

TÜRKİYE'NİN TARIMSAL MİKOFLORASININ MİKOTOKSİN PROFİLLERİ

MYCOTOXIN PROFILES OF TURKISH AGRICULTURAL MYCOFLORA

Şeminur TOPAL, Necla ARAN, Ceyda PEMBEÇİ

TÜBİTAK, Marmara Araştırma Merkezi, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Araştırma Enstitüsü

ÖZET: Çalışmamızda ülkemize özgü çeşitli gıda gruplarından ve tarımsal ürünlerden izole edilen 1560 küf kültürünün mikotoksin üretebilme özelliğine sahip 819 adedi, sekonder metabolitleri olan mikotoksinler yönünden incelemeye alınmıştır. Bu kapsamda 40 farklı küf türü, 31 ayrı mikotoksin açısından İnce Tabaka Kromatografisi yöntemiyle kalitatif olarak taranmıştır. Sonuç olarak 3456 analiz bulgusu değerlendirilmiş olup, incelenen küflerin %16.20'sinin toksik özellik gösterdiği, %81.36'sının toksik olmadığı, %2.46'sının ise toksin üretimi açısından tartışılabilir özellikte olduğu belirlenmiştir.

ABSTRACT: Mycotoxin profiles of 819 mould cultures from 1560 mould species, isolated from various Turkish agricultural and food stuffs was investigated. In this context, 40 different mould species were screened qualitatively for 31 different mycotoxins by using Thin Layer Chromatography technique. A total of 3456 analyses was conducted and it has been observed that 16.20% of the moulds showed toxic properties, whereas 81.36% and 2.46% of the moulds were nontoxic and suspected respectively.

GİRİŞ

Küfler gıdalarda oluşturdukları çeşitli olumlu veya olumsuz değişiklikler nedeniyle gerek sağlık, gerekse endüstriyel açıdan önemli yer tutmaktadırlar. Küflerin primer metabolitleri olan enzimlerle protein, yağ ve karbonhidratlar küçük moleküllere parçalanırken, ortamda yeni bileşikler de sentezlenebilmektedir. Ayrıca endüstriyel mikrobiyolojide sitrik asit, glukonik asit, itakonik asit vb. organik asitler, bazı enzimler, pigment ve antibiyotik üretiminde de küflerden yararlanılmaktadır. (BEUCHAT, 1981; EDELMAN ve ark. 1983; TOPAL 1984a). Küfler çeşitli biyoaktif metabolitleriyle tıp alanında da önem taşıyan mikroorganizmalardandırlar (PEARCE, 1997). Gıdalar üzerindeki olumsuz etkileri ise renk bozulmaları, acılık, istenmeyen kokuların oluşumu gibi dıştan gözlenebilen değişimler ile, besin elementleri kaybı ve mikotoksin oluşumudur. Küflerin sekonder metabolitleri olan mikotoksinler, önemli sağlık sorunlarına ve ekonomik kayıplara neden olabilen bileşiklerdir. Mikotoksinlerin canlılar üzerinde alındıkları dozlara ve kişisel dirence bağlı olarak ölümle sonuçlanan akut etkileri olabildiği gibi kanserojen, teratojen, tremorgen, hemoraljik, dermatitik, hepatotoksik, nefrotoksik ve neurotoksik etkileri de söz konusudur (BULLERMAN, 1986; SCHLATTER, 1988; TOPAL, 1986a; 1987a). Mikotoksinler gıdalara küfün gıda üzerinde gelişmesi ile doğrudan bulaşabilecekleri gibi, kontamine hammaddelerin prosesde kullanımı ile de dolaylı olarak bulaşabilmektedir. Örneğin toksin içeren yemle beslenen hayvanların sütleri ve etleri mikotoksin türevlerini ve kalıntılarını içerebilmektedir. Kalite kayıpları ve dolayısıyla ekonomik zararlanmalar da meydana getirebilen küfler, aynı zamanda gıdaların kalite kontrollerinde de olası bir riski belirlemek için incelenen indikatör floralarındadır (GOTO, 1990; TOPAL, 1984b; 1987b;).

Mikotoksinlerin sentezlenmesi küfe özgü olduğu kadar, koşullara özgü olma özelliği ile de önem taşımaktadır. Konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda çeşitli küflere özgü sekonder metabolitler saptanmıştır (FRISVAD, 1988; FRISVAD ve FILTENBORG, 1990; NORTHOLD ve SOENTORO, 1988; STOLK ve ark., 1990). Mikotoksin üreten küfler arasında *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* türleri ilk sıralarda yer almaktadır (FRISVAD, 1988). Ülkemiz gıdalarının küf floralarının belirlenmesi amacı ile yürütülen kapsamlı çalışmalarda da çeşitli peynirler (ARAN ve EKE 1987a; TOPAL, 1987b), tahıllar, baklagiller (ARAN ve EKE, 1987b; ARAN ve ark., 1986; TOPAL, 1986b), salça (ARAN ve ark., 1987), yağlı tohumlar (TOPAL ve ARAN, 1987), çerez tipi gıdalar (TOPAL, 1988) ve antep fıstığı (HEPERKAN ve ark. 1994), gibi farklı gıda gruplarından *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* ve *Penicillium* cinsi küflerin toksik özellik gösterebilen türleri izole edilmiştir.

Ülkemiz genelindeki küf izolasyon ve identifikasyon çalışmalarıyla sağlanan birikimin, kültürel kazanım olduğu yaklaşımından (SAMSON ve ark. 1996) hareketle, bir koleksiyon merkezi halinde sistematik korunumu gerçekleştirilmiştir. TÜBİTAK, MAM Gıda Bilimi ve Teknolojisi Araştırma Enstitüsü'nde oluşturulmuş bu küf koleksiyonundaki (TOPAL, 1989; 1996; 1998), ülkemize özgü gıda maddelerinden izole edilen küflerin, primer ve sekonder metabolik aktivite durumlarının incelenmesi amacıyla yürütülen araştırma kapsamında, bu saf küf kültürleri belli mikotoksinler açısından da taramaya alınmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEMLER

TÜBİTAK-MAM Küf Kültür Koleksiyon Merkezinde mevcut 1560 adet küf kültürü, üretebilecekleri özgün mikotoksinler dikkate alınıp, potansiyel olanlar seçilerek gruplandırılmıştır (Çizelge 1). Bu kapsamda *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri Dichloran Rose Bengal Agar (DRBC), diğer *Deutromycetes* türleri Malt Extract

Çizelge 1. Mikotoksinler ve İncelenen Potansiyel Küf Florası(*)

Mikotoksinler	Potansiyel küfler	Mikotoksinler	Potansiyel küfler
AAL toksinler	20 ^(**) <i>A. alternata</i>	Penisilik asit	1 <i>P. janthinellum</i>
Aflatoksin(B ₁ ,B ₂ , G ₁ ,G ₂)	8 <i>A. flavus</i>		15 <i>P. lividum</i>
AME (***)	20 <i>A. alternata</i>		2 <i>P. megalporium</i>
Altertoksin	20 <i>A. alternata</i>		4 <i>P. myczynski</i>
Deoksinivalenol	29 <i>Fusarium</i> spp.		14 <i>P. nalgiovense</i>
Emodin	2 <i>E. chevalieri</i>		3 <i>P. olsonii</i>
Fumigallin	21 <i>A. fumigatus</i>		1 <i>P. puberillum</i>
Gliotoksin	2 <i>E. chevalieri</i>		7 <i>P. roquefortii</i>
Griseofulvin	35 <i>P. griseofulvum</i>		100 <i>P. ver. var. corymbiferum</i>
HT2	31 <i>Fusarium</i> spp.		136 <i>P. ver. var. cyclopium</i>
Kojik asit	8 <i>A. flavus</i>		63 <i>P. ver. var. melanochlorum</i>
	10 <i>A. clavatus</i>		40 <i>P. ver. var. verrucosum</i>
	20 <i>A. fumigatus</i>		40 <i>P. verrucosum</i>
	2 <i>A. ustus</i>	Penitrem A	136 <i>P. ver. var. cyclopium</i>
	1 <i>A. wentii</i>		100 <i>P. ver. var. corymbiferum</i>
Malformin A	29 <i>A. niger</i>		63 <i>P. ver. var. melanochlorum</i>
Mikofenolik asit	41 <i>P. brevicompactum</i>		40 <i>P. ver. var. verrucosum</i>
Neosolanin	29 <i>Fusarium</i> spp.		40 <i>P. verrucosum</i>
3-Nitropropionik asit	8 <i>A. flavus</i>	PR toksin	266 <i>P. chrysogenum</i>
	1 <i>A. wentii</i>		7 <i>P. roquefortii</i>
Okratoksin	100 <i>P. ver. var. corymbiferum</i> (= <i>P. hirsutum</i>)	Rokuefortin C	266 <i>P. chrysogenum</i>
	136 <i>P. ver. var. cyclopium</i> (= <i>P. aurantiogriseum</i>)		7 <i>P. roquefortii</i>
	63 <i>P. ver. var. melanochlorum</i> (= <i>P. commune</i>)		1 <i>P. crustosum</i>
	40 <i>P. ver. var. verrucosum</i> (= <i>P. verrucosum</i>)	Siklapiazonik asit	2 <i>P. camamberti</i>
Patulin	8 <i>A. terreus</i>		439 <i>P. verrucosum</i> spp.
	10 <i>A. clavatus</i>	Sitokalsin E	10 <i>A. clavatus</i>
	10 <i>P. frequentans</i>	Sitrinin	8 <i>A. terreus</i>
	11 <i>P. granulatum</i>		43 <i>P. expansum</i>
	4 <i>P. funiculosum</i>		13 <i>P. citrinum</i>
	35 <i>P. griseofulvum</i>		136 <i>P. ver. var. cyclopium</i>
	1 <i>P. janthinellum</i>		100 <i>P. ver. var. corymbiferum</i>
	15 <i>P. lividum</i>		63 <i>P. ver. var. melanochlorum</i>
	2 <i>P. megalporium</i>		40 <i>P. ver. var. verrucosum</i>
	4 <i>P. miczynskii</i>		40 <i>P. verrucosum</i>
	14 <i>P. nalgiovense</i>	Sterigmatosistin	2 <i>A. amstelodani</i>
	3 <i>P. olsonii</i>		18 <i>A. sydowi</i>
	4 <i>P. paraherquei</i>		35 <i>A. versicolor</i>
	1 <i>P. puberillum</i>	T2	31 <i>Fusarium</i> spp.
	7 <i>P. roquefortii</i>		6 <i>Trichoderma</i> spp.
	43 <i>P. expansum</i>	Tenuazonik asit	20 <i>A. alternata</i>
	4 <i>Paecilomyces variotii</i>	Zearelenon	29 <i>Fusarium</i> spp.

(*) SAMSON ve REENEN-HOEKSTRA, 1988; SINGH ve ark. 1991; LUND ve ark. 1995,

(**) Küf Sayısı, (***) Alternariol monometil eter

1996; PITT ve HOCKINS, 1985), kültür ortamıyla birlikte 100 ml kloroform içeren Stomacher torbalarına aktarılmış ve 3 dakika homojenize edilmiştir. Filtre kağıdından süzülen filtrat, "rotary" evaporatörde 60-65°C'de kuruluğa getirilene dek uçurulmuştur.

Çizelge 2. Küflerin, Oluşturabildikleri Mikotoksin Gruplarına Göre İncelenmesinde Kullanılan Yürütme ve Püskürtme Çözeltileri, Gelişen Renk Durumları Değişimine Göre Değerlendirmeler

Mikotoksin	Standart	Yürütme çözeltisi	Püskürtme	Renk	Ref.
AAL Toksin	(Sigma A8331)	EA:H ₂ O(6:3:1)	%3 Ninhidrin	Pembe (b)	1
Aflatoksin (B1,B2,G1,G2)	(Makor.Chm 0035.0036.0037,0038)	CA(90:10)	%25 H ₂ SO ₄	Mavi Yeşil floresans (a)	2
Altartoksin	(Sigma A1437)	BE(9:1)		Sarı leke (b)	1
AME	(Sigma A3171)	TE(90:10)		Mavi floresans (a)	1
Deoksinivalenol	(Sigma D0156)	CAI(8:1:1)	%25 H ₂ SO ₄	Uçuk mavi (a)	3
Emodin	(Sigma E7881)	TEF(5:4:1)		Turuncu (b), Sarı (a)	4
Fumigillin	(Sigma F 6771)	TEF (5:4:1)	%50 H ₂ SO ₄	Sarı (a), kahverengi (b)	1
Gliotoksin	(Sigma G9893)	TEF(5 :4:1)	(*)	Soluk pembe (b)	4
Griseofulvin	(Sigma G4753)	TEF(5 :4:1)		Soluk mavi (a)	4
HT2	(Makor Chm0635)	CM(5:15)	%25H ₂ SO ₄	Uçuk mavi (a)	5
Kojik asit	(Sigma K3125)	BMA(45:10:4)	%1 FeCl ₃ (suda)	Koyu pembe (b)	1
Malformin A	(Sigma M2282)	CM(95:5)	%1I ₂ (etanol'de)	Koyu sarı (b)	1
Mikofenolik asit	(M3536)	TEF(5:4:1)		Mavi floresans (a)	4
Neosolaniol	(Sigma N1761)	TAM(5:3:2)	%25H ₂ SO ₄	Mavi-Yeşil floresans(a) Kah(b)	4
3-Nitropropionik asit	(Sigma N5636)	CAH (1:1:1)	Diazotize paraanilin(**)	Mor (b)	6.7
Okratoksin	(Makor chm0635)	TEF(5:4:1)		Uçuk mavi floresans (a)	8
Patulin	(Makor chm0653)	TEF(5:4:1)	(***)	Uçuk mavi floresans (a)	4.9
Penitrem A (Tremorgen)	(Sigma.P3053)	CA(95:5)	%3 FeCl ₃ (etanolde)	Siyahımsı leke (a)	10
Penisillik asit	(Makor Chm0654)	TEF(5:4:1)	(***)	Parlak koyumavi floresans(a)	4
PR-Toksin	(Sigma P4771)	CM(96:4)		Sarı leke (a)	10
Rokuefortin C	(Sigma R4010)	CAI(85:15:20)	%10 H ₂ SO ₄	Mavi (a), siyahımsı leke (b)	4
Siklopiazonik asit	(Sigma C1530)	MB(1:9)	Ehrlich reaktifi	Mavi (a)	4
Sitokalsin E	(Sigma 7881)	CM(95:5)	%25 H ₂ SO ₄	Siyahımsı leke (b) Mor leke (a)	1
Sitrinin	(Makor chm7168)	TEF(5:4:1)		Parlak sarı (a)	4.9
Sterigmatosistin	(Makor C0760)	TEF(5:4:1)	%10 AlCl ₃ (etanolde)	Kiremit kırmızısı (a)	4
T-2	(Makor chm0762)	CM(85:15)	%25 H ₂ SO ₄	Uçuk mavi (a)	11
Tenuazonik asit	(Sigma T3408)	CM(****)(85:15)	%2 FeCl ₃ (etanolde)	Koyu pembe (b) Mavi (a)	1
Zeralenon	(Makor chm0905)	CM(85:15)	%25 H ₂ SO ₄	Açık mavi (a)	10

(*) 0.5 ml p-anisaldehyt + 85 ml MeOH + 10 ml Asetik asit +5 ml H₂SO₄

(**) %5'lik NaNO₂'nin sudaki çözeltisinden 0.3 ml alınıp, 10 ml, p-nitro anilin'in 1N HCl'deki %0.3'lük çözeltisi ile karıştırılarak soğukta hazırlanmış ve hemen kullanılmıştır.

(***) İnce tabaka plakları önce %1'lik difenil borik aside daldırılıp kurutulduktan sonra kullanılmış, yürütmeyi takiben plaklar NH₃ buharına tutulmuştur.

(****) 1-2 damla su (a) :UV360 nm (b) : Görünür ışıktadır

CA	: Kloroform: Aseton	(1)	HARRER, 1996
EA	: Etilasetat : Asetik asit	(2)	ANONYMOUS 1990a
TE	: Toluol : Etanol	(3)	ANONYMOUS, 1990b
BE	: Benzen : Etanol	(4)	FRISVAD, 1988
CAI	: Kloroform: Aseton: Isopropanol	(5)	SCHMIDT ve ark. 1982
CAH	: Kloroform: Aseton: Hekzan	(6)	MAJAK ve BOSE, 1974
CM	: Kloroform: Metanol	(7)	WEI ve ark., 1994
BMA	: Benzen: Metanol: Asetik asit	(8)	SINGH ve ark., 1991
MB	: Metanol: Benzen	(9)	THRANE, 1997
TAB	: Toluol: Aseton: Metanol	(10)	ALPERDEN, 1977
TEF	: Toluol: Etilasetat: Formik asit	(11)	SCHMIDT ve ark., 1981

Daha sonra tekrar 3-5 ml kloroformda çözüldürülen ekstakt, Agar (MA) ortamlarında 25-26°C'de 7 gün inkübe edildikten sonra (FRISVAD ve THRANE, 1996; NIJS ve ark., analize kadar geçen süre içinde Ependorf tüplerinde (-20°C'de) muhafaza edilmiştir (ANONYMOUS, 1990a; FRISVAD, 1988; FRISVAD ve ark. 1989; PATERSON ve BRIDGE 1994). Küf kültürlerinin mikotoksin profilleri İnce Tabaka Kromatografisi (Thin Layer Chromatography: TLC) tekniği ile saptanmıştır. Bu amaçla "Silikajel 60G Plakaları (Merck 5721) kullanılmış, standarda göre kalitatif olarak mikotoksin üretim özellikleri taranmıştır. İncelenen küfler, oluşturdukları mikotoksin grupları, yürütme ve püskürtme çözeltileri, gelişen renk durumları Çizelge 2'de verilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Mikrotoksin incelemeleri; her küf için özgün olası toksinler açısından gruplanarak ayrı ayrı yapılmış ve elde edilen tarama sonuçları Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. İncelemeye Alınan Küfler ve Mikotoksin Aktivitelerinin Tarama Sonuçları

İncelenen küfler	Adet	İncelenen mikotoksinler	Bulgular
<i>A. alternata</i>	20	AAL toksin	(*)
<i>A. alternata</i>	20	Alternariol monometil eter	4+, 1±(**)
<i>A. alternata</i>	20	Altertoksin	2+, 2±
<i>A. alternata</i>	20	Tenuazonik asit	-
<i>A. flavus</i>	8	Aflatoksin B ₁	1+
<i>A. flavus</i>	8	B ₂ , G ₁ , G ₂	1+(B ₂)
<i>A. flavus</i>	8	Kojik asit	-
<i>A. flavus</i>	8	Siklopiazonik asit	-
<i>A. flavus</i>	8	3-Nitro propiyonik asit	-
<i>A. amstelodami</i>	2	Sterigmatosistin	-
<i>A. chavalieri</i>	2	Emodin	-
<i>A. chavalieri</i>	2	Gliotoksin	-
<i>A. clavatus</i>	10	Kojik asit	-
<i>A. clavatus</i>	10	Patulin	4+
<i>A. clavatus</i>	10	Sitokalsin E	4±
<i>A. fumigatus</i>	20	Gliotoksin	-
<i>A. fumigatus</i>	20	Kojik asit	-
<i>A. fumigatus</i>	20	Fumigillin	2+, 7±
<i>A. niger</i>	28	Malformin A	-
<i>A. sydowi</i>	18	Griseofulvin	-
<i>A. sydowi</i>	18	Sterigmatosistin	2+
<i>A. terreus</i>	8	Gliotoksin	-
<i>A. terreus</i>	8	Patulin	3±
<i>A. terreus</i>	8	Sitokalsin E	2±
<i>A. terreus</i>	8	Sitrinin	1±
<i>A. ustus</i>	2	Kojik asit	-
<i>A. versicolor</i>	35	Sterigmatosistin	16+, 4±
<i>A. wentii</i>	1	Kojik asit	-
<i>A. wentii</i>	1	Emodin	-
<i>A. wentii</i>	1	Gliotoksin	-
<i>A. wentii</i>	1	3-Nitro propiyonik asit	-
<i>Fusarium sp.</i>	29	Deoksinivalenol	-
<i>Fusarium sp.</i>	31	HT2	2+
<i>Fusarium sp.</i>	31	T-2	2+
<i>Fusarium sp.</i>	29	Zearelenon	-
<i>Fusarium sp.</i>	30	Neosolaniol	1+
<i>P. brevicompactum</i>	41	Mikofenolik asit	25+, 5±
<i>P. camemberti</i>	2	Siklopiazonik asit	1+
<i>P. chrysogenum</i>	266	PR Toksin	1+

Çizelge 3 (devam)

İncelenen küller	Adet	İncelenen mikotoksinler	Bulgular
<i>P. chrysogenum</i>	266	Rokuefortin C	26+, 12±
<i>P. citrinum</i>	13	Sitrinin	1+
<i>P. expansum</i>	43	Patulin	13+
<i>P. expansum</i>	43	Rokuefortin C	11+, 4±
<i>P. expansum</i>	43	Sitrinin	11+
<i>P. frequentans</i>	10	Patulin	-
<i>P. funiculosum</i>	4	Patulin	-
<i>P. granulatum</i>	11	Patulin	-
<i>P. griseofulvum</i>	35	Griseofulvin	19+
<i>P. griseofulvum</i>	35	Patulin	16+
<i>P. griseofulvum</i>	35	Rokuefortin C	11+, 4±
<i>P. griseofulvum</i>	35	Siklopiazonik asit	20+
<i>P. jantnellum</i>	1	Patulin	-
<i>P. jantnellum</i>	1	Penisilik asit	-
<i>P. lividum</i>	15	Patulin	-
<i>P. lividum</i>	15	Penisilik asit	-
<i>P. megasporum</i>	2	Patulin	2±
<i>P. megasporum</i>	2	Penisilik asit	2±
<i>P. miczynskii</i>	4	Patulin	-
<i>P. miczynskii</i>	4	Penisilik asit	-
<i>P. nalgioense</i>	14	Patulin	-
<i>P. nalgioense</i>	14	Penisilik asit	4+
<i>P. olsonii</i>	3	Patulin	-
<i>P. olsonii</i>	3	Penisilik asit	-
<i>P. paraherquei</i>	4	Patulin	-
<i>P. puberulum</i>	1	Patulin	-
<i>P. puberulum</i>	1	Penisilik asit	-
<i>P. roqueforti</i>	7	Mikofenolik asit	1+, 1±
<i>P. roqueforti</i>	7	Patulin	2±
<i>P. roqueforti</i>	7	Penisilik asit	1+
<i>P. roqueforti</i>	7	PR Toksin	-
<i>P. roqueforti</i>	7	Rokuefortin C	2+, 1±
<i>P. ver. var. corymbiferum</i>	100	Okratoksin	-
<i>P. ver. var. corymbiferum</i>	100	Penisilik asit	7+
<i>P. ver. var. corymbiferum</i>	100	Penitrem A	8+, 3±
<i>P. ver. var. corymbiferum</i>	100	Rokuefortin C	17+, 1±
<i>P. ver. var. corymbiferum</i>	100	Siklopiazonik asit	5+
<i>P. ver. var. corymbiferum</i>	100	Sitrinin	-
<i>P. ver. var. cyclopium</i>	136	Okratoksin	-
<i>P. ver. var. cyclopium</i>	136	Penisilik asit	3+, 2±
<i>P. ver. var. cyclopium</i>	136	Penitrem A	12+, 2±
<i>P. ver. var. cyclopium</i>	136	Rokuefortin C	32+, 5±
<i>P. ver. var. cyclopium</i>	136	Siklopiazonik asit	25+, 6±
<i>P. ver. var. cyclopium</i>	136	Sitrinin	-
<i>P. ver. var. melanochlorum</i>	63	Okratoksin	-
<i>P. ver. var. melanochlorum</i>	63	Penitrem A	17+, 5±
<i>P. ver. var. melanochlorum</i>	63	Rokuefortin C	37+, 2±
<i>P. ver. var. melanochlorum</i>	63	Siklopiazonik asit	5+, 2±
<i>P. ver. var. melanochlorum</i>	63	Sitrinin	1+
<i>P. ver. var. verrucosum</i>	40	Okratoksin	1+
<i>P. ver. var. verrucosum</i>	40	Penisilik asit	3+
<i>P. ver. var. verrucosum</i>	40	Rokuefortin C	1+
<i>P. ver. var. verrucosum</i>	40	Siklopiazonik asit	13+
<i>P. ver. var. verrucosum</i>	40	Sitrinin	-
<i>P. ver. var. verrucosum</i>	40	Penitrem A	1+
<i>Paecilomyces varioti</i>	4	Patulin	-
<i>Trichoderma harzianum</i>	5	T-2	-
<i>Trichoderma viride</i>	1	T-2	-

(*) Mikotoksin saptanması
(±) Şüpheli

Çizelge 3'de de gözlendiği gibi potansiyel küf kültürleri 31 mikotoksin açısından incelemeye alınmış, 40 farklı tür küf için 3456 mikotoksin tarama çalışması gerçekleştirilmiştir. Bulguların toplu olarak değerlendirilmesi Çizelge 4'de verilmiştir.

Çizelge 4. Mikotoksin Analiz Bulgularının Toplu Olarak Değerlendirilmesi

Mikotoksinler	Analize alınan küf sayısı	Pozitif mikotoksin sonuçları (%)	Mikotoksinler	Analize alınan küf sayısı	Pozitif mikotoksin sonuçları (%)
AAL toksin	20	0	Okratoksin	339	0.5
Aflatoksin(B ₁ ,B ₂ , G ₁ , G ₂)	8	(B ₁ ,B ₂)6.3	Patulin	166	21.7
Alternariol monometil eter	20	15	Penisilik asit	323	6.3
Altartoksin	20	15	Penitrem A	339	14.2
Deoksinivalenol	29	0	PR Toksin	273	0.4
Emodin	3	100	Rokuefortin C	690	24
Fumigillin	9	45	Siklapiazonik asit	384	15.5
Gliotoksin	31	0	Sitokalsin E	18	33.3
Griseofulvin	53	70	Sitrinin	403	71
HT2	31	6.5	Sterigmatosistin	55	40
Kojik asit	41	0	T-2	37	5.4
Malformin A	28	0	Tenuazonik asit	20	0
Mikofenolik asit	48	66.7	Zearelenon	29	0
Neosolaniol	30	3.3			
3- Nitropropionik asit	9	0	Toplam	3456	16.20*

(*) Toplam mikotoksin taraması baz alınarak hesaplanan değerdir.

Çizelge 4'ün incelenmesiyle de görülebileceği gibi, mevcut kültürlerin taranan 819'una ait verilerin değerlendirilmesi sonucunda; kültürlerin %16.20'sinde mikotoksin üretme özelliği gözlenmiş, %81.36'sında ise gerçekleştirilen deneme koşullarında mikotoksin üretme özelliği saptanmamıştır. İncelemeye alınan küf kültüründen %2.46'sında elde olunan sonuçlar, toksin potansiyeli açısından şüpheli olarak değerlendirilmiştir. Gıdalarda saptanan başlıca mikotoksinler olan aflatoksin, fumigillin, okratoksin, patulin ve trikotesen gibi mikotoksinlerin (MOSS, 1996), çeşitli tarımsal ürünlerimizden izole edilen küfler tarafından da üretilebildiği görülmektedir. Ancak gıdalar açısından önemli bir diğer mikotoksin olan zearelenon, mevcut *Fusarium* küflerinden izole edilememiştir. Çalışmada kültür ortamı olarak MA'da incelemeye alınan kültürlerde yine AAL toksin, deoksinivalenol, gliotoksin, kojik asit, malformin A ve tenuazonik asit gibi mikotoksinlerin, belirtilen koşullarda üretilmedikleri gözlenmiştir. Konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda, değişen belli ortam koşullarında küflerin büyük çoğunluğunun mikotoksin üretebilecekleri belirtilmektedir (FRISVAD, 1988). Farklı gelişme ortamları ve riskli gıda grupları ile yapılacak ileriki incelemelerde değişik sonuçlar alınması mümkündür. Bu bağlamda küfle kontamine olmuş gıdalar her zaman mikotoksin potansiyeli açısından dikkate alınmalıdır. Mikotoksin oluşumunda etkili başlıca faktörler; ortamın su aktivitesi, pH'sı, bileşimi ve sıcaklıktır. Genellikle mikotoksin oluşumu, küf gelişmesine göre daha sınırlı koşullarda gerçekleşmektedir. Örneğin *A. flavus* ve *A. parasiticus* küflerinin gelişimi için optimum koşulların 36°C'de 0,95_{a_w}, aflatoksin oluşumu için ise 33°C'de 0,99 _{a_w} olduğu belirtilmektedir (MOSS, 1996). Mikotoksinler taşıdıkları sağlık riskleri bakımından çok önemli olup, tüm ülkelerde gıda endüstrilerince baz alındığı bilinen yasal sınırlamalarla ve hassasiyetle izlenmektedir (ANONYMOUS 1997).

Bu nedenle riskli gıda grupları ve potansiyel küf florası dikkate alınarak yürütülecek çalışmalar büyük önem taşımaktadır. Nitekim bu çerçevede oluşturduğumuz küf koleksiyonu kapsamındaki çeşitli saf kültürler kullanılarak; mikotoksin oluşumunu önlemeye yönelik ileriki çalışmaların düzenlenmesi, yürütülmesi, geliştirilecek önlemlerin planlanması gibi araştırmalarda da yapılabilecektir. Yine toksik küflere ilişkin bir çok model çalışma için, standart kültür temini açısından önemli kolaylıklar sağlanabilecektir. Özet olarak yaptığımız çalışma, Türkiye'deki dominant küflerin mikotoksin profilini belirlemek yanında, ileriye yönelik pek çok araştırma

için baz teşkil edebilecektir. Araştırmamızın kapsamındaki diğer bir alt çalışmada, saptanan enzim üretme potansiyelleri ile de, küflerimizin endüstriyel öneme sahip olanları guruplanmış ve gelecekteki pek çok araştırma açısından veri tabanı oluşturacak niteliğe kavuşturulmuştur (TOPAL ve ark., 1998). Ayrıca bu birikim, küflerin endüstriyel üretim yeteneklerinin geliştirilmesine yönelik çeşitli mutasyon çalışmalarına da hizmet verebilecektir.

Teşekkür

Çalışmamızın ilerleyen dönemlerinde bilimsel katkılarını ve desteğini esirgemeyen Dr. Ulf Thrane'e (Danimarka), mikotoksin taramalarını özveri ile gerçekleştiren teknisyenimiz Basri Çırak'a, analizlerindeki katkılarından dolayı Enstitümüz Teknisyenlerinden İbrahim Kelebek, Nabi Uygun, Zeliha Karabulut, Melahat Pak, Ender Gözüm ve Arzu Tanlası'ya, toksin standartlarının temininde ve ilgili iletişimlerde yoğun desteğini gördüğümüz Deryalar Ltd. Şti.den Sn. Arif Akşahin'e teşekkürünü bir borç biliriz.

KAYNAKLAR

- ALPERDEN, İ. 1977. "Gıdalardan Küflerin Ayrımı Üzerine Genel Bilgi ve Bir Kısım Mikotoksinlerin Kimyasal Tayin Metotları". TÜBİTAK Marmara Bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü, Yayın No:24 Gebze/Kocaeli.
- ANONYMOUS, 1990a. FAO. Manuals of Food Quality Control, 10. Training in Mycotoxin Analysis. FAO Food and Nutrition Paper, 15/10. Food and Agriculture Organization of United Nation, Rome. 113 p.
- ANONYMOUS, 1990b. AOAC. Deoxynivalenol. "Official Methods of Anaysis of the Association of Official Analytical Chemists. 986. 17, pp: 1205-1207. Association of Official Analytical Chemists, Inc. Arlington.
- ANONYMOUS, 1997. FAO. Worldwide regulations for mycotoxins 1995: A compendium. FAO Food and Nutrition Paper: 64. Rome, 43p.
- ARAN, N., EKE, D. 1987 a. Mould mycoflora of kashar cheese at the stage of consumption. Food Microbiology 4, 101-104.
- ARAN, N., EKE, D. 1987 b. Mould mycoflora of Turkish cereals and cereal products. MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology 3, 281-287.
- ARAN, N., ALPERDEN, İ., TOPAL, Ş. 1987. Domates salçası üretiminde küf kontaminasyon sorunu ve kritik kontrol noktalarındaki analizleri sistemi. Gıda Sanayii (2), 43, 47.
- ARAN, N., TOPAL, Ş., EKE, D. 1986. Kuru baklagillerde tüketim aşamasında küf kontaminasyon düzeyi ve mikoflora. Gıda 12 (1), 31-39.
- BULLERMAN, L. B. 1986. Mycotoxins and food safety. Food Technology (7), 59-85.
- BEUCHAT, L.R. 1981. "Food and Beverage Mycology". Avi Publishing Comp., Westport. 527p.
- EDELMAN, J., FEWELL, A., SOLOMONS, G.L., 1983. Mycoprotein-a new food. Nutrition Abstracts and Reviews/Reviews in Clinical Nutrition 53(6), 471-480.
- FRISVAD, J.C. 1988. Fungal species and their specific production of mycotoxins. pp: 239-249. "Introduction to Food-Borne Fungi" (Eds. R.A. Samson, van Reenen-Hoeksta) Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Baarn. The Netherlands.
- FRISVAD, J.C., FILTENBORG, O., THRANE, U. 1989. Analysis and screening for mycotoxins and other secondary metabolites in fungal cultures by Thin-Layer Chromatography and High-Performance Liquid Chromatography. Archives Environmental Contamination and Toxicology 13, 331-335.
- FRISVAD, J.C., FILTENBORG, O. 1990. Revision of subgenus *Furcatum* based on secondary metabolites and conventional characters. pp: 159-170. "Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Clasification", (Eds: P.A. Samson, & J.I. Pitt). NATO ASI Series A: Life Science, Vol./85. Plenum Press, New York.
- FRISVAD, J.C., THRANE, U. 1996. Karşılıklı görüşme. (at: 8th. international Congress for Culture Collections in Veldhoven, The Netherlands. 29, 8. 1996).
- GOTO, T. 1990. Mycotoxins: Current Situation. Food Reviews International 6(2), 265-290.
- HARRER, S. 1996. Sigma Chemical Company, Chemie Technical Service, (06.12.1996/16 tarihli faks metni, 16 s.), Deisenhofen, Germany.

- HEPERKAN, D., ARAN, N., AYFER, M. 1994. Mycoflora and aflatoxin contamination in shelled pistachio nuts. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 667, 273-278.
- LUND, F., FILTENBORG, O., FRISVAD, J.C. 1995. Associated mycoflora of cheese. *Food Microbiology* 12, 173-180.
- MAJAK, W., BOSE, R.J. 1974. Chromatographic methods for the isolation of miserotoxin and detection of aliphatic nitro compounds. *Phytochemistry* 13, 1005-1010.
- MOSS, M.O. 1996. Mycotoxins. *Mycological Research* 100 (5), 513-523.
- NIJS, M. DE, ROMBOTUS, F. And NOTERMANS, S. 1996. *Fusarium* moulds and their mycotoxins. *Journal of Food Safety* 16, 15-58.
- NORTHOLT, M.D. and SOENTORO, P.S. 1988. Fungal growth on foodstuffs related to mycotoxin contamination. pp: 231-238, "Introduction to Food-Borne Fungi" (Eds: R.A. Samson, E.S. van Reenen-Hoekstra). Centraalbureau Voor Schimmulcultures (CBS), Baarn, The Netherlands.
- PATERSON, R.R.M. and BRIDGE, P.D. 1994. Biochemical Techniques for Filamentous Fungi. IMI Technical Handbooks. No:1. International Mycological Institute (CAB International). Wallingford. UK. 125p.
- PEARCE, C. 1997. Biologically active fungal metabolites. pp: 1-80. *Advances in Applied Microbiology* (Eds: S.E. Neidleman, A.I. Laskin). Vol: 44. Academic Press Inc. New York.
- PITT, J.I., and HOCKINS, A.D. 1985. "Fungi and Food Spoilage". Academic Press, North Ryde, Australia, 412p.
- SAMSON, R.A. and van REENEN-HOEKSTRA, E.S. 1988. "Introduction to Food-Borne Fungi". Centraalbureau Voor Schimmelcultures (CBS), Baarn, The Netherlands. 299p.
- SAMSON, R.A., STALPERS, J.A., van der MEI, D., STOUTHAMER, A.H. 1996. Culture Collections to Improve The Quality of Life. "Proceedings of the 8th International Congress for culture Collections". Veldhoven, The Netherlands, 25-29 August, 1996. CBS & WFFC. Ponsen & Looyen, Wageningen The Netherlands. 497p.
- SCHLATTER, C. 1988. The importance of mycotoxins in foods. *Bibliotheca Nutrition Dieta* 41, 55-65.
- SCHMIDT, R., BIEGER, A., ZIEGENHAGEN E., DOSE, K. 1982. Quantitative bestimmung von trichothecenen HT-2 toxin in verschimmelten pflanzlichen Nahrungsmitteln. *Zeitschrift-fuer-Lebensmittel-Untersuchung-und-Forschung* 175(3), 169-171.
- SCHMIDT, R., ZIEGENHAGEN E., DOSE, K. 1981. Determination of T-2 toxin in vegetable foods. I. T-2 toxin in mouldy rice and maize. *Zeitschrift-fuer-Analytische-Chemie* 308(2), 133-136.
- SINGH, K., FRISVAD, J.C., THRANE, U., MATHUR, S.B. 1991. "An illustrated Manual on Identification of Some Seed-borne Aspergilli, Fusaria, Penicillia and Their Mycotoxins". Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries, Denmark. 133p.
- STOLK, A.C., SAMSON, R.A., FRISVAD, J.C., FILTENBORG, O. 1990. The Systematics of the Terveticillate Penicillia. pp: 121-137. "Modern Concepts in *Penicillum* and *Aspergillus* Clasification", (Eds: R.A. Samson, & J.I. Pitt). NATO ASI Series A: Life Science, Vol./85. Plenum Press, NewYork.
- THRANE, U. 1997. Subject: Mycotoxins. Wed. Feb. 5 12:42:17 1997, Date: Mon. 3 Feb. 1997 20:23:27 CET Referanslı e-Mail mesajı.
- TOPAL, Ş. 1984a. Geleceğimizin sigortası: Mikroorganizmalar. *Bilim ve Teknik* 17(205), 16-18.
- TOPAL, Ş. 1984b. Gıda maddelerinden ayrılan ve tanınan küfler üzerinde araştırmalar. *Gıda* 9 (5), 253-261.
- TOPAL, Ş. 1986a. Gıdalarda bulunan toksik küfler ve sağlık açısından değerlendirilmeleri. *Gıda*, 11, (6), 345-349.
- TOPAL, Ş. 1986 b. Hububat ve ürünlerinde küf florası ve getirdiği sorunlar. s.312-332. "Gıda Sanayinin Sorunları ve Serbest Bölgelerin Gıda Sanayiine Beklenen Etkileri" Sempozyumu Bildiri Kitabı. Ç.Ü. Matbaası, Adana.
- TOPAL, Ş. 1987 a. Bazı önemli mikotoksinler ve özellikleri. *Gıda* 12 (5), 283-291.
- TOPAL, Ş. 1987 b. Kaşar peyniri olgunlaşma evresinde gelişen yüzey küfleri ve mikotoksin riskleri. *Gıda* 12 (3), 199-207.
- TOPAL, Ş. 1988. Çeşitli gofret, şekerleme, bisküvi, kraker ve benzeri ürünlerde küf florası ve risk durumlarının incelenmesi. *Diyabet ve Endokrinoloji Yıllığı* 6 s.227-238. Emek Matbaası, İstanbul.
- TOPAL, Ş. 1989. Küf kolleksiyonlarını oluşturulması ve korunumu. *Gıda* 13 (6), 371-380.

- TOPAL, Ş. 1996. Establishment and Preservation of Mould Culture Collection of Turkey. pp:426-427 "Culture Collections to Improve the Quality of Life". (Eds: R.A., Samson, J. A. Stalpers, D. van der Mei, A.H. Stouthamer). "Proceedings of the Eight International Congress for Culture Collections". Veldhoven, The Nedherlands, 25-29 August 1996). CBS & WFCC.
- TOPAL, Ş. 1998. Türkiye'nin Dominant Mikoflorasıyla Kültür Koleksiyon Merkezinin Oluşturulması. Kükükem Dergisi (Basımda).
- TOPAL, Ş. ve ARAN, N. 1987. Bazı yağlı tohumlarda küf florası ve taşıdığı riskler. E.Ü. Mühendislik Fakültesi Dergisi, Seri:B, Gıda Mühendisliği 5(2), 47-61.
- TOPAL, Ş., PEMBEÇİ, C., BATUM, M., BORCAKLI, M., ÇELTİK, Ö., 1998. Türkiye'nin tarımsal mikoflorasının endüstriyel öneme sahip enzimatik aktivitelerinin incelenmesi. Turkish Journal of Biology (Basımda).
- WEI, D.L., CHANG, S.C., LIN, S.C., DOONG, M.L., JONG, S.C. 1994. Production of 3-Nitropropionic acid by *Arthrinium* species. current Microbiology 28, 1-5.

**GIDA DERGİSİ 1999 yılı dizgi ücreti abone olanlar için 8.000.000.-TL.
abone olmayanlar için 10.000.000.-TL. olarak yeniden
belirlenmiştir.**

**Ayrı basım; talep eden araştırmacılara 2.000.000.-TL.
ek ücret karşılığında verilecektir.**

**GIDA TEKNOLOJİSİ DERNEĞİ
YÖNETİM KURULU**