

## 17. Funguslar ve Mikotoksinler

Prof. Dr. A. Kadir HALKMAN  
Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi  
Gıda Mühendisliği Bölümü  
GDM310 Gıda Mikrobiyolojisi II Ders notu 17.

### 17.01. Giriş

Küf ve mantar deyimlerindeki kargaşalık, yabancı dillerde de vardır. Aynı canlı türüne klinik mikrobiyologlar mantar derken diğer gruplar küf adını vermektedir. Aslında, mayalar ve şapkallı mantarlarında içinde bulunduğu âlem, adını şapkallı mantarlardan alır. Kavram kargaşasından kurtulmak için makrofungus (şapkallı mantarlar), filamentli mikrofungus (küfler) ve flamentsiz mikrofungus (maya) olarak da tanımlanabilirler. Genel olarak insan ve hayvanlarda başta deri hastalıkları olmak üzere hastalık yapanlar "mantar" ama gıdalarla ilişkilendirilenler "küf" olarak kullanılmaktadır. "Küf mantarı" deyişi anlamsızdır.

Yaklaşık 100bin fungus türünün tanımlaması ve sınıflaması yapılmış olmakla beraber, yeryüzünde 1,5-5,0 milyon farklı küf türü olduğu ve bunların ancak %5 kadarının bilindiği tahmin edilmektedir. İnsanlar, hayvanlar ve bitkilerde ölüme kadar giden çok sayıda hastalığa neden olmalarına karşın, penisilin ve diğer antibiyotiklerin, çeşitli endüstriyel enzimlerin ve kimyasalların üretiminde, küflü peynir yapımında ve daha çok uygulamada küflerden yararlanılır.

Zygomycota, Ascomycota, Deuteromycota (fungi imperfecti), Oomycota, Basidiomycota olmak üzere 5 sınıf vardır. Bunlardan Basidiomycota, şapkallı mantarları içeren sınıftır. Sınıflandırmada zaman içinde değişiklikler görülmektedir.

Gıda mikrobiyolojisi açısından, gıdanın belirli bir sayıdan fazla küf içermesi kalite ve hijyen eksikliği olarak kabul edilir. Asıl önemli olan ise mikotoksinlerdir. Mikotoksin üreten en önemli türler; *Deuteromycota* sınıfındaki *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* ve *Fusarium* cinslerine giren türlerdir.

Tarımsal ürünler hasat öncesi, hasat ve hasat sonrası küflerle kontamine olurlar. Küflerle kontaminasyon iki açıdan önemlidir: Ekonomik açıdan kayıp ve mikotoksin oluşma tehlikesi. Yemlerin küflerle kontamine olması da aynı problemleri getirir.

Mikotoksin üreten küf sayısı bugün yaklaşık 350 ile sınırlıdır. Bugüne kadar 400 mikotoksin tanımlanmıştır ancak mikotoksin sayısı sürekli artmaktadır. Mikotoksin sayısında artışa mikotoksinler üzerinde yürütülen yoğun çalışmaların yanı sıra, yeni antibiyotik ve kemoterapik ajanların arandığı çeşitli laboratuvarlarda metabolitlerin mikotoksin olarak tanımlanmasının da katkısı olmuştur. Örneğin okratoksin A (OTA) bu şekilde bulunmuştur. Nefrotoksik etkiye sahip OTA'nın Balkan nefropatisiyle olan ilişkisi daha sonraki yıllarda anlaşılmıştır.

Fungusların antibiyotikler / mikotoksinler gibi çeşitli sekonder metabolitleri bulunmaktadır. Bazı mikotoksinler mikroorganizmaların gelişmelerini engeller (antibiyotik). Örneğin patulin, öncesinde antibiyotik olarak kabul edilmiştir ve üzerinde bu şekilde çalışılmıştır. Genelde mikroorganizmalara etkili olanlar antibiyotik, yüksek organizmalara toksik etki gösterenler mikotoksin olarak tanımlanır. Ancak çok geniş anlamda mikotoksinleri fungusların oluşturdukları antibiyotik grubunda düşünmek de olasıdır.

Mikotoksinlerin, küflerin sekonder metabolitleri oldukları bilinmekle beraber, neden bu sekonder metabolitlerin üretildiği henüz tam olarak anlaşılmış değildir. Bir diğer deyiş ile küflerin bu maddeleri üretmekle ne kazandığı henüz bilinmemektedir.

Mikroorganizma, bitki, insan ve hayvanlar tarafından oluşturulan ve çok geniş bir yelpazeye yayılan sekonder metabolitlerin, canlılar âleminin ekosisteminde önemli görevlerinin olduğu tahmin edilmektedir. Organizma üremesine etken fizyolojik öneme sahip sekonder metabolitler bulunduğu gösterilmiştir.

Mikroorganizmaların sekonder metabolitleri sentezlemedeki amacı konusunda çeşitli görüşler vardır. Bu metabolitler küflerin çoğalma evresinin sonuna doğru veya durma evresinin başında sentezlenmektedir. Metabolizmanın tamamen durmasındansa, düşük bir akışla süren sekonder metabolizmanın mikroorganizma için bir avantaj oluşturduğu, hücrede biriken bileşiklerin hücreden uzaklaştırılabilecek maddelere çevrimini olanaklı kıldığı ileri sürülmekte, antibiyotik ve mikotoksinlerin antagonizm için gerekli olduğu düşünülmektedir. Ancak ileri sürülen bu fikirler, suda çözünemez bir endotoksin olan sterigmatosistin salgılanmayarak miseller içerisinde birikmesine bir açıklama getirmemektedir. Buna karşıt görüşte ise sentezlenen sekonder metabolitler mikroorganizmalar tarafından direk kullanılmadığından "metabolizmanın yonga ve talaşları" (metabolizmanın gereksiz metabolitleri) olarak tanımlanmaktadır. Antagonistik ilişkilerin doğada pek saptanamaması, sentezlenen ürünlerin miktarca çok düşük olması, antibiyotiklerin genellikle üretici mikroorganizmayı da inhibe etmesi sekonder metabolizmanın amacını açıklayamamaktadır. Pek çok sekonder metabolit sentezini determine eden genin mikroorganizma için yük olduğu, evrim içinde bu genlerin çoktan delesyonla DNA'tan ayrılmaları gerekirken sürüklenip geldikleri düşünülmekte ve sonuç olarak evrim içerisinde doğanın tahmin edilenden daha konservatif davrandığı ileri sürülmektedir.

Mikotoksinleri, sentezlerini gerçekleştiren küf cins veya türlerine göre ayırt etmek, sınıflandırmak mümkün değildir. Örneğin "A" küfü "a" ve "b" mikotoksinlerini üretirken, "B" küfü "a", "b" ve "c" mikotoksinlerini üretebilir.

Mikotoksin sentezi için özel koşulların oluşması gerekir. Mikotoksinler genellikle yüksek sıcaklıklara dirençlidirler. Genellikle kendilerinin sentezledikleri toksinlerden olumsuz etkilenmezler. Mikotoksinler bakteri toksinlerinin aksine küçük moleküllü bileşiklerdir. Bazı mikotoksinler endotoksin olarak misel içinde birikirken, birçoğunun miselden substrata doğru salgılandığı ve difüze olduğu görülür. O nedenle küflü gıda ve yemlerden miseller uzaklaştırılsa bile ürünün mikotoksin tehlikesi ortadan kalkmaz.

## 17.02. Tarihçe

Küflerin insan ve hayvanlarda hastalık yaptıklarına, hatta sporadik veya toplu ölümlere yol açtıklarına ilişkin veriler çok eski tarihlere gider. M.Ö. 600 yılında çavdarmahmuzunu adı ile anılan *Claviseps purpurea* sklerotialarıyla (ergotoksin) bulaşmış tahılların zararlı etkilerinden Asur tabletlerinde söz edilmiştir.

M.Ö. 400 yılında da Sparta'ta ilk toplu zehirlenmeye ilişkin kayıtlar bulunmuştur. Orta çağda binlerce insan ergotizme yakalanmış, o tarihlerde Aziz Antonius humması adı verilen hastalık literatüre karıncalanma ve uyuşma semptomları gösteren sinir hastalığı olarak geçmiştir.

Atların küflü yemlerle beslenmeleri sonucundaki ölümlerine özellikle Doğu Avrupa'ta rastlanmıştır. Atların zehirlenerek ölümüne neden olan etkili mikotoksinler at başına alınan 1 mg doz akut etkiye ve hayvanın 6-72 saat içinde ölümüne neden olur. Küflü mısırlarla beslenen at ve sığırların ölümüne ilişkin raporlar da 1927 yıllarına kadar uzanır.

1942-1944 yılları arasında Rusya'nın Orenburg bölgesinde binlerce insanın ölümü ile sonuçlanan mikotoksikosis olayı "Alimentary Toxic Aleukia, ATA" (beslenmeye bağlı toksik etki ile kanda lökosit sayısının düşmesi sonucu oluşan lösemi) olarak tarihe geçmiştir. Bu büyük yıkıma, savaş nedeni ile tarlada kışlatılan tahılların yol açtığı anlaşılmıştır.

1960 yılında İngiltere'de 100bin hindi palazının, ABD'de 1milyon genç Forelle'nin (Alabalık) ani ölümü şaşkınlık yaratmış, hastalığa "Turkey X hastalığı" ismi verilerek nedenleri araştırılmıştır. Sonuçta hindi palazlarının yemlemesinde kullanılan Brezilya kökenli küflü yer fıstığı küspesinden *Aspergillus flavus* izole edilmiş ve onun metabolitinin ölüme neden olduğu gösterilmiştir. Bu metabolit daha sonra aflatoksin olarak adlandırılmıştır ⇒ **Aspergillus flavus**.

### 17.03. Gıdalarda Bulunan Mikotoksinler ve Üretici Fungusları

Mikotoksin sentezleme yeteneğinde olan fungus sayısı 350 civarındadır. Yine de bu sayı tüm funguslar içerisinde oldukça düşük bir sayıdır. Test edilen binlerce fungus türünden büyük çoğunluğu mikotoksin oluşturmamıştır.

*Aspergillus flavus* tarafından oluşturulan aflatoksin, yağlı tohumlar, incir, kırmızıbiber, süt ürünleri; *Penicillium expansum* tarafından oluşturulan patulin, elma suları ve *Aspergillus ochraceus* vd. küfler tarafından oluşturulan Okra Toksin A (OTA) tahıllar ile ilişkilendirilir.

Tarla küfleri hasattan önce olgun danelere bulaşan funguslardır. Sporlar rüzgâr ve su ile danelere taşınır Usulüne uygun bir depolamada, danelerdeki nem içeriği % 13.5-14'ü geçmeyecek şekilde kurutulup temizliği iyi yapılmış silolarda 10-15 °C'de tutulurlarsa kontamine olmuş danelerdeki tarla küflerinin gelişmeleri ve toksin oluşturmaları önlenir. Ayrıca oluşmuş mikotoksinlerden trikotesenler depo koşullarında metabolize olur ve tamamen parçalanırlar.

Depo küfleri siloların yetersiz temizliği nedeniyle silolarda sürekli bulunur ve gelen ürünü kontamine eder. Ancak depo küflerinin danelere bulaşması asıl hasat zamanında olur. Kontaminasyonda toprak, sap, yapraklar öncelikli role sahip değildir. Buna karşın biçme yöntemi önemlidir. Elle (orakla) biçmeye oranla biçerdöverlerle yapılan hasatta *Penicillium* türleri ile kontaminasyon 250 kat fazla olmaktadır. Biçerdöverlerin elevatörleri ve depo tanklarının içi depo küflerinin kontaminasyon kaynaklarıdır.

İklim (nem) ve ürün nemi türlere göre önemlidir. Buğday danesinde %14 nem kritiktir.

### 17.04. Mikotoksinlerin Canlılara Etkileri

Mikotoksinler içinde yüksek organizmalara en etkili olanlar; aflatoksinler, *Fusarium* türlerinin oluşturduğu trikotesenler, fumonisinler ve okratoksin A'dır. Canlılarda alınan mikotoksin dozuna bağlı olarak iki farklı etki görülebilir. Yüksek dozda alındıklarında akut toksik etki meydana gelir ve gıda veya yemin tüketilmesinin ardından kısa sürede ölüm görülebilir. Bazı mikotoksinler ölümden önce çok az belirgin semptomlar gösterirler. Bir kısmı ise deri nekrozları, lökopeni (kanda lökosit sayısının azalması) ve immunosupresif (bağışıklık sisteminin baskılanması) etkiler ile belirginleşirler ve ağır hastalıklara neden olurlar. Daha az dozların uzun süre alınmaları sonucunda kronik hastalıklar görülür. Bunlar; özellikle karaciğer, böbrek gibi organlarda hastalıklar, dejenerasyonlar, bağışıklık sisteminde bozukluklar, kusurlu ve eksik organ oluşumları, deri nekrozları, üremede azalma ve kilo kaybı gibi bozukluklardır. Akut toksik etkiye bireyin duyarlılığı, genetik ve fizyolojik özellikleri ve çevresel faktörler etkindir. Kansere, üzerinde en önemle durulan ayrı bir konudur.

Mikotoksinlerin insanlar üzerindeki etkilerini net olarak söyleyebilmek olanaklı değildir. Hayvan denemelerinde akut ve kronik etkileri saptanan mikotoksinlerin insanlar için de tehlikeli olacağından kuşku duyulmamalıdır. En azından bu mikotoksinlerin gıdalarda ve yemlerde bulunması tolere edilmemelidir.

### 17.05. Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Mikotoksin oluşumunu etkileyen birçok faktör bulunmakla beraber bunların başında çevresel faktörler gelir. Sıcaklıkla birlikte bağıl nem öncelikle fungus sporlarının çimlenmesini ve misellerin gelişmesini ardından da toksin oluşumunu etkileyen en önemli faktördür. Tarım ürününün veya gıdanın çeşidi, kimyasal kompozisyonu, ürünün yetiştirildiği klima zonu, ürünün olgunluk durumu, hasat, işlemler, depolama bulaşan küflerin spektrumuna etki eden diğer faktörlerdir. Her şeyden önce tarımsal ürünün veya gıdanın küf spektrumunda bulunan küflerin potansiyel mikotoksin üreticisi olup olmadıkları önem taşır. Kontamine küfler mikotoksin üreticisi olsalar bile toksinin sentezlenmesine; ürünün nem içeriği, sıcaklık, işleme ve depolamada havanın bağıl nemi etkendir. Ayrıca atmosferik oksijen, diğer modifiye atmosfer gazları, ışık, süre, pH gibi faktörlerin de etkisi vardır.

Tahıllar, baklagil daneleri, yer fıstığı, fındık, ceviz, badem, yağlı tohumlar, baharat ve bazı meyveler doğal korunma sistemlerine sahiptirler. Bitkisel ürünlerin çoğu hasat işlemi ve proseslerden önce küf kontaminasyonlarından korunur. Çünkü biyolojik olarak dışarıdan kabuk, çekirdek veya tohum kabuğu ile çevrelenmişlerdir. Ayrıca eterik yağlar, antibiyotik etkili maddeler, fitositler dış dokuda lokalize olmuşlardır. Büyümekte olan ve % 25 su içeren yer fıstıkları küflerle kontamine olmazken, olgunlaşmış fıstıklar çok daha az su içeriğine karşın yerde bırakıldıklarında süratle küflerin hücumuna uğrarlar. Gelişmekte olan bitkide büyük olasılıkla bir savunma mekanizması bulunmaktadır.

*Aspergillus flavus*'un et ürünlerinde çok az, buna karşılık su içeriği çok daha düşük olan tahıllarda sıklıkla ve daha fazla aflatoksin oluşturması veya tahıllar içinde mısırın OTA ile kontaminasyona en fazla eğilimli ürün olması hem gıdanın kompozisyonu hem de çevresel faktörlerle açıklanabilecek bir durumdur.

#### Bağıl Nemin veya Su Aktivitesinin ( $A_S$ ) Etkisi

Funguslar bakterilerle kıyaslandıklarında daha düşük bağıl nemde gelişebilirler. Optimum gelişmeleri için  $A_S$ : 0,97-0,99 değerlerini talep etmelerine karşın en düşük  $A_S$ : 0,80-0,85'de rahatlıkla çimlenebilir ve gelişebilirler. Kserofilik türler en düşük  $A_S$ : 0,61-0,62 değerlerinde bile varlıklarını sürdürürler.

*Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium*'un en düşük  $A_S$  değerleri karşılaştırıldığında *Penicillium* ve *Fusarium*'ların daha yüksek  $A_S$  değerleri istedikleri, mikotoksin üreticisi bazı önemli *Aspergillus* türlerinin minimum  $A_S$ : 0,80 değerlerinin altında,  $A_S$ : 0,70-0,71 değerlerinde bile gelişebildikleri görülür. O nedenle *Aspergillus*'lar kserofilik küflerden sayılırlar.

#### Sıcaklığın Etkisi

Funguslar genellikle geniş sıcaklık aralığında gelişirler. Mikotoksinlerin yüksek düzeyde sentezlenmeleri, küflerin optimum gelişme sıcaklıklarında veya biraz daha altında gerçekleşir. Aflatoksin üreten küfler en düşük 6-8 °C'de maksimum 50-60 °C'lerde üreyebildikleri halde toksin oluşumu için en düşük 10-13 °C ve en yüksek 42 °C sıcaklık isterler. Bunların optimum gelişmeleri 35-38 °C olduğu halde maksimum toksin konsantrasyonuna 25-30 °C'lerde ulaşılır. *Penicillium* ve *Fusarium*'ların düşük sıcaklıklarda

(<5 °C) gelişebilmelerine karşılık *Aspergillus* türleri bu sıcaklıklarda gelişemez ve toksin oluşturamaz.

İçlerinden sadece *Asp. ochraceus* diğer *Aspergillus* türlerine oranla daha düşük sıcaklık derecelerinde OTA sentezleyebilir. Burada optimumdan sapma oldukça mikotoksin üretiminde azalma olmasına rağmen, uzun süreli depolamalarda mikotoksin üretiminin artacağı göz ardı edilmemelidir. Depolama sıcaklığının daha düşük tutulması durumunda danelerin nem içeriği biraz daha yüksek olabilir.

#### Diğer Faktörlerin Etkisi

Mikotoksin oluşumuna pH'nın, atmosferdeki oksijenin, ışığın ve CO<sub>2</sub>'in etkileri laboratuvar denemeleri ile belirlenmeye çalışılmıştır. Bu araştırmalar aflatoksin ve patulin üzerine yoğunlaşmıştır.

Fungusların gelişebilmek için daha fazla asit ortamları tercih ettikleri, bununla beraber pH 1,5-8,5 arasında gelişebildikleri bilinmektedir. Aflatoksin üreticileri pH 2,5-6,0 arasında toksin oluştururlar, ancak yüksek miktardaki üretimi pH 5,0'den başlayarak daha yüksek pH'larda gerçekleştirirler. Hypomycetes sınıfında bazı küflerin atmosfer oksijeni azaldığında üremelerinin yavaşladığı ancak durmadığı görülür. Enerjilerini oksidatif fosforilasyon ile sağlayan bu küfler, oksijen yokluğunda veya azalmasında alkol fermantasyonunu alternatif yol olarak kullanabildiklerinden gelişmelerini sürdürebilirler.

Aflatoksinin karanlıkta daha fazla sentezlendiği bulunmuştur.

Modifiye atmosferde kullanılan CO<sub>2</sub> belli bir oranda hem aflatoksin hem de patulin oluşumunu engellemektedir. Soğuk hava depolarında % 20-40 CO<sub>2</sub> içeren atmosfer, depolanan meyvelerde küf gelişimine ve patulin oluşumuna imkân vermez. *Asp. flavus* ile yürütülen bir çalışmada; % 99 bağıl nem, 30 °C sıcaklık ve % 20 CO<sub>2</sub> ortamında, küfün bol misel geliştirmesine karşılık, aflatoksin üretiminde önemli ölçüde azalma sağlanmıştır. CO<sub>2</sub> miktarı % 80'lere çıkarılsa bile misel oluşumunun engellenemediği ancak aflatoksin oluşumunun daha da azaldığı belirlenmiştir.

#### 17.06. Gıdaların Mikotoksinlerle Kontaminasyon Yolları

Gıdalara mikotoksin bulaşması çeşitli yollarla gerçekleşir. Gıdanın gözle fark edilir şekilde küflenmesi mikotoksinin direkt kontaminasyonuna neden olur. Bitkisel ürünlerden; tahıllarda, baklagil danelerinde (soya fasulyesi, fasulye vb), fındık, yer fıstığı, ceviz, Antep fıstığı, badem, ayçiçeği tohumu, pamuk tohumu gibi yağlı tohumlarda, meyvelerde ve baharatta mikotoksin kontaminasyonu direkt yolla ve önemli düzeyde meydana gelir. Gözle görülür şekilde tüm ürünün küflenmesi ürünün işlenmesini ve tüketimini olanaksız hale getireceğinden herhangi bir risk taşımaz. Ancak ürün partilerinin çok az bir kısmında başlayan küflenme özellikle depolamada mikotoksin riskini artırır. Bitkisel ürünlerde mikotoksin kontaminasyonu tarlada olgunlaşma evresinden başlayarak, hasatta, kurutma aşamasında ve ağırlıklı olarak da depolanma evresinde meydana gelir. Hasat sonu fizyolojisi çerçevesinde hasat edilen ürünün doğal savunma mekanizması giderek azalır ve yer fıstığı, fındık vb ürünlerde toksin kontaminasyonu hasat edilen ürünlerin kurutulma aşamalarında başlar. Kırılan, hasar gören fındık fıstık kabukları küf misellerinin iç daneye geçişine ve mikotoksin oluşmasına olanak sağlar. Ayrıca nem oranında dalgalanmalara neden olur. İstatistiksel bilgilerden parti içindeki yer fıstıklarında 1:700 ve Antep fıstıklarında 1:4500 oranı ile aflatoksinle kontamine dane bulunduğu hesaplanmaktadır.

Direkt kontaminasyon ekmekte, meyvelerde, doğal küflerle olgunlaştırılan et ürünlerinde, süt mamullerinden özellikle peynirlerde görülür. Ancak mikotoksin içerikleri yüksek düzeyde olan

küflenmiş ekmek, küflenmiş meyveler tüketilmeyecek görüntüde olduklarından direkt tüketim için risk oluşturmazlar. Dış ülkelerde geleneksel olarak üretilen çiğ sucuk benzeri ancak küfle olgunlaştırılan mamuller büyük risk taşırlar. Bunların üretiminde belli bir *Penicillium* türü starter olarak kullanılmakla beraber, startersiz olarak doğal küf popülasyonundan yararlanılarak üretilen fermente et ürünleri de bulunur.

Süt ürünlerinden değişik küflü peynirlerde çok sayıda mikotoksin gösterilmiştir. *Penicillium roqueforti* kullanılarak üretilen ve dünyada en yaygın küflü peynir olan Rokfor peynirinde *Penicillium roqueforti* mikotoksinin (PR toxin) farelerde kansere yol açtığı bildirilmiştir

Ayrıca sert peynirlerin kabuklarında ve dış tabakalarında, yumuşak ve yarı sert peynirlerin, eritme peynirlerinin yüzeylerinde, bugüne değin aflatoksin, sitrinin, siklopiazonikasit, mikofenolikasit, OTA, patulin, penisilikasit, penitrem A, sterigmatosistine rastlanmıştır. Bununla beraber mikotoksinlerin kontaminasyon sıklığı ve konsantrasyonları düşüktür. Toksinlerin peynir kitlesine kabuktan veya yüzeyden itibaren birkaç cm derinliğe kadar difüze olabildikleri, sitrinin ve OTA'nın ise 8 cm derinliğe kadar inebildiği gösterilmiştir. Türkiye'de kaşar peyniri depolama örneklerinden izole edilen dominant floranın ağırlıklı olarak toksik küflerden oluştuğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.

Gıdaların mikotoksinlerle indirekt kontaminasyonu, mikotoksinle kontamine olmuş hammaddelerin veya katkı maddelerinin gıda üretiminde kullanılmasıyla meydana gelir. Patulinle bulaşık meyvelerin meyve suyu ve konsantrelerine işlenmesi, aflatoksin içeren incirlerden kuru incir ve incir ezmelerinin üretilmesi, yine kontamine yer fıstıklarının fıstık ezmesi vb ürünlerde kullanılması indirekt yolla kontaminasyonlara örnek oluşturur.

Gıdaların mikotoksinlerle kontaminasyonlarında "carry over; taşınma" olarak adlandırılan üçüncü bir yol daha vardır. Çiftlik hayvanları mikotoksinlerle kontamine yemlerle beslendiklerinde toksinleri metabolize ederek, büyük kısmını idrar ve dışkı ile atarlar. Ancak metabolize formlara kanda, sütte, bazı organlarda hatta ender olarak yağlı kas dokularında rastlanır. Aflatoksin içeren yemlerin süt ineklerine yedirilmesi sonucu aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) ve aflatoksin B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>), aflatoksin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) ve aflatoksin M<sub>2</sub> (AFM<sub>2</sub>)'ye dönüşerek kalıntı halinde sütte ortaya çıkar. Besi sığırlarında AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub> kalıntıları en fazla karaciğer ve böbreklerde bulunmuştur. Kaslarda aflatoksin türevlerine hem daha ender hem de çok daha düşük miktarlarda rastlanır.

## 17.07. Aflatoksin

B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> olmak üzere 6 aflatoksin vardır. Aflatoksin B<sub>1</sub>, AFB<sub>1</sub> olarak da ifade edilir. Aynı adlandırma diğerleri için de geçerlidir. B "blue", G "green" ve M "milk" kelimelerinden türetilmiştir. B ve G, UV altında aflatoksinin mavi ya da yeşil floresan vermesi ile ilişkilidir. M grubu aflatoksinler ise süt kaynaklıdır.

### Aflatoksin Oluşturan Funguslar ve Toksin Oluşum Koşulları

Aflatoksin filamentli funguslardan *Aspergillus* cinsine ait üç tür ve iki alt tür tarafından oluşturulur.

Aflatoksin oluşturduğu saptanan ilk fungus *Asp. flavus*'dur. Bu üç türün bütün suşlarının toksini sentezlemeleri söz konusu değildir. Gıdalardan ve yemlerden izole edilen ve toksin üretimi açısından test edilen 3000 civarında *Asp. flavus* suşundan % 76'sının bu yeteneğe sahip olduğu gösterilmiştir.

*Aspergillus*'lar mezofilik karakterli olup 6-8 °C'den 50-60 °C'ye kadar gelişebilirler. Optimum gelişme sıcaklıkları 35-38 °C'dir. 10-13 °C altında ve 41-42 °C üzerinde aflatoxin oluşumu sınırlanır. En yüksek toksin oluşumuna ise 25-30 °C'lerde ulaşır. Yapılan denemelerle; belli bir sıcaklıkta ve sürede oluşan aflatoxin düzeyinin, dalgalı sıcaklıklarda ve aynı sürede oluşan aflatoxin düzeyinden çok daha az olduğu (1/4) gösterilmiştir. Buradan sıcaklıkların iklime bağlı olarak iniş ve çıkışlarının aflatoxin sentezini desteklediği sonucu çıkar.

*Asp. flavus* ve *Asp. parasiticus* diğer bazı *Aspergillus* türleri ile birlikte kserofilik küfler içinde yer alır. *Penicillium*'lar da birçok fungus cinsine oranla daha düşük minimum  $A_S$  değerlerinde gelişebildiklerinden kserotolerant funguslara dahildir. *Aspergillus*'ların optimum gelişmeleri için gereken  $A_S$ : 0,97-0,99 olmakla birlikte gelişimlerini  $A_S$ : 0,80 değerinin altında da sürdürebilirler.

*Asp. parasiticus* gelişimi için en düşük  $A_S$ : 0,78-0,84 değerlerini talep ederken *Asp. flavus* en düşük  $A_S$ : 0,78-0,82 değerini ister. Toksin oluşumu için her ikisi de biraz daha yüksek minimum  $A_S$  değerlerine gereksinirler (*Asp. parasiticus* en düşük  $A_S$ : 0,87, *Asp. flavus* en düşük  $A_S$ : 0,83-0,87). Aflatoxin oluşumu için fungus türüne göre farklılık gösteren minimum  $A_S$  değeri, substrata göre daha da farklılaşır. Toksinin sentezlenebilmesi için en düşük  $A_S$  değerleri pirinçte 0,70-0,75, mısırda 0,80, yer fıstığında 0,85, salamda 0,94 olarak belirlenmiştir.

Aflatoxin oluşturan küflerin en yüksek düzeyde aflatoxin oluşturmaları pH 5,0-6,0'ta gerçekleşir. pH 4,0'ün altındaki ortamlarda gelişip toksin oluşturabilirlerse de hem misel gelişimi epey yavaşlar hem de toksin miktarı iyice azalır. Toksin sentezlenmesine en uygun substratlar glikoz, galaktoz ve sakkarozdur. Maltoz ve laktoz ikinci derecede elverişli, sorbitol ve mannitol ise elverişsiz substratlardır. Düşük tuz konsantrasyonlarının (% 1-3 NaCl) gelişimi ve toksin oluşumunu olumlu etkilediği, % 8 NaCl düzeyinin gelişmeye ve toksin oluşumuna fazlaca imkan vermediği % 14 NaCl konsantrasyonunda ise küf gelişiminin tamamen durduğu görülür. Aflatoxin oluşumu atmosferdeki  $O_2$  konsantrasyonunun düşüşü veya  $CO_2$  ve  $N_2$  gazları konsantrasyonlarının modifiye atmosfer içinde artışı ile önemli düzeyde geriler.

#### Aflatoxinlerin Etkisi

Vücuda alınan aflatoxinin (özelikle AFB<sub>1</sub>) neden olduğu akut, subakut ve kronik olarak seyreden mikotoksikosis aflatoksikosis denir. Hayvanlar üzerinde yapılan çok sayıda araştırma toksinin kanserojen olduğunu da göstermiştir. At, sığır, domuz, koyun, keçi, köpek, maymun, rat, fare, hindi, tavuk, ördek, Gökkuşluğu alabalığı gibi hayvanlar aflatoksine duyarlıdır. İçlerinde en duyarlı hayvan ördek yavruları olduğundan aflatoxin ve türevlerinin toksisitelerinin belirlenmesinde genellikle bu hayvanlardan yararlanır.

Tarımsal ürünlerde, gıdalarda ve yemlerde en sıklıkla görülen aflatoxinlerin toksisite sıralaması; AFB<sub>1</sub> > AFM<sub>1</sub> = AFG<sub>1</sub> > AFB<sub>2</sub> > AFG<sub>2</sub> > AFM<sub>2</sub> şeklindedir. Başka hayvanlar üzerinde belirlenen LD<sub>50</sub> dozlarından bu sıranın fazlaca değişmediği, bazı hallerde toksik sıralamada AFM<sub>1</sub>'in AFG<sub>1</sub>'in, AFM<sub>2</sub>'nin de AFG<sub>2</sub>'nin önüne geçtiği veya eşitliği koruduğu görülür.

Hayvanlarda akut seyreden aflatoksikosis vücutun direk etkilenen bölgesi karaciğerdir.

Karaciğer kanserlerinin yüksek oranda görüldüğü ülkeler veya bölgeler ile o ülke veya bölge insanların tükettikleri besin maddeleri ilişkilendirilmeye çalışılmıştır. Afrika'ta Büyük Sahra'nın güneyinde kalan bölgeler ile Güneydoğu Asya'ta hepatoselüler karsinomaların çok fazla olduğu, Mozambik'te karaciğer kanser olaylarının ABD'ye oranla 500 kez yüksek

seyrettiği belirtilmiştir. Özellikle tropik zonda bulunan ülke ve topluluk halkları iklime ve beslenme biçimlerine bağlı olarak daha fazla aflatoksin içerikli gıdalar tüketirler.

Epidemiyolojik çalışmalar da aflatoksin içeren gıdalarla beslenen bölge insanların da primer karaciğer kanserlerine ve karaciğer sirozlarına daha yüksek oranda rastlandığını gösterir. Danimarka'ta primer karaciğer kanseri % 0,18, ABD beyaz Amerikalılarda % 1,7 iken sürekli yer fıstığı ile beslenen Bantus (Sudan) toplumunda bu oran % 14'dür. Sürekli yer fıstığı tüketiminin karaciğerde yağlanmaya neden olacağı ve bunun da kansere yakalanma riskini artıracığı belirtilmektedir Ayrıca beslenmede protein eksikliğine bağlı olarak Afrika, Güney Amerika, Hint Adaları'nda çocuklarda görülen "Reye Sendromu" ve "Kwashiorkor" çocuk hastalıklarının ortaya çıkmasında aflatoksin içerikli besinlerin rol oynadığı da ileri sürülmektedir. İnsanlarda aflatoksinin akut etkisine örnek oluşturabilecek olaylar da yaşanmıştır.

Hindistan'ın 200 köyünde görülen ve 397 hastadan 106'sının ölümü ile sonuçlanan olaylarda, tüketilen gıdalarda *Asp. flavus*'un gelişmiş olduğu ve yüksek miktarda aflatoksin ürettiği belirlenmiştir.

AFB<sub>1</sub>'in kanserojen etkisinin yanı sıra mutajen, teratojen ve immunosupresif etkilere sahip olduğu hayvan denemeleriyle gösterilmiştir. Immunosupresif etkisi nedeniyle aflatoksin hayvanlarda çeşitli aşılar karşı iyi bir bağışıklık oluşmasını engellemekte, çeşitli enfeksiyonlara (salmonellosis, koksidimikosis) karşı da direnci azaltmaktadır.

#### Aflatoksinle Kontamine Gıdalar

Aflatoksin en fazla bitkisel ürünlerde görülür. Yer fıstığı, fındık, Antep fıstığı, badem, çam fıstığı ve mamulleri en riskli gıdalardır. Tahıllar aflatoksinle bulaşık olabilir ve bunların değirmencilik ve fırıncılık ürünleri de risk taşır. Baklagiller içerisinde soya fasulyesi öne çıkar. Yağlı tohumlardan; pamuk, ayçiçeği, susam ve kolza tohumlarında sıklıkla rastlanır. Bu tohumlarda ve yağ içeriği fazla olan diğer ürünlerde daha fazla görülmesi, küflerin gelişimi için gerekli olan bağlı olmayan suyun oranının yüksek olmasıyla açıklanır. Kırmızı toz biber, pul biber ve kuru meyvelerden incir aflatoksin açısından önde gelen riskli ürünlerdir.

Genel olarak süt, süt tozu ve peynirlerin dışındaki hayvansal gıdalarda aflatoksin hem daha ender bulunur hem de konsantrasyonu daha düşüktür.

Türkiye'nin fındık konusunda geçmiş yıllara ait kötü deneyimleri vardır. 1967 yılında Kanada'ya ihraç edilen Türk fındıkları aflatoksin gerekçesiyle iade edilmiştir. Ancak daha sonraki yıllarda aflatoksin analizlerinin daha iyi yapılması sonucunda ihraç ürünlerinde bu sorun kalkmış ya da önemli ölçüde azalmıştır.

Büyük ölçüde margarin üretiminde kullanılan yer fıstığı yağlarında aflatoksin riski bulunmaz. Bu yağlar toksin içeriği yüksek fıstıklardan üretilseler bile, proses sırasında alkali ekstraksiyon uygulaması ile sorun tamamen ortadan kalkar.

Dünyada ihraç Antep fıstıklarında % 80'lere varan kontaminasyon oranları % 13 düzeylerine gerilemiştir. İhracat yapan ülkeler daha özenli bir hasat ve depolamanın yanı sıra otomatik aletlerle floresan veren danelerin ayırımına yönelmiş bu yolla aflatoksin içeriği % 50 düşürülebilmektedir. Bunun üzerine 22 kg olarak alınan örneğin bile partiyi temsil edemiyebileceği tartışmaları başlamıştır.

Cevizlerde aflatoksin içeren danelerin 1/28.250 oranı ile bulunduğu hesap edilmektedir. Bu oranın yer fıstıklarında 1/700, Antep fıstıklarında 1/4500 olarak hesaplandığı düşünülürse cevizlerin aflatoksinle kontaminasyon olasılığı daha azdır.



Kuru meyvelerde mikotoksin kontaminasyonuna ender olarak rastlanır. Kuru meyvelerin dayanıklılığı ürünlerde  $A_S = 0,75$  olduğunda en az 6 ay,  $A_S = 0,70$  veya altında olduğunda en az 1 yıl dayanma süresi hesap edilir. Tüm meyveler içinde incirin aflatoksin oluşumuna en uygun substrat olduğu görülür. İncirde aflatoksin *Aspergillus flavus*'la birlikte öncelikli olarak *Asp. parasiticus* tarafından oluşturulur.

İncirin küf konidileri ile kontaminasyonu ağaç üzerindeyken başlar. Meyveler tozlaşma sırasında incir ilek sinekleri (incir yaban arısı) aracılığıyla enfekte olurlar ve meyveler olgunlaşırken aflatoksin kontaminasyonu da başlar. Eğer hasattan sonra kontaminasyonun daha ileri boyutlara ulaşması engellenmek isteniyorsa meyveler 48 saat süre ile en az 60 °C'de kurutulmalıdır.

UV lambası altında parlak sarı-yeşil renkte floresan veren kuru incirlerin seleksiyonu oldukça olumlu sonuçlar verir. Bu parlak sarı-yeşil renkli floresana aflatoksinin dışındaki bir metabolit (kojikasit) neden olur.

Süt ineklerinde  $AFB_1$  % 0,3 oranında süte geçerek  $AFM_1$  şeklinde ortaya çıkar, ancak en yüksek düzeyde karaciğer ve böbreklerde birikir. Hayvanların kaslarında aflatoksin ya hiç bulunmaz veya çok düşük düzeyde ender olarak görülebilir. Hayvansal gıdalara yemlerden geçen  $AFB_1$ 'in risk yaratmaması için hayvanların aflatoksin açısından öngörülen sınır değerleri aşmayan yemlerle beslenmeleri gerekir. Yer fıstığı, fındık, süt ve diğer gıdalarla alınan aflatoksin yanında ciğer, et ve yumurta tüketimi ile alınan aflatoksin önemsiz düzeydedir.

Kırmızıbiberde kurutma fabrikalarının devreye girmesi ile sorun çok önemli ölçüde çözülmüştür. Elma suyu ve konsantresinde ise küflü elmaların elle ayıklaması etkili bir yöntemdir.

#### Aflatoksin Detoksifikasyonu

Aflatoksinlerin detoksifikasyonunda çeşitli yöntemler kullanılmaktadır.

Aflatoksinler ısıya çok dirençlidirler ve 237-306 °C arasında parçalanırlar. 150 °C üzerinde belirli bir parçalanma sağlandığı bildirilmektedir. Nemin yüksek olması ısı inaktivasyonu kolaylaştırmaktadır. Yapılan bir çalışmada %30 nem içeren küspenin 100 °C'de 2,5 saat tutulması, mevcut toksinin yaklaşık %85'inin azalmasıyla sonuçlanmıştır.

Gama ışınlanması ile aflatoksinlerin yok edilmesi üzerinde pek çok çalışma vardır. Işınlama ile aflatoksin parçalanabilmektedir ancak neye parçalandığı ve parçalanma ürünlerinin toksisitesi üzerinde bilgi yetersizdir.

Sıvı gıdalarda bentonite adsorpsiyon etkili ancak ekonomik değildir.

Ozonlama, aflatoksinler üzerinde etkilidir ancak farklı aflatoksinler farklı şekilde etkilenir. Aflatoksinli pamuk tohumu ve yerfıstığı ununun %30 nemde ve 100°C'de 2 saat süreyle ozonlanmasıyla  $AFB_1$  tamamen parçalandığı ancak  $AFB_2$ 'nin aynen kaldığı bildirilmiştir. Ozonlanmış yerfıstığı unu, yavru ördeklerin yemlerine %60 oranında karıştırılmış ve bu ördeklerin vücut ağırlıklarının aflatoksinli yem yiyen ördeklere göre daha düşük bulunduğu belirtilmiştir. Aflatoksinli mısırla karşılaştırıldığında, ozonla muamele edilen unlarda protein etkinlik oranının azaldığı bulunmuştur. Bu sonuca, ya temel besin öğelerinin yıkımının ya da yeni toksinlerin oluşumunun neden olduğu düşünülmektedir. Elma suyu konsantresinde patuline karşı ozonlama denemesinde kısa bir süre içinde renk tümüyle açıldığı için bu uygulamanın ne denli etkili olduğunun araştırılmasına gerek duyulmamıştır.

*Nocardia corynebacterioides* (eski adı *Flavobacterium aurantiacum*), aflatoksini hücre içine alarak metabolize ederek tüketir. Sadece laboratuvar çalışmalarında denenmiştir, endüstriyel bir uygulaması yoktur. Benzer şekilde asit, baz ve amonyak uygulamaları da laboratuvar koşullarında başarılı bulunmuştur ancak bu gibi uygulamalar da endüstriyel ölçekte denenmemiştir.

Aflatoxin içeren gıdaların mekanik olarak ayrılması en yaygın uygulamadır.

## Gıdalarda ve Yemlerde Sınır Değerler

Sınır değerleri ülkelere göre farklıdır ve daha çok ticari etki hâkimdir. Türkiye'de Bebek gıdaları, hazır karışımlar için 0,01 ppb= 10 ppt düzeyindedir.

## Yararlanılan ve Okunması Önerilen Kaynaklar

Anon 2000. Mikotoksinler ve Toksin Bağlayıcılar. Kanatlı Ar-Ge Yayınları no 1. Bey Ofset, Ankara, 107 s.

Bullerman LB. 1997. Fusaria and Toxigenic Molds other than Aspergilli and Penicillia. Food Microbiology; Fundamentals and Frontiers. Eds. MP Doyle, LR Beuchat, TJ Montville. American Society for Microbiology, Washington, USA, 768 pp.

Cary JF, Bhatnagar D, Linz JE. 2000. Aflatoxins: Biological Significance and Regulation of Biosynthesis. In, Microbial Foodborne Diseases; Mechanism of Pathogenesis and Toxin Synthesis. Eds. JW Cary, J: Linz, D. Bhatnagar. Technomic Publishing Co Inc, Pennsylvania, USA, 550 pp.

Erol İ. 2007. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. Pozitif Matbaacılık Ltd. Şti, Ankara, 392 s

Hocking AD. 1997. Toxigenic Aspergillus Species. Food Microbiology; Fundamentals and Frontiers. Eds. MP Doyle, LR Beuchat, TJ Montville. American Society for Microbiology, Washington, USA, 768 pp.

Karagözlü N. 2010. Gıda Kaynaklı Toksikoenfeksiyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi Ed O. Erkmen. Eflatun Basım Dağıtım Yayıncılık Ltd., Ankara, 552 s.

Moss M. 2002. Toxigenic Fungi. Foodborne Pathogens; Hazard, Risk Analysis and Control. Eds CW Blacburn, PJ McClure. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, England, 521 s.

Özkaya Ş. 2001. Ülkemizde Aflatoxin Sorunu Yaşanan Bazı Gıdalarda AFB1'in Azaltılması veya Giderilmesinde *Flavobacterium aurantiacum*'un Etkinliğinin Araştırılması. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi.

Pitt JH. 1997. Toxigenic Penicillium Species. Food Microbiology; Fundamentals and Frontiers. Eds. MP Doyle, LR Beuchat, TJ Montville. American Society for Microbiology, Washington, USA, 768 pp.

Proctor RH. 2000. Fusarium Toxins: Trichothecenes and Fumonisin. In, Microbial Foodborne Diseases; Mechanism of Pathogenesis and Toxin Synthesis. Eds. JW Cary, J: Linz, D. Bhatnagar. Technomic Publishing Co Inc, Pennsylvania, USA, 550 pp.

Şahin İ, Korukluoğlu M. 2000. Küf-Gıda-İnsan. Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayın no 155. 122 s.

Tournas V, Stack ME, Mislivec PB, Koch HA, Bandler R. 2001. Yeasts, Molds, and Mycotoxins. in; Bacteriological Analytical Manual; BAM.

<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>

Tunail N. 2000. Mikrobiyel Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ank. Üniv. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Genişletilmiş 2. Baskı. Sim Matbaası, Ankara, 522 s.

Zorlugenç B. 2009. Çeşitli Gıda Maddelerinden *Flavobacterium aurantiacum* ile Aflatoksin B1 Miktarının Azaltılması Üzerine Bir Araştırma. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi.