

AFLATOKSİNLER ÜZERİNE KISA AÇIKLAMA

A SHORT DISCUSSION ABOUT AFLATOXINS

Türkan YURDUN*

SUMMARY

Aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂, are secondary metabolites produced by the fungi *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. Aflatoxin B₁ is a potent hepatocarcinogen in experimental animals, but tumors may also occur in the colon and kidneys. Human exposure to aflatoxins may occur by the consumption of foods that have been contaminated by certain strains of *Aspergillus flavus* or *Aspergillus parasiticus* during growth or storage. Nearly all agricultural products are potentially subject to contamination with aflatoxins.

ÖZET

Aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* küf mantarlarının ürettiği sekonder metabolitlerdir. Aflatoksin B₁ deney hayvanlarında güçlü hepatokarsinogen etkili olmasının yanında tümörler kolon ve böbreklerde de görülebilir. Yetiştirme ve saklama sırasında bazı *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* küf mantarları tarafından kontamine olan yiyeceklerin tüketilmesiyle insanlar aflatoksinlere maruz kalırlar. Hemen hemen bütün tarım ürünlerinin aflatoksinlerle kontamine olması mümkündür.

Doğada çok yaygın bulunan mantarlar çok eski zamanlardan beri bilinmektedir. Yüksek formlu şekilleri, insanlar tarafından kültürü yapılarak besin olarak kullanılmaktadır. Fakat mantarların yapıları ve büyüme tarzları hakkındaki bilgiler mikroskobun 17. yy. da keşfedilmesiyle başlamış ve faydalı özellikleri yanında zararları da ortaya çıkmıştır. Bazen küflü bir besin maddesinin yemeğe uygun olmadığı düşünülür. Küfler bir yandan çeşitli besin maddelerinin bozulmasında rol oynarken, diğer taraftan özel küflerle çeşitli besinlerin hazırlanmasında ve besinlere katkı maddelerinin üretiminde kullanılırlar, örn. *Penicillium roqueforti* ile küflü peynirler olgunlaştırılır, bazı mayalar ekmeğin iyi pişmesini sağlar. Ayrıca endüstride de bir çok kullanılış alanı vardır. Örn. ergot alkaloidleri, çeşitli antibiyotikler, steroid hormonlar, vitaminler, önemli organik asitler ve enzimlerin hazırlanmasında mantarlardan yararlanılır. Bu kadar faydaları bulunan mantarların insan, bitki ve hayvanlarda (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*) hastalık oluşturduğu bilinmektedir.

* İstanbul Bölge Hıfzıssıhha Enstitüsü Müdürlüğü, Zeytinburnu / İSTANBUL.

Besinlerin küf mantarları ile kontaminasyon kaynağı olarak toprak başta gelir. Havada, bozulmuş bitki ve yiyeceklerde , buzdolabında, meyva sularında ve bir çok yerlerde rastlanmakta olup buralardan hayvanlara ve gıda maddelerine bulaşrlar.

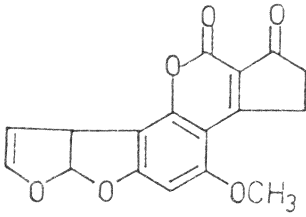
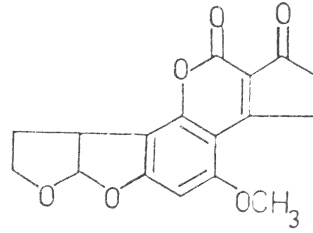
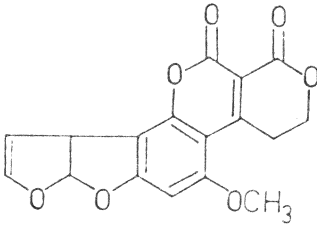
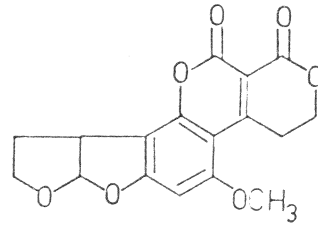
Küf mantarları yeryüzünde hemen her iklimde gelişir. Fungusların üremelerinde ve toksin yapmalarında önemli faktörler nem , ısı derecesi ve ortamın pH'dır (1). Rutubetli ortamlarda kolay üremelerine rağmen kuru çevrelerde de (yaz ayları) yaşamlarını sürdürürler.

Besin maddelerimizin, küflerin meydana getirdiği kontaminasyondan ortaya çıkan tehlikeye bütün dünya gittikçe artan bir dikkatle eğilmektedir. Mikotoksinler, küf mantarlarının ürettiği, insanlar ve sıcakkanlı hayvanlarda akut ve kronik zehirlenmelere neden olan metabolitler olarak açığa çıkar ve üzerinde üredikleri bir çok gıda maddesi de mikotoksinleri sentez edebilir. Özellikle hububatın, funguslarla hasattan önce tarlada ve hasat zamanı yağışlı mevsimlerde ve sıcaklığın uygun olduğu ortamlarda infekte olduğu , taşıma ve depolama sırasında bozulmanın arttığı bildirilmiştir (1). Bu durum düşük ürün rekoltesine, kalite kaybına, besin değerinde azalmaya en önemlisi toksik metabolitlerin üretimine yol açar. Kontamine olan ürünleri şöyle sıralayabiliriz: Hububat ve ürünleri, mısır, pamuk tohumu, kahve gibi yağlı tohumlar ve küspeleri, fındık, yerfıstığı ve benzeri kuruyemiş, kurumeyva, süt ve ürünleri (örn. peynir) et ve balık ürünleri ile diğer besinlerde bulunduğu ve bu besinler üzerinde üreyebildikleri bilinmektedir.

Aflatoksinlerle ilgili araştırmalar 1960'da İngiltere'de bir kaç ay içinde 100.000 üzerinde hindi ve ördeklerin ani ölmesi üzerine başladı. Etkilenen hayvanlar benzer semptomlar gösterdi ve hastalık " Hindi X Hastalığı " olarak tanımlandı (1). 1961'de Brezilya'dan ithal edilen ve hindilerin beslenmesinde kullanılan küflü zirai ürünlerden *Aspergillus flavus* Link. izole edildi (2). İTK (= İnce tabaka kromatografisi) ile UV ışık altında karakteristik mavî renk gösteren toksine *A. flavus* toksini anlamında " Aflatoksin B₁ " adı verildi. Aflatoksin B₁ 'in " Hindi X Hastalığı " nın başlıca sebebi ve kuvvetli hepatotoksik ve karsinojenik etkili olduğu anlaşıldı (3). Bunu takip eden çalışmalarda , B₁ ile kontamine olmuş yemlerle beslenen hayvanların (inek) sütünden monohidroksi metaboliti olan ve Aflatoksin M₁ adı verilen toksin izole edildi.

Aflatoksinlerin oluşmasından sorumlu küfler öncelikle *Aspergillus flavus* Link ve *Aspergillus parasiticus* Speare olup toksik küflerin büyük kısmı Fungi Imperfecti (Deuteromycetes)'lerdendir.

Aflatoksinler (Aflatoksin B₁ , Aflatoksin G₁ , Aflatoksin B₂ , Aflatoksin G₂) furanokumarin türevi olup gerçekte bir karışımdır. 13 toksin izole edilip açıklanmasına rağmen Aflatoksin ismi genel olarak 4 varyasyon için kullanılır. Aflatoksin B₁ ve G₁ arasındaki fark G₁'de siklopentano halkası yerine 5-valerolakton halkası yer alır ve aflatoksin B₂ , B₁'in , aflatoksin G₂ ise G₁' in

AFLATOXIN B₁AFLATOXIN B₂AFLATOXIN G₁AFLATOXIN G₂

Tablo 1. Mikotoksikoza sebep olan en önemli mikotoksinler (4, 5, 6)

Toksin	Toksik küf	Etki	Hastalık ismi
Aflatoksin B ₁ ,G ₁ *	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	Hepatotoksik, karaciğer tümörü	Aflatoksikosis
Penitrem A	<i>Penicillium palitans</i> , <i>P. crustosum</i>	Tremorgenik, konvulsiyon	Penitrem toksikosis
Zearalenone (F ₂)	<i>Gibberella zeae</i>	Vulvavajinitis, abortus	Zearalenone toksikosis
T ₂ - Toksin	<i>Fusarium tritinctum</i>	Deride nekroz, hemoraji	Trichohecene toksikosis
Ochratoksin A	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>P. viridicatum</i>	Nefrotoksik	Ochratoksikosis
Citrinin	<i>Penicillium citrinum</i> , <i>P. viridicatum</i>	Nefrotoksik	Citrinin toksikosis
Patulin *	<i>Penicillium patulum</i> , <i>P. rugulosum</i>	Karaciğer tümörü	
Sterigmatocystin *	<i>Aspergillus versicolor</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. flavus</i>	Karaciğer tümörü	
Penicillic acid*	<i>Penicillium puberulum</i> ,	Subkutan sarkom	
Tanın yapılmamış	<i>Phomopsis leptostromiformis</i>	Hepatoksik	

*) karsinojenik etki

dihidro şekilleridir. Aflatoksin B₁, B₂ mavi fluoresans gösterirken aflatoksin G₁ ve G₂ UV ışık altında yeşil fluoresans gösterir.

Araştırmalar 250'i aşkın küf suşunun türüleri ile beraber 100'ün üzerinde çeşitli mikotoksinleri ürettiğini göstermiştir. Yüksek toksisiteye sahip mikotoksinler Tablo 1'de gösterilmiştir. Bunlara ilave olarak yeni mikotoksinlerin izole edileceği tabiidir. bilinen en karsinogenik ajanların içinde aflatoksin B₁ en şiddetli karsinogen aktiviteye sahiptir. Aflatoksinler prokanserojen olup epoksitleri asıl kanserojen metabolitlerdir.

Toksikolojik olarak aflatoksinlerin biyolojik aktiviteleri incelenmiş toksik, karsinogen, teratojen ve mutajen etkiler saptanmıştır (5,7,8). Aflatoksinlerin letal dozu çeşitli hayvanlarda denenmiş (örn. maymunlarda LD₅₀ 2.2 mg/Kg, köpeklerde LD₅₀ 1.0 mg/Kg, farelerde LD₅₀ 9.0 mg/Kg, sıçanlarda LD 5.5- 17.9 mg/Kg) 0.3-17.9 mg/Kg arasında değiştiği bildirilmiştir (5). Bu durum göz önünde bulundurularak protein yönünden zengin olan yerfıstığı unlarının çocuk mamalarına dahil edilmesi ve aflatoksin bulunma olasılığı üzerine FAO/WHO/Unicef Komitesi Ağustos-1966'da şu kararı almıştır. Protein supplementlerinde (Günde 100 g yenildiğine göre) aflatoksin miktarı 0.03 ppm'i (30 µg/Kg besin maddesi) geçmemelidir (9). İngiltere, A.B.D., Japonya ve İsviçre'de insan yiyecekleri için aflatoksin B₁ ve toplam aflatoksin miktarı 10-20 ppb, süt için aflatoksin M miktarı 10-500 ppt kabul edilmiştir (8).

Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığında Aflatoksin Kontrolü'ne Dair 2 Mayıs 1990 ve 20506 sayılı Resmi Gazete Tebliği şöyledir: Gıda maddeleri, çocuk mamaları, tarım ürünleri ve hayvan yemlerinin aflatoksin yönünden kontrolüne esas olmak üzere aşağıda verilen miktarlarda ppb olarak en yüksek kabul edilebilir değer olarak 3161 sayılı Kanunun 9. ve 33. maddeleri ve 1734 sayılı Kanunun 1. ve 2. maddeleri gereğince tespit edilmiştir.

MAMÜLLER	Aflatoksin Çeşitleri (ppb)		
	B ₁	B ₁ + M ₁	Toplam (B ₁ + B ₂ + G ₁ + G ₂)
Gıda Maddeleri	5	-	20
Tarım Ürünleri	5	-	20
Çocuk Mamaları	-	-	2
Süt ve Ürünleri	-	0.5	-
Karma Yemler	-	-	50

İnsanlar için toksik dozun ne kadar olduğu bilinmemektedir. Aflatoksinler kümülatif özellikle olduklarından canlılarda etkilerini akut ve kronik olarak iki şekilde gösterirler. Aflatoksin B₁'in akut toksik dozlarında macaque maymunlarında beliren tablonun benzeri Tayland'lı çocuklarda görülmüştür. Maymunlar ve çocuklarda benzer semptomlar yüksek ateş, kusma, ishal, koma ve konvülsiyonlar; histopatolojik incelemede ise karaciğer, kalp ve böbreklerde yağlanma, beyin ödemi, sinir dejenerasyonu saptanmıştır. Tayland'lı çocukların

yiyeceklerinde ve otopside kimyasal analizler sonucunda özellikle karaciğerde aflatoksin bulunmuştur (1, 5).

Kontamine olmuş fıstıkla beslenen farelerde 6 hafta sonra karaciğer tümörü (3) ve günde 1.8 ppm aflatoksin içeren gıda ile beslenen kobaylarda 370 gün sonra % 90 tümör olduğu bildirilmiştir (9). Çeşitli laboratuvar hayvanlarında (sıçan, ördek, fare, bazı balıklar) karaciğer kanseri yanında mide, böbrek, akciğer, tükrük bezi, kolon ve deri kanserlerine de neden olduğu görülmüştür (5). Yapılan çalışmalar sonucunda tropik bölgelerde (Hindistan, Afrika, Güneydoğu Asya) iyi koşullarda depolanmamış ve uzun süre aflatoksin içeren gıdalarla beslenme ile karaciğer kanseri insidensi arasında ilişki saptanmıştır (5, 8, 9, 10).

Memleketimizde aflatoksinlerle ilgili ilk çalışmalar Haziran-1967 yılında Kanada'ya ihraç edilen fındıkların aflatoksin içermeleri nedeniyle iade edilmesinden sonra başlamıştır (11). Aynı problemle 1971 yılında bu defa A.B.D.'ne ihraç edilen fıstıkların iade edilmesi ile karşılaşılması (12) ve son günlerin aktüel konularından biri olan kırmızı biberlerin Almanya'dan iadesi ile tekrar gündeme gelmiştir.

Aflatoksin analiz çalışmaları sürekli devam etmektedir. İTK Türkiye'de en çok kullanılan metottur (13). Aflatoksinlerin erime derecelerinin yüksek olması nedeniyle gaz kromatografisi ile analizlerinde hassasiyet düşüktür (14). Ayırmaları en uygun ve yeterli olan yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (=HPLC) en son teknik olarak kullanılmaktadır (15, 16). Ayrıca kuvvetli asitler (triflorasetik asit) veya oksidanlar (kloramin-T, iyot, brom gibi) kullanılarak aflatoksinlerin floresans şiddetleri artırılır (13, 17, 18, 19). Enstitümüzde de 1991 senesinden beri değişik analiz örneklerinde fıstık, fıstık ezmesi, fındık, fındık ezmesi ve diğer kuruyemişler ile kurumeyvalar, baharatlar ve son olarak çalışmalarımızı kırmızı biber örnekleri ile sürdürmekteyiz.

Aflatoksinlerin detoksifikasyonu oldukça güçtür. Aflatoksin B₁ 120° C de 20 dakikada sadece %20 oranında inaktive olur. Detoksifikasyon için amonyak önerilmektedir (1). Ayrıca aflatoksinler benzoil peroksit, osmiyum tetroksit, serik amonyum sülfat, sodyum hipoklorit, potasyum permanganat ve sodyum borat gibi oksidanlarla kimyasal özelliklerini kaybeder (9). Laboratuvarımızda %5'lik hipoklorit çözeltisi aflatoksinle kontamine olmuş cam malzemelerin temizlenmesinde kullanılmaktadır.

Aflatoksinlerle tarım ürünlerinin kontaminasyonu birçok ülkede (A.B.D., Brezilya, Kanada, Japonya, Güney Afrika, Hindistan, İngiltere) bildirilmiş olup bazen çok yüksek miktarlarda mısır, pamuk tohumu, fıstık, fındık ve diğer kabuklu kuruyemişlerde bulunabilir. Bu nedenle ürünlerin aflatoksin içermesi sadece insan sağlığı yönünden değil aynı zamanda ekonomik bir problem olarak da karşımıza çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Norred, W.P.:In, *Diagnosis of Mycotoxicoses*, Richard, J.L., Thurston, J.R., (eds). Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands, sayfa 11 (1986).
2. Sargeant, K., Sheridan, A., O' Kelly, J., Carnaghan, R.B.A., :*Nature*, **192**, 1096 (1961).
3. Lancaster, M.C., Jenkins, F.P., McL.Philp, J., :*Nature*, **192**, 1095 (1961).
4. Gorst-Allmand, C.P., Steyn, P.S., :*J. Chromatogr.* , **175**, 325 (1979).
5. Ciegler, A., :*Lloydia*, **38** (1), 21 (1975).
6. Aibara, K. : In, *Diagnosis of Mycotoxicoses*, Richard, J.L., Thurston, J.R., (eds). Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands, sayfa 3 (1986).
7. DiPaolo, J.A., Elis, J. , Erwin, H. , :*Nature*, **215**, 638 (1967).
8. Goto, T., Manabe, M., Matsuura, S. , Hsieh, D.D.H. :In, *Diagnosis of Mycotoxicoses*, Richard, J.L., Thurston, J.R., (eds). Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands, sayfa 103 (1986).
9. Güray, Ö., Vural, N., :*A.Ü.T.F.Mec.*, **21**, 1030 (1968).
10. Eser, S.R., Kumova, B., Sivas, S., :*Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi*, **9**, 213 (1978).
11. Akşehirli, M., Bozkurt, M., :*Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi*, **29** (2), 103 (1969).
12. Bozkurt, M., Göksoy, N., Karaali, A., Akşehirli, M., : *Türk Hijyen ve Tecrübi Biyoloji Dergisi*, **32**, 221 (1973).
13. Betina, V., : *J. Chromatogr.* , **477**, 187 (1989).
14. Goto, T., Matsui, M., Kitsuwa, T., :*ibid.*, **447**, 410 (1988).
15. Niedwetzki, G., Lach, G., Geshwill, K., :*ibid.*, **661**, 175 (1994).
16. Rhijn, J.A., Viveen, J., Tuinstra, L.G.M.Th., :*ibid.*, **592**, 265 (1992).
17. Garner, R.C., Whattam, M.M., Taylor, P.J.L., Stow, M.W., :*ibid.*, **648**, 485 (1993).
18. Hurst, W.J., Snyder, K.P., Martin, Jr., R.A., :*ibid.*, **409**, 413 (1987).
19. Holcomb, M., Wilson, D.M., Trucksess, M.W., Thompson, Jr., H.C., :*ibid.*, **624**, 341 (1992).

(Received March 20, 1995)