca tüketilen ürünler için daha düşük değerler belirlemiştir (7).

Hans Van Egmond 1986-1987 yıllarında mikotoksin kanununa dair bilgileri karşılaştırmak için dünya çapında bir araştırma gerçekleştirmiştir. Bu sırada 50 ülkede besinlerde geniş bir konsantrasyon aralığında tolere edilebilen B1 aflatoksin mevzuatı mevcuttur. Bu ülkeler aflatoksinler konusunda cebri veya öneri mahiyetinde düzenlemeler getirmişlerdir. O dönemde tolere edilebilen maksimum aflatoksin B1 seviyeleri 0'dan (yani tayin edilemeyen miktar) 50 µg/kg a kadar değişiyordu. 1991 ve 1993 yıllarında yapılan araştırma sonunda bu konuda uluslararası fazla bir konsensüs olmadığı da tesbit edilmiştir (76).

İtalya'da Modena bölgesinde 1991 yılında üretimi yapılan parmesan peynirlerinde aflatoksin M1 'in HPLC yöntemiyle tesbiti yapılmıştır. 200 adet taze parmeson peynirinin 18'inde düşük konsantrasyonda (0,190 µg/kg) aflatoksin M1 tesbit edilmiştir. İtalya gıda kanunu bu aflatoksin için herhangi bir müsade edilebilir maximum seviye göstermemiştir. Swiss Federal Bureau of Health (Swiss federal sağlık dairesi) aflatoksin M1 için maximum sınır olarak 0,250 µg/kg değerini vermiştir (20).

1988'den sonra İngiltere'de liman yöneticileri ithal fındık, ve kuru incirde toplam aflatoksini 10 µg/kg ile sınırlayan bir kılavuz kullanmışlardır. 1992 'de fındık, kuru incir ve bunların doğrudan insan tarafından tüketilen ürünlerinde aflatoksin B1 için 4 µg/kg lık limit getirilmiştir. Ancak bu ithal maddeleri daha sonra aflatoksin B1 konsantrasyonunda azalmaya yol açacak şekilde işlenecekse 10 µg/kg 'a izin veriliyordu. Avrupa topluluğu bu seviyeyi aflatoksin B1 için 0,2 µg/kg'a düşülmüştür. Aflatoksine maruz kalmayı kontrol etmek amacıyla böylesine düşük konsantrasyonların kullanımı çok uygun analiz metodlarını ve çok uygun örnekleme planlarını gerekli kılmaktadır. Tüketicinin uygun şekilde korunması ve toplumun gereksiz yere faydalı besinlerden mahrum kalmaması isteniyorsa örnekleme planlarının yapılması zorunluluğu vardır (76).

Tablo XIX. Bazı ülkelere ait kabul edilebilir en yüksek Aflatoksin değerleri

Ülke	Ürün	Tolerans değerleri (ppb) B1	Toplam Aflatoksin
ABD	Tüm gıdalar	-	20
Avustralya	Tüm gıdalar (yerfıstığı hariç)	--	5
	Yerfıstığı ve mamülleri	--	15
Belçika	Tüm gıdalar	5	10
Çekoslavakya	Tüm gıdalar (Bebek ve çocuk besinleri hariç)	5	0.2
	Sütlü mamalar	0.1	--
	çocuk ve bebek besinleri	1	2
İsveç	Tüm gıdalar	-	5
İsviçre	Tüm gıdalar	1	5
Almanya	Tüm gıdalar	2	4
Fransa	Tüm gıdalar	--	10
	mamalar	--	5

(Aksoy 1990'dan alınmıştır).

En önemli mikotoksinlerden biri olan aflatoksinlerin ulusal ve uluslararası güvenli değerlerine ilişkin detaylar ve İngiltere'de tüketiciyi korumak için düzenli kontroller yapılmaktadır.

Mikotoksinler üzerine ulusal kanunların AB 'ye dahil ülkelerde uyum sağlaması için AB tarafında öneriler geliştirilmiştir. Bu doğal toksikantların ortaya çıkardığı riskler tüketicinin bilinçlendirilmesi ile anlaşılır. Mikotoksinlerin varlığı tüketici güvenliği için potansiyel bir tehditdir. Sürekli dikkat uyulan düzenli ve öneriler limitleri sağlamak için gereklidir.

İngiliz Tarım ve Balıkçılık Bakanlığı (Ministry of Agriculture Fisheries and Food) tarafından düzenli olarak, en fazla kontaminasyon riski taşıyan gıdalarda kontaminasyon ölçümleri yapılmaktan ve tüketici açısından her nerede problem ortaya çıkar ise mümkün olan en kısa sürede endüstri, hızlı yayın vasıtasıyla uyarılmaktadır. Daha sonraki zamanlarda kontaminasyonu izlemek suretiyle tüketici sağlığını koruyucu ve etkili bir yöntem izlenmiş olur. Etkin denetim nedeniyle AB'ye dahil ülkelerde, az gelişmiş ülkelerin taşıdığı riskten daha az risk mevcuttur. Bu şekilde ithal ürünlerde kontaminasyon kontrolü yapılarak uygun olmayan ürünler geri çevrilmekte ayrıca gerek toptan gerekse perakende satılan gıda maddelerine sıkı kontrol uygulanmaktadır (18).

1992'de İngiltere'de yayınlanan mevzuatta (Aflatoxins in Nuts Nuts Products, Dried Figs and Dried Fig Products Regulations) gıda maddeleri ve işlemi tamamlanmış gıda ürünleri için toplam aflatoksin limiti 4 µg /kg olarak belirtilmiştir. İşlem görmemiş gıdalarda 10 µg /kg limiti konmuştur. Buna ilave olarak özellikle tüketimden önce ileri derecede işlem görmüş yerfıstığı örnekleri için limit daha yüksek tutularak aflatoksin B1 için 8 µg/kg, total aflatoksin için 15 µg/kg sınırı getirilmiştir . İngiltere'de tahıl, kurutulmuş meyve (incir hariç) ve süt önemli bir aflatoksin kaynağı olan ürünler olarak kabul edilmemektedir. Yine de tüketiciyi koruma amacıyla bu ürün yelpazesi geniş tutulmaktadır (18).

Ülkemizde aflatoksinlere ait ilk çalışmalar özellikle iade edilen ihraç ürünleri esas alınarak çok çeşitli kurumlarda yürütülmüştür. 1968 yılından itibaren çalışmaların başladığı bu kurumlara örnek olarak şu birimler verilebilir : Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enstitüsü, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, TÜBİTAK Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü ve Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü.

1990 yılı başlarında Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı'nın tebliği ile aflatoksin için sınırlamalar getirilmiştir. Buna göre gıda maddeleri ve tarım ürünlerinde aflatoksin B1 5 µg /kg , toplam aflatoksin 20 µg / kg, çocuk mamalarında 2 µg / kg, süt ve süt ürünlerinde B1 + M1 olarak 0,5 µg/kg üst sınırı getirilmiştir (4).

Gıda Maddeleri Tüzüğü'ne (GMT) göre aflatoksin üreten küf varlığı söz konusu olduğundan "Bu tip gıda maddelerinin mali ihzarı, muhafaza ve satışı yasaktır" denilmektedir (Genel hükümler madde 3).

G.M.T'nin baharatlarla ilgili 621 maddesi a bendine göre " Çürümüş, küflenmiş, kokmuş veya sair suretle tegayyür etmiş veya kirlenmiş bulunan baharatlar sağlığa az veya çok zarar verecek derecede bozulmuş sayılmaktadır. "

Ancak G.M.T. aflatoksin açısından başka bir sınırlandırma getirmemektedir (46).

Türk standardlar Enstitüsünce hazırlanan bazı gıdalara ait standardlarda aflatoksinlere sınırlandırma getirilmiştir. Bu sınırlar aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (111,110,112,113,114).

Tablo XX. Bazı gıdalara ait standardlardaki kabul edilebilir aflatoksin limitleri

Gıda	TS numarası tarihi	Tolerans değerler (ppb)	
		B1	Toplam aflatoksin (B1+B2+G1+G2)
Antep fıstığı ezmesi	9775 , Ocak-1992	5	20
Yerfıstığı ezmesi	9494, Ekim -1991	5	20
Fındık unu	10937, Nisan -1993	5	10
Fındık püresi	10938, Nisan -1993	5	10
İşlenmiş iç fındık	1917, Nisan-1993	5	10

Ülkemizde bu konuda yayınlanan en son mevzuat 16 Kasım 1997 tarih 23172 mükerrer sayı ile Resmi Gazetede yayınlanmış olan ve Tarım ve Köyişleri Bakanlığının Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğidir (115).

Bu yönetmeliğin Ek -14 Mikrobial Toksinler başlığı altındaki limitler bazı ürünler için aşağıdaki gibidir.

Kabul edilebilir en yüksek aflatoksin B1 limiti Baharatlar ve tüm gıda maddeleri için 0,005 mg /kg dır. Tüm gıda maddeleri için toplam aflatoksin (B1+B2+G+G2) limiti ise 0,010 mg /kg olarak kabul edilmiştir (115).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

İstanbul il sınırları içinde faaliyet gösteren baharatçılardan toplanan kırmızı pul biber, kırmızı toz biber ile, kuruyemişcilerden toplanan yerfıstığı, Antep fıstığı, fındık içi, ceviz içi, kuru incir örneklerinde özellikle aflatoksin B1 araştırılmıştır. Örnekler baharatçı ve kuruyemişçilerden rastgele seçilmiş olup; ambalajsız açıkta satılan ürünler olmasına dikkat edilmiştir. Yaklaşık olarak 50 -100 gr arasında olmak üzere 20 kırmızı pul biber, 20 kırmızı toz biber, 21 yerfıstığı, 10 antep fıstığı, 26 fındık içi, 10 ceviz içi ve 16 kuru incir olmak üzere toplam 123 örnek belli aralıklarla ağzı kapalı torbalarda laboratuara getirilmiş ve analize alınıncaya kadar (takriben 1-2 gün) soğukta saklanmıştır. Örnek toplama işlemi 3 ay devam etmiş olup, örnekler bekletilmeden analize alınmıştır. Örneklerin tümü renk, görünüş ve koku bakımından normal niteliklerinde olup kurtlanma ve böceklenme görülmemiştir.

3.2. Metod

Materyel olarak alınan kuruyemiş ve kuru kırmızı biber örneklerinde, Takahashi ve Beebe (108), tarafından geliştirilen (Waters firmasınca cihazları için önerilen) yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile aflatoksin analiz yöntemi kullanılarak analizler yapılmıştır. Bu yöntemde toksinlerin ayrımları 5 µ çapında Resolve ® C18 dolgu materyali içeren kolon (RCCS.. Quard pak koruyucu kolon) kullanılmıştır. Fluoresan ölçümleri de 365 nm'de exitasyon, 425 nm'de emisyon ölçen filtre ve aflatoksin lambalı (P/N 78409) Waters ACM 420 floresans dedektör yardımıyla yapılmıştır. Mobil faz olarak kullanılan matenol + asetonitril + % 5 lik asetik asit (14 +14+72) karışımı 2,5 ml /dak akış hızında ve 1200 PSİ basınçta kullanılmıştır.

3.2.1. Analizde Kullanılan Çözeltiler

- Kloroform

- Metanol

- % 5 lik Asetik Asit

- Hekzan

- Eter

- Asetonitril

- % 80'lik TFA (Trifluoro Asetik Asit)

3.2.2. Örneğin Analize Hazırlanması

Kuruyemiş örnekleri laboratuar tipi öğütücüde öğütüldükten sonra; kırmızı biber örnekleri ise toz halinde olduğundan doğrudan homojenize edildi. Her bir örnekten 25 gr tartıldı ve blender kabına alındı. Üzerine 12.5 ml su, 1 gr Na Cl (tuz) ve 125 ml kloroform ilave edildikten sonra 10 sn kadar orta hızda karıştırıldı. 12,5 gr Celite (diatome toprağı) ilave edildi. 2-3 dakika daha aralıklarla blender çalıştırıldı. Arada blender kabının kenarlarına yapışan kalıntılar spatül yardımıyla sıvı faz içine alındı bu şekilde özütlenen karışım, üzerine süzgeç kağıdı ve 5 gr kadar kloroformla çamur haline getirilmiş celite konan porselen huniden vakum uygulanarak süzüldü.

3.2.3. Temizleme

Elde edilen süzük olası toksin yanında renk maddeleri ve yağlardan oluşan safsızlıkları da içerdiğinden bu safsızlıklar kolon kromotografisi ile temizlendi. Bu aşamada hem safsızlıkların temizlenmesi hem de olası toksinin kolonda tutulması amaçlanmıştır. Kolon olarak Waters firması tarafında üretilen silikajel içeren hazır kolon materyali kullanılmıştır.

Bu şekilde zaman ve kimyasal madde tüketiminden tasarruf edilmiştir. Elde edilen süzüntünün 12,5 ml'si bir enjektör yardımıyla (kolondan) damla damla geçirilerek toksinlerin Sep-pak kolon materyalinde tutulması sağlandı.

Kolonda tutulan olası safsızlıklardan yağlar 10 ml hekzan, renk maddeleri de 10 ml dietileter ile bir enjektör yardımıyla yıkanarak toksinler saflaştırıldı.

Bu şekilde temizlenen ve kolon materyalince tutulmuş durumdaki toksinler 10 ml kloroform + metanol (95 + 5) karışımı ile seyreltilerek küçük bir cam tüp içine alındı. Çözücü azot gazı yardımıyla uzaklaştırıldı.

3.2.4. Türevlendirme

HPLC çalışmasında floresans ölçüm yapıldığında aflatoksin B1 ve G1 daha düşük düzeyde fluoresans özellik göstermektedir. Daha iyi bir kantitatif analiz için kuvvetli bir asit olan hidroklorik asit (HCL) veya % 80 'lik trifluoroasetik asit (TFA) ile türevlendirilerek aflatoksin B1 ve G1 daha güçlü floresans özellik gösteren Aflatoksin B2a ve G2a'ya dönüştürüldü. Bu işlemden aflatoksin B2 ve G2 etkilenmemektedir. Bu işlem için kuruluğa kadar azot gazı altında uçurulan ekstrakt üzerine 0,2 ml hekzan ilave edilip vibratörde mumsu maddeler (yağlar ve yağ asitleri) çözüldü.

Üzerine 0,2 ml TFA ilave edilerek 30 sn karıştırıldıktan sonra 1 dakika kadar beklendi. Daha sonra üzerine 2,3, ml % 2,5 asetik asit + asetonitril (9 + 1) den oluşan injeksiyon çözeltisi ilave edilip iyice karıştırıldı. Fazların ayrılması beklendi alt sıvı az enjektörle çekildikten sonra 0,45 mikronluk, enjektöre takılabilen filitreden süzülerek mikro santrifüj tübüne alındı.

HPLC de nicel analiz için hazır hale getirilmiş olan örnekten 20 µl alınıp HPLC'ye enjekte edildi. Her örnek enjekte edilmeden önce standard karışım enjekte edilerek kromotogramı alınmıştır.

3.2.5. Aflatoksin Standardının Hazırlanması

AOAC (1984), 26. 008 - 26 010 da (78) belirtildiği gibi hazırlanan aflatoksin standardlarının 1'er ppm 'lik karışımını içeren standardından 0,2 ml 5 ml 'lik balon joje'ye kondu. Azot gazı altında stok çözgen uçuruldu. 0,2 ml TFA ile türevlendirildi. % 2,5 asetik asit + asetonitrilden oluşan (9 + 1) injeksiyon çözeltisi ile hacim tamamlandı. Standard toksinlerin herbiri için elde edilen son konsantrasyon 0.01 ng/µl'dir.

3.2.6. HPLC İle Nicel Analiz

HPLC analizinde kullanılan tüm çözeltiler HPLC saflığında temin edilmiştir. Faz ve kolon temizliği için kullanılan metanol önce 0,45 µm'lik filitreden geçirildikten sonra ultrasonik banyoda 20 -25 dakika süreyle hava alma işlemi yapılarak içerdiği hava tamamen giderilmiştir. Bu şekilde sabit bir basınç ve tekrar edilebilir sonuçlar almak mümkün olmaktadır. Bu işlemlerin tamamı aflatoksini rutin olarak çalışan Sağlık Bakanlığı İstanbul Hıfzısıhha Bölge Müdürlüğü Toksikoloji Laboratuarında yapılmıştır.

Cihaz ve kolonun şartlanması için önce pompa, dedektör ve integratör açılmış daha sonra 1 ml/dak akış hızında 1 saat süreyle kolondan geçirilmiştir. Mobil faz olarak kullanılan; asetonitril + metonol + % 5 'lik asetrik asit (14 +14 + 72) 2,5 ml / dakika akış hızı ve 1200 psi basınçta 1 saat geçirilerek kolon stabil hale getirilmiş, önce standard sonra numune (10 -25 µl) ve numune + st. karışımı ayrı ayrı enjekte edilerek kromotogramlar alınmıştır.

Hesaplamalarda aşağıdaki formülden yararlanılmıştır.

$$\text{Aflatoksin } \mu g/kg \quad (ppb) = \frac{Aö \times Cs \times Vs \times SD \times SF}{As \times Vö \times W}$$

Aö = Örnekteki toksinin pik alanı

Cs = Toksin standard konsantrasyonu (µg /ml)

Vs = HPLC'ye verilen standard miktarı (µl)

SD = Örnek özütünün son hacmi (ml)

As = Standarddaki toksinin pik alanı

Vö = HPLC'ye verilen örnek miktarı (µl)

W = HPLC'ye verilen kısımdaki örnek miktarı (kg)

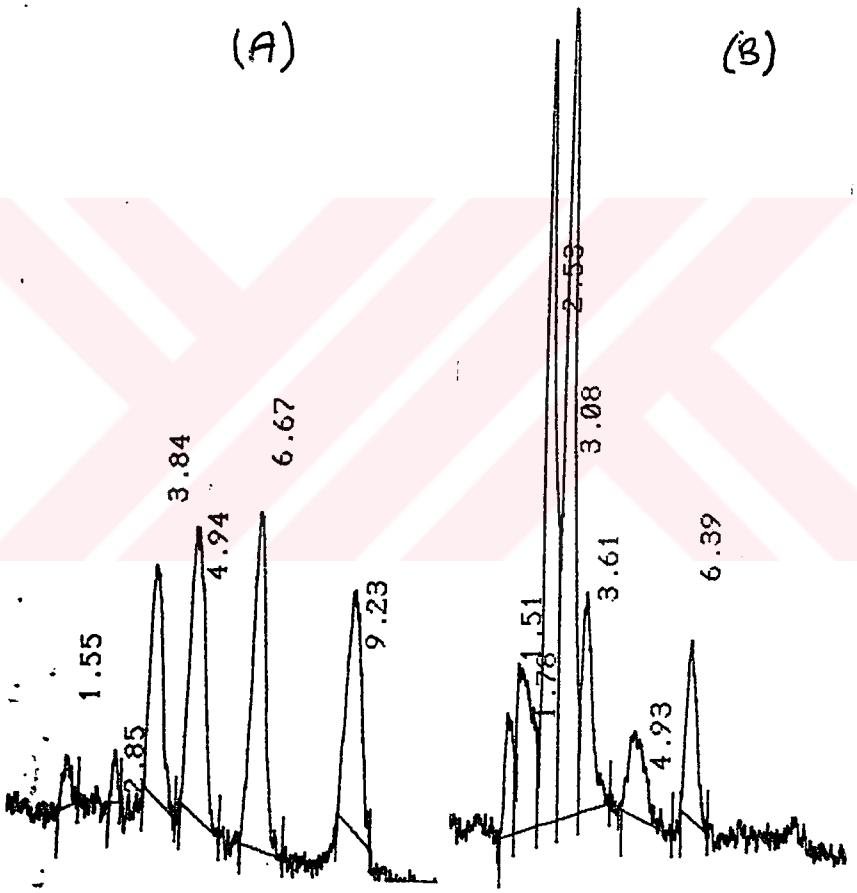
SF = Seyreltme faktörü

4. BULGULAR

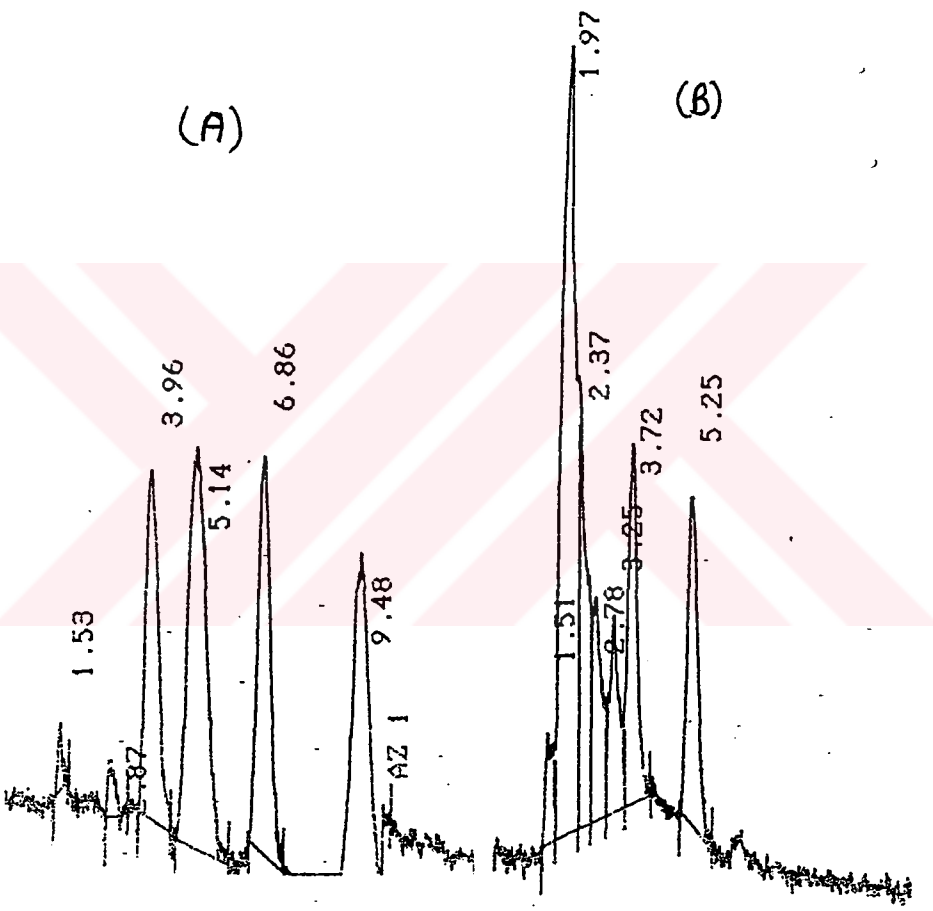
Bu çalışmada aflatoksinler açısından potansiyel tehlike sayılan kuru gıdalarda aflatoksin miktarı tayini HPLC yöntemi kullanılarak yapılmış ve sonuçlar µg /kg (ppb) cinsinden elde edilerek değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda elde edilen HPLC standart ve numune kromatogramlarından bazı örnekler Şekil 7, 8,9 , 10 ve 11'de gösterilmiştir.

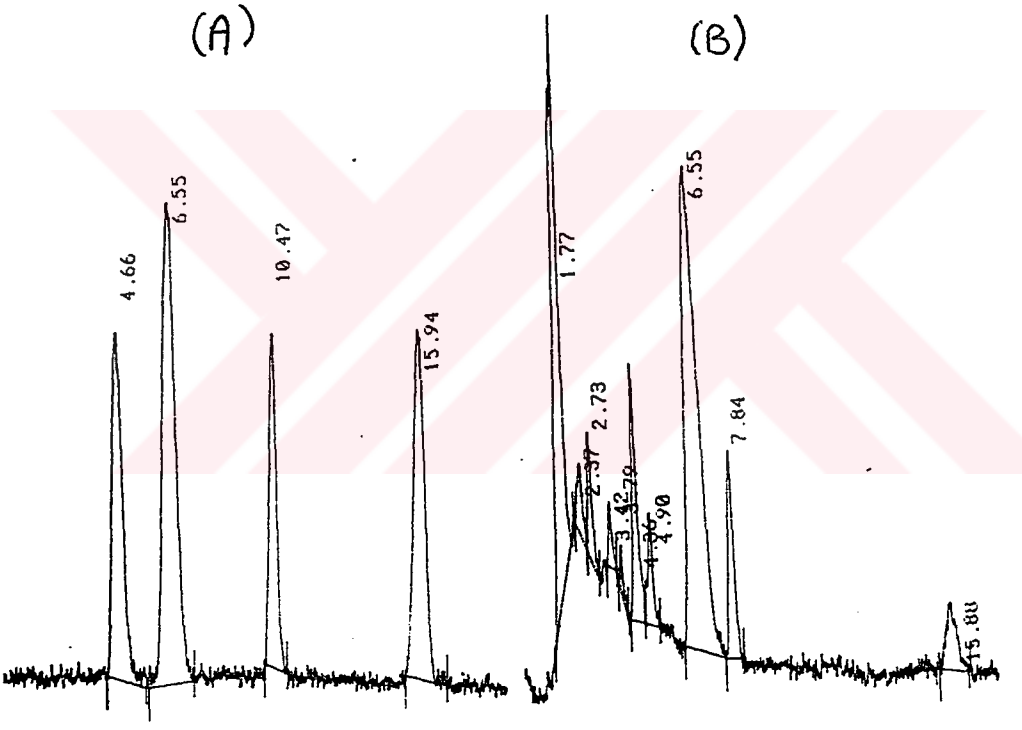
Şekil : 7 Kırmızı pul biber çalışmasında, kullanılan standardın (A) ve bir örneğin (B) HPLC kromatogramı



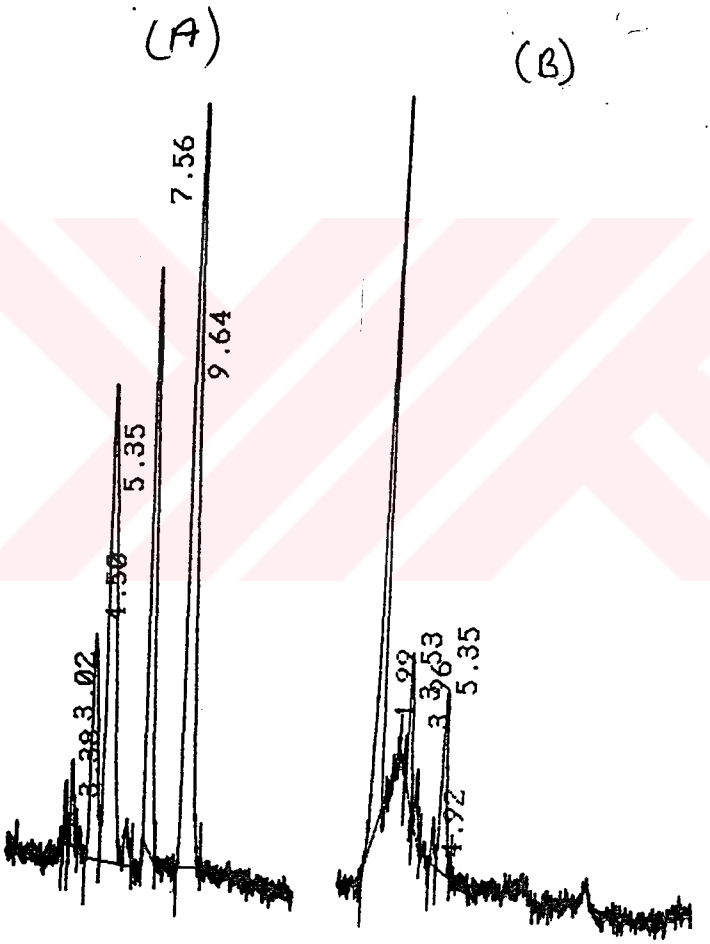
Şekil : 8 Yer fıstığı çalışmasında kullanılan standardın (A) ve bir örneğin (B) HPLC kromatogramı



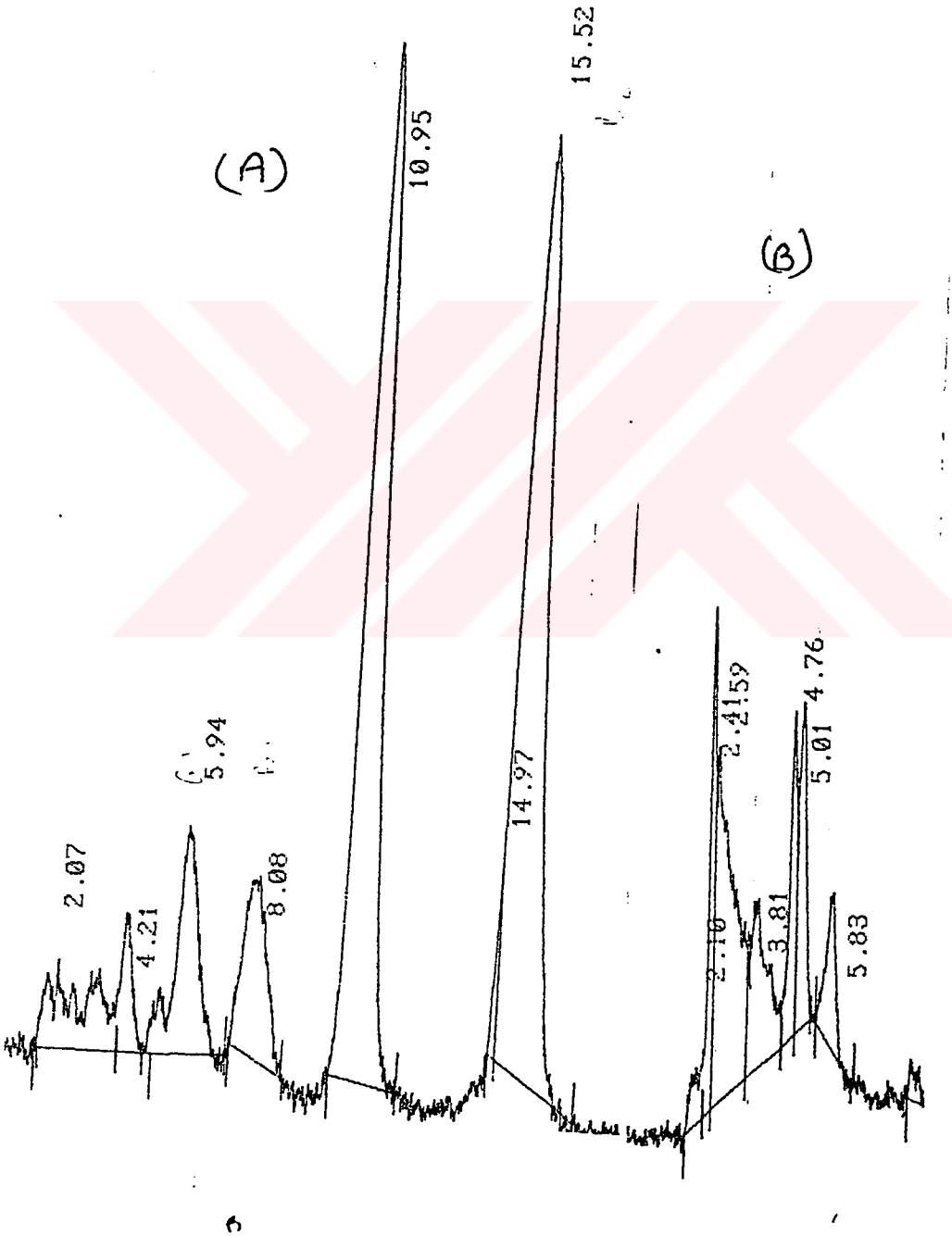
Şekil : 9 Kırmızı toz biber çalışmasında kullanılan standardın (A) ve bir örneğin (B) HPLC kromatogramı



Şekil : 10 Kırmızı pul biber çalışmasında, kullanılan standardın (A) ve bir örneğin (B) HPLC kromatogramı



Şekil : 11 Kırmızı toz biber çalışmasında kullanılan standardın (A) ve bir örneğin (B) HPLC kromatogramı



Analizi yapılan toplam örnek sayısı 123 dür. Örnekleri oluşturan 16 kuru incir örneğinin 2'sinde; 26 fındık içi örneğinin 2 sinde; 21 yerfıstığı örneğinin 2 sinde; 20 pul biber örneğinin 4 'ünde ; 20 toz kırmızı biber örneğinin 5'inde aflatoksin tesbit edilmiştir.

10 adet antep fıstığı ve 10 adet ceviz örneğinde ise aflatoksine rastlanmamıştır.

Bulgular ve diğer nicelikler Tablo XXI de görülmektedir. Tablo XXI'de ayrıca Ulusal Gıda Kodeksi ve dolayısıyla EC limitleri her parametre için bildirilmiştir.

Tablo XXI : Piyasada Tüketime Sunulan Bazı Gıdalarda Aflatoksin Miktarları ve Dağılımları

Kuru Gıdanın Cinsi	Analizi yapılan Örnek Sayısı	Aflatoksinli Örnek Sayısı	Aflatoksinli Örnek Yüzdesi (%)	Aflatoksin Türü	Aflatoksin Limiti µg/kg (ppb) Toplam (B1+B2+G1+G2) ve B1 için	Ortalama Miktar (ppb)	Aflatoksin Miktarları (ppb)
Kuru İncir	16	2	12.5	G1	10 (Toplam)	5.95	10.87 1.02
Fındık içi	26	2	7.69	G1	10 (Toplam)	3.93	6.78 1.09
Antep Fıstığı	10	-	-	-	-	-	-
Ceviz İçi	10	-	-	-	-	-	-
Yer fıstığı	21	2	9.52	B1 G1	5 (B1) 10 (Toplam)	1.75 6.15	1.75 6.15
Pul Biber	20	4	20	B1	5 (B1)	2.03	1.68 1.27 3.05 2.13
Toz Kırmızı Biber	20	5	25	B1 B2 G1 G2	5 (B1) 10 (Toplam)	* 5.76 7.04 2.92 1.09	2.36 9.15 7.04 2.92 1.09

* Ayrıntı tartışma bölümünde yer almıştır.

Tablo XXI ' de görüldüğü gibi aflatoksinli incir örneklerinde, aflatoksin G1 ortalama 5,95 ppb olarak bulunmuştur. Aflatoksinli fındık örneklerinde aflatoksin G1 ortalama olarak 3.93 ppb 'dir. Aflatoksinli yer fıstığı örneklerinin birinde aflatoksin B1 1.75 ppb, diğerinde G1 6.15 ppb değerinde bulunmuştur. Aflatoksinli pul biber örneklerinde aflatoksin B1 ortalama 2.03 ppb olarak tesbit edilmiştir. Aflatoksinli toz kırmızı biber örneklerinin 2'sinde aflatoksin B1 ortalama 5. 76 ppb miktarında bulunurken bir örnekte aflatoksin B2 7.04 ppb, diğer bir örnekte aflatoksin G1, 2, 92 ppb, bir başka örnekte de aflatoksin G2 1, 09 ppb olarak tesbit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Aflatoksinlerin tamamı (G1, G2, B1, B2) çok etkili kimyasal kanserojenlerdir. Bu nedenle dünyada ve ülkemizde bunları ihtiva eden gıdaların işlenmesi, satılması ve tüketilmesi halk sağlığı bakımından sınırlandırılmıştır. Bu sınırlandırma ülkemizde Türk Gıda Kodeksi, Avrupa'da EC (European Community) yönergeleri, ABD' de FDA yönergelerine uygun olarak yapılmaktadır. Bu kodeks ve yönergelerdeki limitler bu çalışmada ayrıntılı olarak bildirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular ülkemizde açıkta tüketime sunulan kuru gıdalardan gelişigüzel örnekleme yöntemiyle alınan örneklerden kuru incirin 2/16 (% 12,5), fındık içinin 2 /26 (% 7,69), Antep fıstığının 0 / 10 (% 0.0), ceviz içinin 0 / 10 (% 0.0), yer fıstığının 2/ 21 (% 9,52), pul biberin 4 /20 (% 20) ve kırmızı toz biberin 5 / 20 (% 25)'nin kontamine oldukları tesbit edilmiştir.

Türk Gıda Kodeksine göre tüm gıdalar için aflatoksin limitine ilişkin iki değer verilmektedir. Aflatoksin B1 için limit 5 ppb iken toplam aflatoksinler için (G1 G2 B1 B2) 10 ppb olarak limit belirlenmiştir.

Çalışmamızda bir kuru incir örneğinde 10, 87 ppb miktarında aflatoksin G1 'e rastlanmıştırki bu değerdeki örnek 10 ppb limitini aşmış bir örnektir. Diğer aflatoksinli incir örneğinde 1,02 ppb miktarında aflatoksin G1 tesbit edilmiştir. Aflatoksinli kuru incir örneklerinde ortalama 5,95 ppb aflatoksin G1 bulunmuştur.

Fındık içi örneklerinde aflatoksin içeren örneklerin birinde 6, 78 ppb aflatoksin G1, diğerinde 1,09 ppb aflatoksin G1'e rastlanmıştır. Bu miktarlarda limitin altındadır. 2 adet aflatoksinli yerfıstığı örneklerinin birinde 1, 75 ppb aflatoksin B1, diğerinde 6,15 ppb aflatoksin G1 bulunmuştur. Bu değerler de limiti aşmamıştır.

Pul biber örneklerinin 4 tanesinde aflatoksin B1 tesbit edilmiş olup miktarları 1, 68 ppb, 1, 27 ppb, 3. 05 ppb, 2, 13 ppb'dir. Bu değerlerinde kodeks limitinin oldukça

altında olduğu görülmektedir. Yüzde olarak en fazla aflatoksinli örneğe sahip olan toz kırmızı biber örneklerinde bulunan miktarlar şöyledir : 2,36 ppb aflatoksin B1, 9,15 ppb aflatoksin B1, 7.04 ppb aflatoksin B2, 2. 92 ppb aflatoksin G1, 1.09 ppb aflatoksin G2. Bir toz kırmızı biber örneğinde bulunan 9.15 ppb 'lik Aflatoksin B1 miktarı Gıda Kodeksi limitini aşmıştır. Diğer değerler gıda kodeksi limitinin altında kalmaktadır.

Ceviz ve antepfıstığı örneklerinde ise hiç aflatoksine rastlanmamıştır. Antepfıstığı örneklerinde aflatoksin bulunmayışının nedeni olarak fıstıkların dışındaki sert kabuğun kontaminasyon riskini azalttığı, hatta önlediği düşünülmektedir. Bu durum Scholten ve Spanjer (98), ile Heperkan ve ark'nın (49), sonuçlarıyla da uyum sağlamaktadır.

Her ne kadar bir kuru incir örneği ve bir kırmızı birber örneği hariç diğer örneklerde bulunan aflatoksin miktarları kodeks limitinin altında ise de tüketime sunulan örnek ambalajsız olarak açıkta ve nemli ortamda bulunan bir örnektir ve bu değerin artma olasılığı ve riski mevcuttur. Bu ise hem üretici riski, hem de tüketici riski bakımından tartışmaya açıktır. Zira tüketici riskinin bulunmadığı örneklerde üretici riski söz konusudur. Çünkü tüketici için aflatoksin miktarı az olduğunda risk yaratmasa bile bu durumda miktar her an artabileceği için üretici riskinden söz edilebilmektedir. Bu riskler FAO tarafından açıklıkla bildirilmiştir (41).

Bu çalışmada örneğin fındık içi için bulunan aflatoksin G1 ortalama değeri 3. 93 ppb olarak bulunmuş ve tüketiciye satın aldığı anda bir risk oluşturmamakla birlikte üretici ve satıcı için bir bozulma veya kontaminasyonun artaması riskini taşımaktadır. Aynı değerlendirme yerfıstığı, pul biber ve toz kırmızı biber için de geçerlidir. Kuru incir ve toz kırmızı biber örneğinde ise miktar kodeks'teki limitin üstünde olduğu için üretici ve satıcı riskinin yanısıra tüketici riskini de taşımaktadır.

Gerek dünyadaki gıda organizasyonları gerekse ülkemiz kanunlarının sınırlandırmaları genellikle tüketici riski göz önüne alınarak yapılmaktadır.

Literatürde ulaşılabilen yerli ve yabancı kaynaklarda da bu çalışmada elde edilen kontaminasyon yüzdesine yakın yüzdelerde bir kontamine örnek sayısı ve yüzdesi tesbit edilmiştir. Bu durum tablo XXII ve XXIII'de açıkça

Tablo XXII. Dünya'da Yayınlanan Araştırmalarda Bulunan Kontaminasyonlar

Kaynak	Ürün Adı	Çalışılan Taplam Sayı	Kontamine Ürün Sayısı
48, 5	Kuru incir	719	10
100	Ceviz	20	15
100,37,31,2	Fındık	57	36
100,87,107	Kırmızı biber	116	21
100,87,107,55,23,43,9	Yer fıstığı	2627	1024
87,98,107,31	Antep fıstığı	278	35

Tablo XXIII: Türkiye'de Yayınlanan Araştırmalarda Bulunan Kontaminasyonlar

Kaynak	Ürün Adı	Çalışılan Taplam Sayı	Kontamine Ürün Sayı
24,85,39,84	Kuru incir	516	53
37.31	Fındık	283	35
57	Kırmızı Biber	164	141
116,84	Yer fıstığı	111	10
49.72	Antep fıstığı	118	30

Dünya'da da aflatoksinin yarattığı tehlikeyi ortaya koymak amacıyla aflatoksin yönünden riskli sayılabilecek ürünlerde çeşitli araştırmalar yürütülmüş olup araştırılan ürünlerin çoğunluğunda aflatoksin tesbit edilmiştir. Bu tehlikenin boyutlarını gösterebilecek birkaç araştırma aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

Botswana'da gıda ve yemlerde aflatoksin, Fumonisin B1 ve zearalenone'nin oluşumları üzerine yapılan bir araştırmada analiz edilen yerfıstığı ve yerfıstığı ezmesi numunelerinin % 40'nda aflatoksin tesbit edilmiştir. Bu çalışma ile aflatoksinlerin Botswana'da gıdalar ve yemler için çok yaygın toksinler olduğu sonucuna varılmıştır (105).

Malezya ve Filipinlerde piyasadaki yerfıstığı ve mısır ürünlerinde aflatoksin analizi iki farklı yöntemle (Multimod kolon yöntemi ve modifiye Florisil kolon yöntemi) yapılmıştır. Her iki yöntem sonucuna göre 2 ülkedeki yerfıstığı ve mısır ürünlerinin tümünün yüksek miktarlarda aflatoksin içerdiği tesbit edilmiştir.

Bu nedenle aflatoksinin her iki ülke için de önemli bir sorun olduğu sonucuna varılmıştır (9).

A.B.D'de yapılan bir araştırmada 120 çiftçinin deposundaki aflatoksinle kontamine olmuş yerfıstığıklarından alınan örnekler analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre gevşek kabuklu ve hasarlı tanelerin sağlam ve olgun tanelere göre daha yüksek miktarlarda aflatoksin içerdikleri tesbit edilmiş ve bu 2 grup taneler yüksek risk faktörlü taneler olarak kabul edilmiştir (119).

Hint tıbbi araştırma konseyi tarafından yürütülen çok merkezli bir çalışmada ülkenin farklı coğrafi bölgelerinden 2062 yerfıstığı numunesi AFB1 için analiz edilmiş ve sonuçta toplanan numunelerin % 21'nin Hindistan'da müsade edilen 30 µg/kg aflatoksin sınırını aştığı tesbit edilmiştir (23).

Tüketici sağlığının korunması amacıyla Brezilya'da satılan yerfıstığı ve ürünlerinden alınan numuneler, aflatoksin B1, B2, G1, G2'nin tesbiti için ince tabaka kromotografisi ile analiz edilmiştir. Analiz sonucu 80 üründen (35'i yerfıstığı, 45'i yerfıstığı ürünü) 41'nin aflatoksinle kontamine olduğu belirlenmiştir. Kontamine ürünlerin 11'i yerfıstığı, 30'u ise yerfıstığı ürünüdür. Aflatoksin miktarları B1+B2+G1+G2 için 43-1099 µg/kg sınırları arasında bulunmuştur (43).

Bu çalışmada ayrıca İstanbul İl Sağlık Müdürlüğüne mevcut toksik gıda dosyalarından mikotoksinle ilişkili olanlar taranarak alınan önlemlerin tesbiti planlanmıştı. Ancak yapılan araştırmaa İl Sağlık Müdürlüğünce bu konuda bir arşiv oluşturulmadığı görülmüş ve bu konuda bir değerlendirme yapılamamıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak gerek ülkemizde gerekse dünyada çok ciddi kanserojen olan aflatoksinlerin denetiminin halk sağlığı açısından çok önemli olduğu yadsınamaz bir gerçektir. Bulgularımız her ne kadar iki örnek dışında yasa ve kodekste belirtilen limitlerin altında gözükmekte ise de bulaşık gıdaların riskli gıda olarak değerlendirilmesi gerekir. Üretici riski kavramı kodekste yer almamaktadır. Bu kavramın ve ilgili sınırların yasa ve yönetmelikler ile kodekse eklenmesi gereklidir.

Ayrıca mikotoksin açısından tehlike arzeden kuru yemişlerin ve kuru gıdaların aflatoksin riskini arttırıcı şekilde açıkta satılmalarının kısıtlanması ve ambalajlı olarak satılmasının zorunlu hale getirilmesi de gerekmektedir.

Ülkemizde kuru ürünler genellikle beton zemin üzerine "dökme olarak" saklanmaktadır. Zeminde hava bariyerlerinin olmayışı, sıcaklık ve depo içerisindeki hem kontrolünün iyi yapılmaması, çoğu depolarda klima bulunmayışı ve mevcut klimaların çalıştırılmasındaki aksaklıklar mikotoksin oluşumunu destekleyici faktörlerdir. Depolarda özellikle havalandırma işlemi çok iyi bir şekilde yapılmalıdır. Aksi halde yığın içerisinde hareket eden sıcak hava, daha serin olan yığın yüzeyine ve depo duvarlarına çarparak kondanse olup, ürünü ıslatarak küf üremesi için ortam oluşturmaktadır. Bu durumda ürünün ortalama nemi güvenilir sınırlar içinde olsa bile (% 13), yığın kontaminasyonuna elverişli hale gelmektedir. Ayrıca özellikle duvarlardan sızan veya açık pencerelerden sızan yağmur suları sonucu lokalize olmuş nem, yığında "kızışma noktaları" (hot spots) oluşturmakta, bu noktalardan başlamak üzere yığının tümü kontamine olmaktadır (83).

Depolar amaçlarına uygun olarak dış ortamdan iyi bir şekilde izole edilebilecek özellikte olmalı, sızıntı ve kaçaklar bulunmamalıdır. Depoların sıcaklık ve bağıl nem değerleri kontrol edilmelidir. Genellikle % 78 bağıl nem ve 12 ^{o}C 'nin altında küf gelişmesi, % 85 bağıl nem ve 12 ^{o}C'nin altında da aflatoksin oluşumu önlenebilmektedir (34). Bağıl nemi istenilen düzeyde stabil tutabilmek için yaş ürün ile kurutulmuş

ürün karıştırılırak depolanmamalı, hava sirkülasyonu sağlanmalıdır.

Bu çalışmayla konuya sadece dikkat çekilmiştir. Daha geniş kapsamlı, dönem dönem yapılacak çalışmalarla (üretim bölgelerinde, üretim aşamalarında, depolama ve pazarlama aşamasında) mikrobiyal bulaşmanın ve toksin oluşumunun maximum olduğu aşamalar tesbit edilmeli ve gerekli önlemler alınmalıdır. Bunun için ülkemizde üretimi yapılan kuru gıdalarda aflatoksin saptanması nedeniyle kurutma işlemi toprak üzerinde ve kontrolsüz koşullarda yapılmamalı, özellikle yağışlı havalarda ve nemli bölgelerde mekanik kurutuculardа bu işlem kontrollü olarak yapılmalı ve yaygınlaştırılmalıdır.

Çalışmamız sırasında yaptığımız diğer bir tespit ise İstanbul İl Sağlık Müdürlüğünde mevcut arşivde Toksik gıdaya ilişkin herhangi bir veriye rastlanmamıştır. Geriye dönük veri toplamayı sağlayacak şekilde bir il arşivinin tüm illere yaygınlaştırılarak tutulmasının zorunlu hale getirilmesi gerekir.

Ayrıca dikkate alınması gereken bazı evrensel öneriler için aşağıda belirtilen çalışmalardaki veriler oldukça açık deliller içermektedir :

Bunlardan ilki A.B.D.'de yapılan bir araştırmada A. flavus'un topraktan izole edilmesi ile New Mexico'dan Georgia yoluyla Doğu Virginia'ya kadar uzanan bir kesitten örnekler alınarak sıvı ortamda aflatoksin B1 üremesi açısından incelenmiştir. Bu araştırmada numuneler hem yerfıstığı tarlalarından ; hemde yerfıstığının yaygın olarak üretilmediği, başka ürünlerin yetiştirildiği tarlalardan alınmıştır. Çalışmanın sonucunda yerfıstığı yetişen bölgelerden izole edilen A. flavus'ların % 62-94'nün 10 µg/ml'den fazla aflatoksin B1 ürettiği görülmüştür. Yerfıstığı yetişmeyen bölgelerdekilerin ise ancak % 0-50'si 10 µg/ml'den fazla aflatoksin B1 üretmiştir. Bu sonuçlar kontaminasyonun tarlada iken başladığını, tohumun topraktan kontamine olabileceğini düşündürmektedir. Kontamine tohumdan oluşan ürününde kontamine ürün olarak hasat edilmektedir (52).

Bu çalışmanın ışığında yerfıstığı gibi aflatoksin kontaminasyonuna çok uygun ürünlerin yetiştirildiği tarlalardan toprak örnekleri alınarak A. flavus'un varlığı araştırılmalıdır.

Ayrıca bu gibi tarlalarda yetişen ürünlerde aflatoksin kontaminasyonu ürünün yetişmesindeki değişik evrelerde kontrol edilmeli ; Böylece kontamine ürünlerin erken evrede imhası sağlanarak halk sağlığı açısından olumlu bir adım atılmalıdır.

Halk sağlığı açısından önemli bir risk faktörü olan aflatoksin oluşumundan gıdaların korunması en önemli noktadır. Çünkü kontamine gıdalardaki aflatoksinin imhası; pahalı, çok güç hatta imkansız olabilmektedir. Bu nedenle baştan aflatoksin oluşumunu engelleyen tedbirler alınmalıdır. Bu konuda yapılan diğer bir araştırma ise ikinci delili teşkil etmektedir.

Saf aflatoksin, sarı mısır ve yerfıstığında mevcut olan aflatoksini yok etmek amacıyla çeşitli güç düzeylerinde mikrodalgalar kullanılmıştır. Bilerek enfekte edilmiş yerfıstıklarında ince tabaka kromotografisi ile aflatoksin miktarları tesbit edilmiş ve en yüksek düzeyde aflatoksin B1 bulunmuştur. Bu düzeyin B2'nin 3; G1'in 2; G2'nin 4.4 katı olduğu görülmüştür. Mevcut aflatoksinlerin imhası mikrodalga fırının güç düzeyi arttğında ve mikrodalgaya maruz kalma süresi uzadığında güçlükle mimkün olabilmiştir (42).

Bir başka araştırmada ise gamma ışınlaması ile NaCl'ün A. flavus'un aflatoksin üretimi üzerine etkisi incelenmiştir. Ortamdaki NaCl konsantrasyonuna bağlı olarak aflatoksin üretim hızı düşmüştür. Gamma radyasyonunun etkisiyle de koloni sayısında düşme olduğu gözlenmiştir. Sonuçta yüksek konsantrasyonda tuzlanmış ve çok yüksek dozda ışınlanmış kuruyemişlerde aflatoksin riskinin azalabildiği görülmüştür (101).

7. ÖZET

Küf mantarı *A. flavus* tarafından üretilen aflatoksin, insanlar üzerindeki karsinojenik, mutajenik, teratojenik etkisi dolayısı ile gıdalarda bulunması çok tehlikeli bir toksindir. Birçok çeşidi olan aflatoksinler içinde en toksik olanı aflatoksin B1 dir. Bu çalışmada Aflatoksin B1 açısından potansiyel riske sahip kuru gıdalarda aflatoksin miktarı HPLC yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Kuru yemişcilerde açıkta satışa sunulan 7 çeşit gıda örneği alınmış ve analizleri yapılmıştır. Sonuçlar µg/ kg (ppb) cinsinden hesaplanarak Türk Gıda Kodeks'ine göre değerlendirilmiştir. Analizi yapılan 123 kuru gıda örneğinin 15 adedinde farklı miktarlarda aflatoksinin tesbit edilmiştir. Bu kontamine gıdalardan 1 kuru incir örneğinde ve toz kırmızı biber örneğinde bulunan miktarın Türk Gıda Kodeks'inde belirtilen limitin üzerinde olduğu görülmüştür. Diğerlerinin miktarları belirtilen limitlerin altında olmakla birlikte bu çalışma sonucu açıkta satılan kuru gıdaların halk sağlığını tehdit edecek boyutta potansiyel tehlike taşıdıkları sonucuna varılmıştır.

SUMMARY

Because of carcinojenic, mutajenic, teratojenic, effect, on human; aflatoxin, which is produced by fungus (*A.flavus*), is very dangerous toxin if it contaminats the food - stuff. Aflatoxins has lots of type but the most toxic one is aflatoxin B1. In this study, the amount of aflatoxin in the dried foods that has potential contamination risk of the aflatoxin B_1, had been determined by HPLC method.

Seven different type of food which have been sold in the markets without package had been taken samples and the analysis was carried out. The results were calculated in units of µg/kg (ppb) and investigated due to Turkish Food Codex. 123 dried food samples had been investigated and were found out that 15 of them have different amount of aflatoxin. One dried fig sample and one dried red pepper sample which are two of these contaminated food, have more aflatoxin amount than the Turkish Food Codex limit. Although the others has less amounts than the limits, with this study it was found out that the foods which were sold in the market as an open package, are potentially dangerous to public health.

8. KAYNAKLAR

1. Abbas, H.K., Mirocha, C.J., Rosiles, R., Carvajal, M. (1988) Effect of Tortilla - Preparation Process on Aflatoxins B_1 and B_2 in Corn. *Mycotoxin Research*, **4.**, pp 33 - 36.

2. Abdel - Hafez, A.I., Saber, S.M. (1993) Mycoflora and Mycotoxin of Hazelnut (*Corylus avellana L.*) and Walnut (*Junglans regia L.*) Seeds in Egypt. *Zentralbl Mikrobiol,* Mar **148 : 2,** pp 47 - 137 .

3. Abdollahi, A., and Buchanon, R.L. (1981) Regulation of Aflatoxin Biosynteois, *Journal of Food Science* **46.** pp 633 -635.

4. Aflatoksin Kontrolüne Dair Tebliğ (1990) Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı KKGM 90 / 1 Sayı, No: 20506, Ankara.

5. Aflatoksin Sorunu (1976) *Roche Vitamin Dergisi*, Sayı 9, Eylül s. 3 -5, yıl 3.

6. Aksoy, U., Nagler, M.J. (1989) Comparison of Three Analytical Methods for Determination of Aflatoxins in Dried Figs. Kuru incir ve Aflatoksin Simpozyumu 4-5 Nisan, İzmir.

7. Aksoy, U. (1990) Aflatoksin. Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi, Ege Üniversitesi Yayını - Yayın No, 2. Ocak, İzmir.

8. Aktan, H. (Editör) (1988) Gastroenteroloji. A.Ü. Tıp Fakültesi Yayınları Ankara.

9. Ali, N., Hashim, N.H., Yoshizawa, T. (1999) Evaluation and Application of a simple and Rapid Method for the analysis of Aflatoxins in commercia) Foods from Malaysia and the Philippines. *Food Addit Contam. Jul,* **16 (7)** : pp 80- 273

10. Alperden, I. (Proje Yürütücüsü) (1978) Hayvansal Ürünlerde Mikotoksin Araştırmaları ve Kalite Kontrol Esasları. TÜBİTAK Yayın No : 31. Marmara Araştırma Enstitüsü, Kasım, Gebze.

11. Alperden, I. (1985) Küfler ve Mikotoksinlerin İnsan Sağlığına Etkileri, Gıdalarda Küfler ve Mikotoksinler Laboratuar Çalışma Yöntemleri. TÜGAM, Gebze.

12. Alperden, I., Aran, E., Topal, Ş., Eke, D., Kara, M., Karaali, A. (1985) Sistematic Analysis of Mycoflora of Turkish Foodstuffs. TÜBİTAK, MBEAE, Gebze - Kocaeli.

13. Amra, H.A., Mahmoud, S.A.Z., Taha, A.H and El - Azab, M.A. (1996) Destruction of Aflatoxins B_1 and G_1 in Bread Making. *Mycotoxin Research.* **12**, pp 73 -78.

14. Anderson, H.W., Nehring, E.W. & Toke, Z. (1979) Mykosen 23, pp. 130 -133.

15. Aran, N., Eke, D. (1987) Mould Mycoflora of Some Turkish Cereals and Cereal Proal Products. *Mircen Journal.* **3**, pp 281 -287.

16. AR - GE ., Proje (1992) Floresans Özelliği Gösteren ve Göstermeyen İncirlerdeki Aflatoksin Yükünün Belirlenmesi ve Floresans Özelliği ile Aflatoksin Yükü Arasındaki İlişkinin Araştırılması. TARİŞ Araştırma Geliştirme Müdürlüğü. Bornova - İzmir.

17. Ashworth, L.J., Schroeder, H.W. & Langley, B.C. (1965) Aflatoksin Environmental Factors Governing Occurrence in Spanish Peanuts. Science **148** : pp 1228 -1229.

18. Atkins, D., Norman, J. (1998) Mycotoxins and Food Safety. *Nutrition & Food Science.* Number 5 September / October, pp 260 -266.

19 Ayata, C. (1993) Bazı Baharat Çeşitleri İle Etken Maddelerinin Aflatoksin Üreten Küflerin Gelişim ve Toksin Üretmeleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı., İzmir.

20. Barbieri, G., Bergamini C., Ori, E., Resca, P. (1994) Aflatoxin M1 in Parmesan Cheese : HPLC Determination. *Journal of Food Science*, **59** (**6**) pp : 1313 -1331.

21 Beckwith, C.A., Vesonder, F.R., Ciegler, A. (1974) Chemical Methods Investigated for Detoxifying Aflatoxins in Foods and Feeds. *Mycotoxins* pp 58 -67.

22. Beuchat, L.R. (1978) "Food and Baverage Mycology" Avi Publishing Company. Inc. Wesport.

23. Bhat, R.V., Vasanthi, S., Rao, B.S., Rao, R,N., Rao, V.S., Nagaraja, K.V., Bai, R. G., Prasad, C.A., Vanchinathan, S., Roy, R., Saha, S., Mukherjee, A., Ghosh, P.K. Toteja, G.S., Saxena, B.N. (1996) Aflatoxin B1 Contamination in Groundnut Samples Collected from Different Geographical Regions of India : A Multicentre Study. *Food Addit Contam. Apr*, **13 (3)**: pp 31 - 325.

24. Boyacıoğlu, D., Gönül, M. (1990) Survey of Aflatoxin Contaminasyon of Dried Figs Grown in Turkey in 1986. Food Additives and Contaminants, Vol 7. No 2, pp 235 - 237.

25. Bullerman, L.B., Schoeder, L.L., Park, K.Y. (1984) Formation and Control of Mycotoxins in Food. *J. of Food Prot.*, Vol 47, No : 8, pp 637 - 646.

26. Chao, T.C., Maxwell, S.M., Lyen, K., Wang, D., Chia, H.K. (1991) Mass Porsoning in Perak, Malaysia or the Tale of the Nine Emperor Gods and Rat Tail Noodles. *JFSS* **31 (2)** : pp 283 - 288.

27. Ciegler, A., Kodis, S., Ajl, S. J. (1971) Mikrobial Toxins. Vol VI, Fungal Toxins, pp 5 -53, by Academic Press, Inc, London.

28. Davis, N.D., Diener, U.L. (1978) Mycotoxins : Food and Beverage Mycology. (L.R. Beuchat Eds) Avi Pub Comp. Inc. Connecticut pp 397 - 444.

29. Davis , N.D., Diener, W.L., Eldridge, D.W. (1966) Production of Aflatoxin B and G by Aspergillus flavus in a Semisynthetic Medium. Appl. Elicrobiol., Vol. 14, no : 3 pp 378 - 380.

30. Dell, M.P.K., Haswelt, S.J., Roch, O.G., Coker, R.D., Medlock, V.F.P., Tomlins, K. (1990) Analitical Methodology for the Determination of Aflatoxins in Peanut Butter : Comparison of High - Performance Thin - Layer Chromatographic, Enzyme - linked immunosorbent Assay and High - Performance Liquid Chromatographic Methods. *The Anaytical Journal of the chemical society*. Analyst. Novem. **115**, pp 1435 -1439.

31. Demir, C. (1996) Değişik Rutubet ve Sıcaklıklarda depolanan Fındıkta Aflatoksin oluşumunun Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, (Yayınlanmamış), Tekirdağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü .

32. Demirer, M.A., Dinçer, B., Kaymaz, Ş., Alperden, İ., Yalçın, S., Özer, E. (1989) Bazı Gıda Maddelerinde Mycoflora ve Mycotoxin Araştırmaları *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* **36** (1) 85 - 107 (reprint).

33. Dickens, J. W. (1983) Proceading of the International Symposium on Mycotoxins. (In Nuguib, K., Nuguib, M.M., Park, D.L. & Pohland, A.E. Eds) pp 131 -141 . Publishing Science Department (NIDOC) Dokki, Cairo, Egypt.

34. Diener, U.L., Asquith, R.L. (1983) Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in corn (Dickens, J. W. Eds) Southern Cooperative Service Bulletin 279. Auburn University.

35. Dietrich, R. (1989) Anwendbarkeit Enzymimmunogischer Verfahren Zum Nachweis Einiger Mycotoxine in Lebensmitteln Tiericshen und pflanzlichen Ursprumgs. Diss. Med. Vet., LM Universitat, München.

36. Draughon, F.A. (1983) Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in Corn. (In Diener, U.L., Asquith, R.L. & Dickens, J. W. Eds) pp 81 -86 Southern Cooperative Service Bulletin 279. Auburn University, Auburn.

37. Eke, D., Göktan, D. (1987) Kabuklu Fındıklarda *Aspergillus flavus* gelişmesi ve aflatoksin oluşumu. *Gıda Sanayii Dergisi* Sayı : 4, s. 36.

38. Ergün, Ö. (1992) Kanatlı Karaciğerlerinde Simultane Elisa Testi ile Aflatoksin B_1 Aranması *Veteriner Hekimleri Dergisi*, Cilt 4, Sayı 2.

39 Ergün, Ö. (1992) Kurutulmuş İncirlerde Simultan Eliza Testi ile Aflatoksin B_1 Aranması. Kükem Dergisi Cilt 15 Sayı : 1 s. 51 -55.

40. Ergün, Ö., (1992) Ülkemizde Tüketilen Biraların Enzim İmmunolojik Test Çubukları Metodu ile Zearlanon ve Aflatoksin B_1 Kalıntıları yönünden incelenmesi. *Gıda Dergisi* **17 (6)**, s. 409 -412.

41. FAO FOOD AND NUTRITION PAPER (1990) 14 /10, Manuals of Food Quality Control. 10, Training in Mycotoxins Analysis. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma.

42. Farag, R.S., Rashed, M.M., Abo Hgger, A.A. (1996) Aflatoxin Destruction by Microwave Heating. *Int J Food Sci. Nutr.* May **47 (3)** : 197 - 208.

43. Freitas, V.P., Brigido, B.M. (1998) Occurrence of Aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in Peanuts and Their Products Marketed in the Region of Campinas, Brazil in 1995 and 1996. *Food Addit Contam.* Oct, **15 (7)** : pp 11-807.

44. Gedek, B. (1986) Pilzeals Krankheitsursache bei Mensch Und Tier. In : Prave, P. et al: *Fahrbuch der Biotechnologie*, München : Hanser - Verlag, s. 249 - 302.

45. Gedek, B. (1994) Gesundheitsgefahrdung des Menschen Durch Mykotoxine (Mycotoxins as Health Risks For Man) Mycoses 37 (Suppl. 1) 43 -49.

46. Gıda Maddeleri Tüzüğü (1984) 18.10. 1952 tarih ve 8236 Sayılı Resmi Gazete (Ercoşkun, A. Eds) Henay Yayınları.

47 Grabley, S. (1986) Niedermolekulare Naturstoffe aus Mikroorganismen. *Fahrbuch der Brotechnologie.* Münechen - Wien : Hanser Verlaf s. 417.

48. Gül, N. (1992) Sarılop İncir Çeşidinde Bazı Kuru Meyve Nitelikleri İle Aflatoksin İlişkisi Üzerinde Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi (yayınlanmamış), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enst. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, İzmir.

49 Heperkan, D., Aran, N., Ayfer, M. (1994) Mycoflora and Aflatoxin Contamination in Shelled Pistachio Nuts. *J. Sci. Food Agric.* **66**, pp 273 - 278.

50. Holcomb, M., Wilson, D.M., Trucksess, M.W., Thompson, J., H.C. (1992) Determination of Aflatoxins in Food Products by Chromatography. *Journal of Chromatography*, **624**, pp 341-352, Elsevier Science Puplishers, Amsterdam.

51. Holzappel, C.W., Purchase, I. F.H., Steyn, F.S., Gouve, L. (1966) The Toxicity and Chemical Assay of Sterigmatocystin, a Carcinogenic Mycotoxin and Its Isolation From Two New Fungal Sources. *S. Afr. Med. J.* **40**, pp 1100 -1101.

52. Horn, B.W., Dorner, J.W. (1999) Regional Differences in Production of Aflatoxin B1 and Cyclopiazonic Asid by Soil Isolates of Aspergillus flavus Along a Transect Within the United States. *Appl Environ Microbiol,* Apr, **65** (**4**): pp 9 -1444.

53 Hsich, D.P.H. (1981) Metabolism and Transmission of Mycotoxins. Proc. Int. Symp. Mycotoxins, Cairo, 6 -8 sept.

54. Jay, J.M (1991) Modern Food Microbiology 4 th edition, pp 641 -647.

55. Jimenez, M., Mateo, R., Querol, A., Huerta, T., Hernandez, E. (1991) Mycotoxins and Mycotoxigenic moulds in Nuts and sunflower seeds for Human Consumption. *Mycopathologia*, Aug., 115 : 2 121 -7.

56. Karapınar, M. (1984) Gıdalarda Küf Bozulmaları. *E.Ü. Müh. Fak. Dergisi.* B (2) 1 . s. 27 -29.

57. Kırmızı Biberde Aflatoksin Kontaminasyonu ve Risk Potansiyellerinin Değerlendirilmesi (1995) Sağlık Bakanlığı İzmir Bölge Hıfzısıhha Enstitüsü Müdürlüğü Yayını. Yayın No : 32, İzmir.

58. Kiermeier, F., Ruffer L. (1974) Veränderung Von Aflatoxin B_1 in Alkalischer Lösung. Z. Lebensm Unters - Forsch - 155, 129 -141, By J -F. Bergmann, München.

59. Kiesling, K-H. (1986) Biochemical Mechanism of action of mycotoxins. Pure Appl Chem. 58, pp 327 -338.

60. Krogh, P. (ed.) (1987) Mycotoxins in Food. Department of Microbiology, Royal Dental Collage, Copenhagen, Denmark. P. 18 -22. Academic Press, Harcount Brace Jovanovich, Publishers.

61. Labuza, T.P. (1983) Regulation of Mycotoxins in Food. *Journal of Food Protection.* **46 (3):** pp 260 -265, March

62. Lafont, P. (1973) Pollution des aliments par les mycotoxins at mycotoxicoses liees a la consommation de ces produits. *Rev. Fran. Corps* Gras **21,** annee, 2; 21 - 28.

63 Lafont, P., Siriwardana, M.G., Combemale, I. and Dafont, J. (1979) Mycophenolic acid in marketed cheeses Fd. Cosmet. Toxicol. **17,** pp 147 -149.

64. Landers, K.E., Davis, N.D., & Diener, U.L (1967) İnfluence of atmospheric gases on falatoxins production by *Aspergillus flavus* in peanuts. Phytopath **57,** 1086 - 1090.

65. Le Bars, J. (1989) Contribution to a Practical Strategy for avoidence of aflatoxin in dried figs, The International Symposium on Dried Figs and aflatoxin, Çeşme İzmir, Turkey, April, 4-6.

66. Leistner, L. and Pitt, J.I, (1977) Miscellaneous Penicillium Toxins. In : "Mycotoxins in human and Animal Health" pp. 639 -653, Pathatox Publ. Inc III.

67. Lillehoj, E . B, (1983) In Diener, U.L., Asquith, R.L. & Dickens, I .W (eds) Aflatoxin and *Aspergillus flavus* in Corn, pp. 27 -34, Southern Cooperative Senvice Bulletin 279, Auburn University, Auburn, AL.

68. Lisker, N., Michael, R., Frank, Z.R (1994) *Aspergillus flavus* and other mycoflora of groundnut kernels in İsrael and the absence of aflatoxin - *Mycotoxin Research* .**10** : pp. 47 -55.

69. Mahoney, N-E., Rodriguez, S.B. (1996) Aflatoxin Variability in Pistachios. *Appl Environ Microbiol*, Apr. **62.** 4 , pp 1197 -202.

70. Malone, B.R., Humphrey, C.W., Romer, T.R., Richard, J.L. (2000) Determination of Aflatoxins in Grains and Raw Peanuts by a Rapid Procedure with Fluorometric Analysis. *J AOAC Int* Jan-Feb ; **83 (1)** : pp 8 - 95

71. Martlbauer, E. (1994) Strategien zun Risikovermeidung am Beispiel Milch. Tagungsband der DLG Umweltgesporache vom 7. und 8 - 9 - 1993 in Suhl Frankfurt /main : DLG - Verlag, S. 86 -9

72. Meral, G., Boyacıoğlu, D. (1985) Türkiye'de Aflatoksin Çalışmaları. *E.Ü. Mühendislik Fak. Dergisi* Seri : B. Gıda Mühendisliği, Cilt. 3 , sayı. 1.

73. Mikrobiyolojik ve Biyolojik Analizler Bölümü Hizmet İçi Eğitim Seminerleri (1991) Sağlık Bakanlığı Bölge Hıfzısıhha Enstitüsü . Yayın No : 11, İzmir.

74. Moreu, C. (1979) Moulds Toxins and Food. 2 nd. Ed. John Wiley & Sons. London, 4775.

75. Morton, S.G., Eadie, T. and Llewellyn, G.C (1979) Aflatoxigenic Potantial of Dried Figs, Apricots, Pineapples and Raising. *J. AOAC* **62.** 958 - 962.

76. Moss, M.O. (1998) Recent of Mycotoxins. Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement. 84, 62S - 76S.

77. Mycotoxins. (1987) Tropical Development and Research İnstitute. pp. 11 - 16. in "Tropical Development and Research İnstitute Report". London.

78. Natural Poisons. (1984) AOAC, Offical Method of Analysis, pp 477 -499.

79. Northolt, M.D., Egmond Van, H.P., Paulsch, W.E. (1977) Differences Between Aspergillus flavus Strains in Growth and Aflatoxin B_1 Production in Realiton to Water Activity and Temperature. *J. of Food Prot.* **40** (11), pp 778, 781.

80. Northolt, M.D. and Soentoro, P.S. S. (1981) Fungal Growth on Food - Stuffs Related to Mycotoxin Contamination. Chapter 3, pp. 212 -218, Pub by CBS. Bearn. The Netherlands.

81. Northolt, M.D. & Bullerman, L.B (1982) Prevention of mold growth and toxin production through control of environmental conditions. *J. Food Protection* **45** : 519 - 526.

82. Ömer, R.E., Bakker, M.I., van't Veer, P., Hoogenboom, R.L., Polman, T. H., Alink, G.M., İdris, M.O., Kadaru, A.M., Kok, F. J. (1998) Aflatoxins and Liver Cancer in Sudan. *Nutr. Cancer* **32** (3) : pp 80 -174

83. Özay, G., Eke, D. (1988) Depolama Aşamasındaki Mısırlarda (Zea Mays L.) Küf Gelişmesi ve Mikotoksin Oluşumu. *Gıda Sanayii Dergisi* Sayı. **8**, s. 9.

84. Özay, G., Alperden, I. (1989) Türkiyede Yetiştirilen Yerfıstıklarında Mikotoksinler. *Gıda* **14** (5), s. 267 -273.

85. Pala, M., Özay, G., Aran, N. (1994) Kuru İncir Üretiminde Küf ve Mikotoksin oluşumunu incelenmesi Alman Teknik İşbirliği Teşkilatı Projesi Raporu, Mart, Proje Kodu 14.4.009.

86. Pitt, J. I. and Hocking, A.D. (1985) Fungi and Food Spoilage. Academic Press. P. 413

87. Pohland, A.E. (1993) Mycotoxins in review. *Food additives and contaminants* 10, (1) pp. 17 -28.

88. Pons, W. A. JR. (1979) High Pressure Liquid Chromatographic Determination of Aflatoxins in Corn. *Journal Association of Official Analytical Chemisis*, **62**, (3) pp. 586 -593.

89. Premalatha, B., Sujatha, V., Sachdanandam, P. (1997) Modulating effect of Semecarpus anacardium Linn. Nut - extract on glucose metabolizing enzymes in Aflatoxin B_1 induced experimental hepatocellular carcinoma.

90. Purchase, I.F.H. & Vorster, L.S. (1968) *South African Med. J.* **42** , pp. 219 -220.

91. Refai, M.K., Hatem, M.E., Sharaby, E., and Saad, M.M. (1993) Detection and Estimation of aflatoxins using both chemical and biological techniques. *Mycotoxin Research.* **9**, pp. 47.

92. Reichert, N., Steinmeyer, S., Weber, R. (1988) Bestimmung von Aflatoxin B_1 In Trockenfagen durch visuelles Screening, Dünnschichteromatographie und Elisa. Z. Lebensm Unters Forsch. 505 -508, Springer - Verlag.

93. Rodricks, J. V. (Eds) (1976) Mycotoxins and other Fungel Related Food Problems. Am. Che. Society, Washington D.C.

94. Ruan, C.C. (1992) İnhibiton of Eight Natural Foods on Mutagenic effect by Aflatoxin B_1 and extracts of Fungi. Chung Hua Yu Fang I Hsueh Tsa Chih, Mar, 26:2, 83 - 5.

95. Samson, R.A., Van -Reenen - Hoekstra (1988) Introduction to Foodborne Fungi. Central Bureau Voon Third Edition. Schimmelcultures. Nederland.

96. Sanders, T.H., Mixon, A.C. (1978) Effekt on Peanut Tannins of Percent Seed Colonization on in vitro Growth by *Aspergillus parasiticus. Mycopathologia*, **27, (3)** pp 452-456.

97. Sargeant, K., Sheridan, A., Kelly, J.D. (1961) Toxicity associates with certain samples of Groundnuts. Nature 192, pp 1096 -1097.

98. Scholten, M.J., Spanjer, M.C. (1996) Determination of Aflatoxin B1 in Pistachio Kernels and Shells. *Journal of AOAC International* **79, (6).**

99. Scott, P.M. (1984) Effect of Food Processing on Mycotoxins. *Journal of Food Protection*, **49 (6)** pp 489 - 499.

100. Selim, M.I., İbrahim, M.S., El - Sharkawy, S. Kashory, E.S. (1996) Aflatoxin B_1 in Common Egyptian Foods. *J. AOAC Int.* Sept, **79, (5)**

101. Shahin, A.A., Aziz N.H: (1997) Influence of Gamma Rays and Sodium Chloride on Aflatoxin Production by Aspergillus flavus. *Microbios* **90 (364 -365)**: pp 75 -163.

102. Shank R.C. (1974) The Role of Aflatoxin in Human Disease . *Mycotoxins* November **8**, pp. 51 -56.

103. Sherlock, S. &., Dooley, J. (1989) Diseases of the Liver and Biliary System. Ninth Edition. Blackwell Scientific Publications. Chapter 28.

104. Shih, C.N., Marth, E.H. (1974) Some Cultureal Conditions that Control Biosyhthesis of Lipit and Aflatoxin by *Aspergillus parasiticus. Appl. Microbiology*, 27,(3) . pp. 452 -456.

105. Siame, B.A., Mpuchane, S.F., Gashe, B.A., Allotey, J., Teffera, G. (1998) Occurrence of Aflatoxins, Fumonisin B1, and Zearalenone in Foods and Feeds in Botswana. *J. Food Prot.* Dec **61 (12)** : pp 3-1670,

106. Stoloff, L. (1982) (In Stich H.F eds) Carcinogens and Mutagens in the Environment, Vol. 1 : Food Products, pp. 98 -120. Press Boca Raton, Florida.

107. Tabata, S. Kamimura, H., Ibe, A., Hashimoto, H., Lida, M.., Tamura, Y., Nishima, T. (1993) Aflatoxin Contamination in Foods and Foodstuffs in Tokyo : 1986 -1990 *J. AOAC Int.* Jan - Feb, **76 : 1**, pp 32 -35.

108. Takahashi, D.M., Beebe, R. M. (1979) HPLC Procedure for Determining Aflatoxin in Foods. Analysis of Food and Bevegares Vol. 1. 99 -126.

109. Taydaş, E. Aşkın, O. (1995) Kırmızı biberlerde Aflatoksin oluşumu. *Gıda* 20, 3-8, Ankara

110. TSE (1991) 9494 Yerfıstığı ezmesi standardı

111. TSE (1992) 9775 Antepfıstığı ezmesi standardı

112. TSE (1993) 10937 Fındık unu standardı

113. TSE (1993) 10938 Fındık püresi standardı

114. TSE (1993) 1917 İşlenmiş iç fındık standardı

115. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (16 Kasım 1997) 23172 Sayılı Resmi Gazete

116. Var, I., Evliya, B. (1988) Çerezlik Yerfıstıklarında Aflatoksin Saptanması üzerine bir Araştırma *Gıda Dergisi* **13** (3), s. 217 -222.

117. Venkitasubramanian, T.A. (1977) Biosynthesis of aflatoxin and its control. In Mycotoxins in human and animal health, (J.V. Rodricks, C.W. Hesseltine & M.A. Mehlman, eds). Pathotox, Park Forest South Illinois, pp. 83 -98.

118. Vongbuddhapitak, A., Trucksess, M.W., Atisook, K., Suprasert, D., Horwitz, W. (1999) Laboratory Proficiency Testing of Aflatoxins in Corn and Peanuts --a Cooperative Project Between Thailand and the United States. *J. AOAC Int* Mar - Apr, **82 (2)** : pp 63 -259.

119. Whitaker, T.B., Hagler, W.M Jr., Gresbrecht, F.G., Dorner, J.W., Dowell, F.E., Cole, R.J. (1998) Estimating Aflatoxin in Farmers ' Stock Peanut Lots by Measuring Aflatoxin in Various Peanut - Grade Components. *J. AOAC Int* Jan - Feb **81 (1)** : pp 7 -61.

120. Whllie, T.D., and Morehouse, I. G. (1978) a; b. Mycotoxic Fungi, Mycotoxins and Mycotoxicoses (An Encyclopedic Handbook) Vol. II. (Mycotoxicoses of Demestic and Laboratory Animals, Poultry and Aquatic Invertabrates and Vertabrates). Vol III (Mycotoxicoses of Man and Plants: Mycotoxin Control and Regulatory Aspects). Marcel Dekker Inc. Newyork. P. 570, 202.

121. Wogan, G. (1975). Mycotoxins. Ann Rev. *Pharmacol.* **15**, pp 437 -451.

122. Zhang, J.Y., Wang, X., Han, S.G., Zhuang, H. (1998) A Case - Control Study of Risk Factors for Hepatocellular Carcinoma in Henan, China. *Am J Trop Med Hyg* Dec, **59 (6)** : pp 51 -947.

ÖZGEÇMİŞ

1960 yılında Konya'da doğdum. Lise öğrenimini Ankara Kız Lisesi'nde 1976-1977 öğrenim yılında tamamladım. Aynı yıl Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda ve Fermantasyon Teknolojisi bölümüne girdim. Üniversite öğrenimini 1982 yılında tamamlayarak iyi derece ile mezun oldum. Yine aynı yıl Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ürünleri Teknolojisi Anabilim Dalında Yüksek lisans'a başladım. 8.12.1982 tarihinde Tarım Bakanlığı'nın açtığı memuriyet sınav sonucu Gıda Kontrol Enstitüsü'nde ilk göreve atandım. 1985 yılında "Bazı Tip Sucuk, Sosis ve Salam Çeşitlerinde Belirli Saklama Koşulları ve Sürelerinde Meydana Gelen Fiziksel ve Kimyasal Değişmeler" konulu tez çalışması ile Yüksek Lisans öğrenimini tamamlayarak Ziraat Yük. Müh. Ünvanını aldım. Tarım Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğünce yürütülen Gıda Envanteri hazırlama çalışmalarına katıldım.

1987-1989 tarihleri arasında Türkiye Atom Enerjisi Kurumu Nükleer Tarım Araştırma Merkezi (ANTAM) Gıda Laboratuarında görev yaparak "Gıdaların gamma radyasyonuna tabi tutularak raf ömürlerinin uzatılması" konusunda çalışmalarda bulundum. 1989-1993 yılları arasında Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Gıda Araştırmaları Bölümü Et ve Et ürünleri laboratuarında görev yaptım. 1993 yılından itibaren İstanbul Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsünde görev yapmaktayım.

Evli ve 2 çocuk annesiyim.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ