

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ASPERGILLUS SECTION NIGRI* ÜYELERİNİN FUMONİSİN OLUŞTURMA
POTANSİYELLERİ ve POZİTİF SUŞLARIN OKRATOKSİN A ÜRETİM
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Anabilim Dalı : Gıda Mühendisliği

Programı : Gıda Mühendisliği

OCAK 2011

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ASPERGILLUS SECTION NIGRI ÜYELERİNİN FUMONİSİN OLUŞTURMA
POTANSİYELLERİ VE POZİTİF SUŞLARIN OKRATOKSİN A ÜRETİM
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ceren DAŞKAYA
(506081502)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 20 Aralık 2010
Tezin Savunulduğu Tarih : 14 Ocak 2011**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Dilek HEPERKAN (İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Gülden OMURTAG (MÜ)
Yrd. Doç. Dr. Filiz ALTAY (İTÜ)**

OCAK 2011

ÖNSÖZ

Mikotoksin kontaminasyonu, yol açtığı sağlık ve ekonomik sorunlar açısından değerlendirildiğinde giderek önem kazanan bir konu haline gelmiştir. *Aspergillus* section *Nigri*, kuru meyvelerden sıklıkla izole edilmekte ve başta okratoksin A olmak üzere pek çok toksik metabolitin üretimine neden olmaktadır. Yapılan son çalışmalar, *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin fumonisin oluşturma potansiyeline de sahip olduğunu göstermiştir. *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin yaygın bir gıda kontaminantı olmaları ve *Aspergillus niger* suşlarının biyoteknoloji endüstrisindeki kullanımı göz önüne alındığında *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin fumonisin oluşturma potansiyeli önem kazanmaktadır.

Tez çalışmam süresince fikir ve görüşleri ile bilimsel yaklaşım edinmemi sağlayan, desteğini sürekli yanımda hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Dilek HEPERKAN'a sonsuz teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarına büyük destek sağlayan Yrd. Doç. Dr. Funda KARBANCIOĞLU-GÜLER, İmge OKTAY ve Levent DİNÇER'e gösterdikleri sabır ve emeklerinden ötürü teşekkür ederim. Çalışmam sırasında anlayışları ve destekleri ile sürekli yanımda olarak bana güç veren anne ve babam başta olmak üzere tüm aileme, Eren DAŞKAYA, Saime YEĞİN ve Ozan DİKMEN'e ve sevgili arkadaşlarım Öznur HIZARCI, Aysu DALGIÇ ESEN ve Sibel ERTUĞRUL'a teşekkür ederim.

Aralık 2010

Ceren Daşkaya
(Gıda Mühendisi)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xiii
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1 <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> Üyesi Küflerin Sınıflandırılması	3
2.2 <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> Üyesi Mikotoksijenik Türler ve Mikotoksin Üretimi	4
2.2.1 <i>Aspergillus carbonarius</i>	7
2.2.2 <i>Aspergillus niger</i>	11
2.3 Mikotoksijenik <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> Üyelerinin Kuru İncirde Önemi ..	14
2.4 Fumonisin	17
2.4.1 Fumonisin'in sağlık üzerine etkileri	19
2.4.2 Gıdalarda fumonisin varlığı	20
2.4.3 Fumonisinle ilgili yasal düzenlemeler.....	22
3. MATERYAL ve METOT.....	23
3.1 <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> İzolatları	23
3.2 Kuru İncir Örneklerinden İzole Edilen Küf İzolatlarının Geliştirilmesi ve Ekstraksiyonu	24
3.3 Kuru İncir Örneklerinden İzole Edilen Küflerin Mikotoksin Üretme Kapasitelerinin Belirlenmesi	25
3.4 Fumonisin Üreticisi İzolatların Kuru İncir Ortamına İnokülasyonu ve Ekstraksiyonu	25
3.4.1 Örneklerin hazırlanması	25
3.4.2 İmmunoaffinite kolonla saflaştırma ile OTA ekstraksiyonu.....	26
3.4.3 İmmunoaffinite kolonla saflaştırma ile fumonisin ekstraksiyonu.....	26
3.5 Küf İzolatlarının Fumonisin Tayini.....	27
3.5.1 Fumonisin B ₁ , B ₂ ve B ₃ standartlarının hazırlanması	27
3.5.2 Fumonisin B ₁ , B ₂ ve B ₃ analizi HPLC koşulları	28
3.6 Küf İzolatlarının Okratoksin A Tayini	29
3.6.1 Okratoksin A analizi HPLC koşulları	30
3.6.2 Okratoksin A varlığının doğrulanması.....	30
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	31
4.1 Kuru İncirden İzole Edilen <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> Üyelerinin Fumonisin Üretme Potansiyelleri	31
4.2 Fumonisin B ₂ Üreticisi <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> Üyeleri	35

4.3 Fumonisin B ₂ Üreticisi <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> Üyelerinin Kuru İncir Ortamında Mikotoksin Üretme Potansiyelleri	36
4.4 Fumonisin B ₂ Üreticisi <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> Üyelerinin OTA Üretme Potansiyelleri	37
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR.....	41
EKLER.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	59

KISALTMALAR

a_w	: Su aktivitesi
BEN	: Balkan Endemik Nefropatisi
CYA	: Czapek Yeast Ekstrakt Agar
CY20S	: Czapek Yeast Agar % 20 Sucrose
EFSA	: Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı
FAO	: Gıda ve Tarım Organizasyonu
FB₁	: Fumonisin B ₁
FB₂	: Fumonisin B ₂
FB₃	: Fumonisin B ₃
FB₄	: Fumonisin B ₄
EC	: Avrupa Birliği Komisyonu
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
OPA	: Ortofital aldehit
OTA	: Okratoksin A
PBS	: Phosphate buffer saline
TDI	: Günlük Tolere Edilebilir Limit
TWI	: Haftalık Tolere Edilebilir Değer
YES	: Yeast Extract Sucrose

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Okratoksin A üreticisi <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> üyelerinin izole edildikleri substratlar ve OTA oluşturma potansiyelleri	5
Çizelge 2.2 : Fumonisin üreticisi <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> üyelerinin izole edildikleri substratlar ve fumonisin oluşturma potansiyelleri	7
Çizelge 2.3 : Çeşitli kuru incir örneklerinde tespit edilen OTA miktarları	17
Çizelge 2.4 : Gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum fumonisin limitleri....	22
Çizelge 3.1 : <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> üyesi küfler ve küflerin izole edildikleri incir örneklerinin temin edildiği bölgeler	24
Çizelge 3.2 : Fumonisin kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması.....	28
Çizelge 3.3 : Okratoksin A kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması	29
Çizelge 4.1 : <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> üyelerinin fumonisin oluşturma potansiyelleri	31
Çizelge 4.2 : <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> üyelerinin dağılımı ve fumonisin üretme potansiyeli	35
Çizelge 4.3 : <i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i> üyelerinin kuru incir ortamında mikotoksin oluşturma potansiyelleri	36

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	: Fumonisinin kimyasal yapısı ve hidroksil süstitüsyon pozisyonları ...	19
Şekil 3.1	: Fumonisin kalibrasyon grafiği.....	28
Şekil 3.2	: Okratoksin A kalibrasyon grafiği.....	29
Şekil 4.1	: Bölgelere göre fumonisin üreten <i>Aspergillus section Nigri</i> üyelerinin oranı (%).....	34
Şekil A.1	: Kültür ortamına inoküle edilen 1-03D6 nolu izolata ait kromatogram .	52
Şekil A.2	: Kültür ortamına inoküle edilen 4-03D5 nolu izolata ait kromatogram .	52
Şekil A.3	: Kültür ortamına inoküle edilen 6-03D7 nolu izolata ait kromatogram .	52
Şekil A.4	: Kültür ortamına inoküle edilen 9-03D4 nolu izolata ait kromatogram .	53
Şekil A.5	: Kültür ortamına inoküle edilen 17-03D6 nolu izolata ait kromatogram	53
Şekil A.6	: Kültür ortamına inoküle edilen 49-03D4 nolu izolata ait kromatogram	53
Şekil A.7	: Kültür ortamına inoküle edilen 53-03X6 nolu izolata ait kromatogram	54
Şekil A.8	: Kültür ortamına inoküle edilen 7-04D1 nolu izolata ait kromatogram .	54
Şekil A.9	: Kültür ortamına inoküle edilen 17-04D2 nolu izolata ait kromatogram	54
Şekil A.10	: Kültür ortamına inoküle edilen 21-04X2 nolu izolata ait kromatogram	55
Şekil A.11	: Kuru incir ortamına inoküle edilen 1-03D6 nolu izolata ait kromatogram	55
Şekil A.12	: Kuru incir ortamına inoküle edilen 4-03D5 nolu izolata ait kromatogram	55
Şekil A.13	: Kuru incir ortamına inoküle edilen 6-03D7 nolu izolata ait kromatogram	56
Şekil A.14	: Kuru incir ortamına inoküle edilen 9-03D4 nolu izolata ait kromatogram	56
Şekil A.15	: Kuru incir ortamına inoküle edilen 17-03D6 nolu izolata ait kromatogram	56
Şekil A.16	: Kuru incir ortamına inoküle edilen 49-03D4 nolu izolata ait kromatogram	57
Şekil A.17	: Kuru incir ortamına inoküle edilen 53-03X6 nolu izolata ait kromatogram	57
Şekil A.18	: Kuru incir ortamına inoküle edilen 7-04D1 nolu izolata ait kromatogram	57
Şekil A.19	: Kuru incir ortamına inoküle edilen 17-04D2 nolu izolata ait kromatogram	58
Şekil A.20	: Kuru incir ortamına inoküle edilen 21-04X2 nolu izolata ait kromatogram	58

***ASPERGILLUS* SECTION *NIGRI* ÜYELERİNİN FUMONİSİN OLUŞTURMA POTANSİYELLERİ ve POZİTİF SUŞLARIN OKRATOKSİN A ÜRETİM ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

ÖZET

Gıda maddelerinde mikotoksin kontaminasyonu, mikotoksinlerin sağlık açısından olumsuz etkileri düşünüldüğünde oldukça büyük bir öneme sahiptir. Mikotoksin kontaminasyonu, ürünün yetiştiği bölgenin koşullarına ve üretim koşullarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir.

Aspergillus section *Nigri* kuru meyvelerden sıklıkla izole edilmektedir. *Aspergillus* section *Nigri* üyeleri, gıdalarda başta okratoksin A olmak üzere pek çok toksik metabolitin üretiminden sorumludur. Yapılan son çalışmalar, çeşitli gıda ürünlerinden izole edilen *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin fumonisin B₂ ve B₄ üretme potansiyelinde olduğunu göstermiştir. Kuru incirlerde *Aspergillus* section *Nigri* varlığına bağlı olarak okratoksin A kontaminasyonu saptanmıştır. Okratoksin A (OTA) ve fumonisin sağlık açısından birçok olumsuz etkiye sahiptir. Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi (IARC) tarafından okratoksin A ve fumonisin potansiyel kanserojen olarak değerlendirilmektedir.

Çalışma kapsamında kuru incirden izole edilen 133 adet *Aspergillus* section *Nigri* izolatının kültür ortamında fumonisin B₁, B₂ ve B₃ üretme potansiyelleri yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile araştırılmıştır. Fumonisin üretme potansiyeline sahip olduğu belirlenen izolatlar, kültür ortamında OTA üretimleri açısından incelenmiştir. Kültür ortamında fumonisin üreticisi izolatların, fumonisin ve OTA üretimleri kuru incir ortamında da incelenmiştir.

Bulgulara göre 10 adet *Aspergillus* section *Nigri* izolatının 4.75- 400.91 µg/g fumonisin B₂ üretme potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir. İncelenen izolatların hiçbiri fumonisin B₁ ve B₃ oluşturmamıştır. *Aspergillus niger* agg., *A. foetidus* ve *A. awamori* suşlarının sırasıyla % 6.35, % 8.88 ve % 25 sıklıkla fumonisin B₂ üretme potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile ilk kez *A. foetidus* ve *A. awamori*'nin fumonisin B₂ üretme potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir. Kültür ortamında fumonisin B₂ üretme potansiyeline sahip izolatların tümü, kuru incir ortamında da 25.70-48.61 µg/g aralığında fumonisin B₂ üretmiştir. İzolatların hiçbiri, kuru incir ortamında da fumonisin B₁ ve B₃ oluşturmamıştır. Fumonisin üreticisi izolatların OTA üretmediği görülmüştür.

DETERMINATION OF FUMONISIN PRODUCTION OF *ASPERGILLUS* SECTION *NIGRI* MEMBERS AND INVESTIGATION OF OCHRATOXIN A PRODUCTION PROPERTIES OF POSITIVE STRAINS

SUMMARY

Mycotoxin contamination of foods is an important issue in terms of negative health effects of mycotoxins. Mycotoxin contamination can vary depending on the conditions of growth region of food product and production technologies.

Aspergillus section *Nigri* is widely isolated from dried fruits. Members of *Aspergillus* section *Nigri* are responsible for production of several toxic metabolites; mainly ochratoxin A. Recent studies have shown that members of *Aspergillus* section *Nigri* obtained from several food products were capable of fumonisin B₂ and B₄ production. Ochratoxin A contamination by *Aspergillus* section *Nigri* has been determined in dried figs. Ochratoxin A and fumonisins have negative impact on human and animal health. They have been classified as potential carcinogen by International Agency for Research on Cancer (IARC).

In this research, fumonisin B₁, B₂ and B₃ production of 133 isolates of *Aspergillus* section *Nigri* obtained from dried fig samples have been investigated with high performance liquid chromatography (HPLC). Ochratoxin A occurrence by fumonisin-producing isolates has been investigated, as well. Moreover, the isolates, which produce fumonisin on laboratory media, were tested in order to determine their fumonisin and ochratoxin A production capability on dried fig media.

According to results, 10 isolates of *Aspergillus* section *Nigri* were capable of fumonisin production ranging from 4.75 to 400.91 µg/g. None of the isolates produced fumonisin B₁ and B₃. Incidence of fumonisin production by *Aspergillus niger* agg., *A. foetidus*, *A. awamori* were 6.35%, 8.88% and 25%, respectively. Potential production of fumonisin from *A. foetidus* and *A. awamori* was detected for the first time by this research. Fumonisin-producing isolates on laboratory media were further able to produce fumonisin B₂ on dried figs in the range of 25.70-48.61 µg/g. None of these isolates produced fumonisin B₁ and B₃ on dried fig media. Fumonisin-producing isolates did not produce ochratoxin A.

1. GİRİŞ

Mikotoksinler, küfler tarafından üretilen ve karsinogenik, mutajenik, teratojenik etkiye sahip bileşiklerdir. *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* üyesi küfler, gıda maddelerinde mikotoksin oluşumundan sorumlu başlıca türler olarak değerlendirilmektedir. Gıda maddelerinde mikotoksin kontaminasyonu; ürünün yetiştirildiği bölgenin koşullarına, hasat, depolama, nakliye gibi üretim koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Bhatnagar ve diğ., 2004). Gıda maddelerinde mikotoksin varlığı, gıdanın tüketimine bağlı olarak ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir.

Aspergillus section Nigri üyeleri, pH toleransı, hızlı gelişme gösterme, birçok substratta gelişebilme gibi özelliklere sahiptir. Bu nedenle kuru meyveler, bazı sebzeler, yemişler, tahıllar ve taze meyvelerin hasat sonrası bozulmalarından sorumlu olan önemli bir mikotoksijenik gıda ve yem kontaminantıdır (Pitt ve Hocking, 1997; Jackson ve Jablonski, 2004; Nielsen ve diğ., 2009). Diğer taraftan *Aspergillus section Nigri* grubu içerisinde yer alan *Aspergillus niger*, biyoteknolojide yaygın olarak kullanılmaktadır. *Aspergillus niger* suşları GRAS (güvenilir olarak kabul edilmiştir) statüsünde değerlendirilmektedir. Organik asit ve birçok hücre dışı enzim üretimi ile endüstriyel açıdan oldukça önemli bir yere sahiptir (Schuster ve diğ., 2002).

Aspergillus section Nigri üyeleri arasında, *A. carbonarius* ve *A. niger*, mikotoksin üreticisi başlıca türler olarak değerlendirilmektedir. *Aspergillus section Nigri* üyeleri tarafından üretilen en önemli mikotoksin, okratoksin A olarak değerlendirilmiştir. Ancak son çalışmalar, *Aspergillus section Nigri* üyelerinden *A. niger*'in fumonisin B₂ ve B₄ üretme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir (Frisvad ve diğ., 2007; Logrieco ve diğ., 2009; Mogensen ve diğ., 2009; Noonim ve diğ., 2009).

Kuru meyvelerde *Aspergillus section Nigri* kaynaklı kontaminasyonlara ve mikotoksin oluşumuna sıklıkla rastlanmaktadır (Pitt ve Hocking, 1997; Magnoli ve diğ., 2004; Romero ve diğ., 2005; Iamanaka ve diğ., 2006). Heperkan (2006), incirlerde *Aspergillus section Nigri* kontaminasyonunun kurutma aşamasında % 75, depolama aşamasında ise % 100 olduğunu belirtmiştir. Bu bağlamda kuru incirden izole edilen *Aspergillus section Nigri* üyelerinin fumonisin oluşturma

potansiyellerinin değerlendirilmesi, kuru incirlerde fumonisin riskinin belirlenmesi açısından önemlidir.

Fumonisin ilk kez *Fusarium verticilloides*'den izole edilmiştir. Fumonisin, sağlık açısından birçok olumsuz etkiye sahiptir. Atlarda kontamine yemin tüketilmesinden sonra birkaç gün içerisinde beyin lezyonlanlarına, domuzlarda ise akciğer demlerine neden olmaktadır (Desjardins, 2006). Brezilya, in ve İran'da, yüksek oranda yemek borusu kanseri vakası görülen bölgelerde bulunan mısırlarda da fumonisin kontaminasyonunun yüksek olduğu belirtilmiştir (Galvano ve diğ., 2005). Benzer şekilde, fumonisin kontamine mısırların tüketimi ile nöral tüp defekti oluşumu arasında olası bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC), fumonisini insanlar için potansiyel kanserojen olarak (class 2B carcinogen) değerlendirmektedir (Jackson ve Jablonski, 2004).

Çalışmada, kuru incirden izole edilmiş 133 adet *Aspergillus section Nigri* izolatının kültür ortamında fumonisin B₁, B₂ ve B₃ retme potansiyellerinin belirlenmesi ve fumonisin üreticisi izolatların okratoksin A (OTA) retiminin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, kültür ortamında fumonisin üretme potansiyeline sahip izolatların kuru incir ortamında da fumonisin ve okratoksin A retim potansiyelleri incelenmiştir. Böylece, laboratuvar ortamında fumonisin üretme potansiyeline sahip *Aspergillus section Nigri* izolatlarının, doğal kontaminasyon oluşturma potansiyellerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 *Aspergillus section Nigri* Üyesi Küflerin Sınıflandırılması

Aspergillus section Nigri üyesi küfler, sınıflandırma açısından karmaşık bir yapıya sahiptir. *Aspergillus section Nigri* taksonomisi, birçok taksonomist tarafından farklı yıllarda çalışılmıştır. Raper ve Fennel (1965), bu grubun 12 tür ve 2 varyeteden oluştuğunu ifade etmiştir. Japon endüstrisinde kullanılan suşlar üzerinde taksonomik çalışma yapan Murakami (1979), *Aspergillus section Nigri* üyelerini *Aspergillus niger* grubu ve siyah-koji küfleri olarak iki grupta sınıflandırmıştır. Al-Musallam (1980), *A. niger* grubunun taksonomisini, morfolojik özelliklerine göre yeniden düzenlenmiştir. Küf suşlarının identifikasyonunu sağlayan moleküler tekniklerin gelişmesi ile beraber *Aspergillus section Nigri* üyeleri yeniden sınıflandırılmıştır (Abarca ve diğ., 2004; Perrone ve diğ., 2007).

Samson ve diğ. (2004); birçok farklı gıda ürünü ve tropikal bölgede yaptıkları araştırmada izole edilen *Aspergillus section Nigri* üyelerinin, fenotipik ve genotipik özelliklerini baz alarak geçici sınıflandırma yapmışlardır. Bu sınıflandırmaya göre *Aspergillus section Nigri*, dört adedi yeni tanımlanmış olan (*Aspergillus costaricensis*, *A. lacticoffeatus*, *A. piperis* and *A. sclerotiumniger*) türlerle beraber onbeş türden oluşmaktadır. Bu türler; *A. aculeatus*, *A. brasiliensis*, *A. carbonarius*, *A. costaricensis*, *A. ellipticus*, *A. japonicus*, *A. foetidus*, *A. heteromorphus*, *A. homomorphus*, *A. acticoffeatus*, *A. niger*, *A. piperis*, *A. sclerotiumniger*, *A. tubingensis* ve *A. vadensis*' dir (Samson ve diğ., 2004). Son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucunda da *Aspergillus section Nigri* üyesi olarak değerlendirilen *Aspergillus brasiliensis* (Varga ve diğ., 2007) *A. ibericus* (Serra ve diğ., 2006), *A. sclerotiumcarbonarius* (Perrone ve diğ., 2007) ve *A. uvarum* (Perrone ve diğ., 2008) gibi birçok yeni tür tanımlanmıştır.

Aspergillus section Nigri üyeleri içerisinde *A. niger*, *A. tubingensis*, *A. brasiliensis*, *A. acidus*, *A. carbonarius* ve *A. ibericus* türlerine yaygın olarak rastlanırken, diğer

türler başlıca tropikal bölgelerde bulunan nadir türlerdir. *A. niger* ve *A.tubingensis*, ise en sık rastlanılan türlerdir (Nielsen ve diğ., 2009).

2.2 *Aspergillus* section *Nigri* Üyesi Mikotoksijenik Türler ve Mikotoksin Üretimi

Aspergillus section *Nigri* üyeleri tarafından üretilen başlıca mikotoksin son zamanlara kadar, okratoksin A (OTA) olarak değerlendirilmiştir. Frisvad ve diğ. (2007) tarafından 4 farklı *A. niger* suşunun farklı kültür ortamlarında fumonisin B₁, B₂ ve B₃ üretimleri araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda, *A. niger*' in yüksek miktarda karbonhidrat veya tuz içeren, düşük su aktivitesine sahip ortamlarda fumonisin B₂ üretilbildiği bildirilmiştir. Farklı gıda örneklerinden izole edilen *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin fumonisin oluşturma potansiyellerini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmaların sonucunda *A. niger* suşlarının FB₂ ve FB₄ üreticisi olduğu bildirilmiştir (Logrieco ve diğ., 2009; Mogensen ve diğ., 2010; Noonim ve diğ.,2009).

Aspergillus section *Nigri* üyelerinden *A. niger*, *A. carbonarius*, *A. lacticoffeatus*, *A. sclerotioniger* (Samson ve diğ., 2004), *A. awamori* (Magnoli ve diğ., 2003; 2004; 2006a; 2006b), *A. foetidus* (Magnoli ve diğ., 2003; 2004) ve *A. japonicus*' un (Battilani ve diğ., 2003) OTA üretiminden sorumlu türler olduğu bildirilmiştir. Ancak Samson ve diğ. (2004) yaptıkları çalışmada *A. foetidus* ve *A.japanicus* türlerinin OTA üretmediklerini bildirmişlerdir.

Aspergillus carbonarius ve *A. niger* OTA üretiminden sorumlu başlıca küfler olarak değerlendirilmekle beraber, *A niger* agg. tarafından OTA üretim oranı, *A. carbonarius* suşlarına göre daha düşük miktardadır (Battilani ve diğ., 2006; Astoreca ve diğ., 2007b). Okratoksijenik *A. carbonarius* izolatlarının oranı %25-100 arasında değişmektedir. *A. niger* agg. tarafından OTA üretimi ise daha düşük seviyedir (%0,6-50) (Abarca ve diğ., 2004). Ancak doğada *A. carbonarius* bulunma sıklığı, *A. niger*'e göre daha azdır (Esteban ve diğ., 2006a). Ayrıca *A. carbonarius* suşlarının gelişim hızları, *A. niger* agg. suşlarına göre daha düşüktür (Belli ve diğ., 2004; Valero ve diğ., 2005).

Kuru incir (Iamanaka ve diğ., 2006; Zinedine ve diğ., 2006; Karbancıoğlu-Güler ve Heperkan, 2008b; Bircan, 2009), üzüm (Magnoli ve diğ., 2003; Belli ve diğ., 2004; Serra ve diğ., 2005; Battilani ve diğ., 2006; Bejaoui ve diğ., 2006; Tjamos ve diğ.,

2006; Chiotta ve diğ., 2009), kuru üzüm (Magnoli ve diğ., 2004; Romero ve diğ., 2005, Iamanaka ve diğ., 2006), kırmızı şarap (Kozakiewicz ve diğ., 2004), kahve (Taniwaki ve diğ., 2002; Ilic ve diğ., 2007; Noonim ve diğ., 2008) mısır (Magnoli ve diğ., 2006a; Zinedine ve diğ., 2006), yer fıstığı (Magnoli ve diğ., 2006b; Magnoli ve diğ., 2007a) mısır bazlı hayvan yemleri (Magnoli ve diğ., 2007b), buğday (Zinedine ve diğ., 2006; Riba ve diğ., 2008), kakao çekirdekleri (Amezqueta ve diğ., 2008), hurma (Iamanaka ve diğ., 2006) ve kuru erikte (Iamanaka ve diğ., 2006) *Aspergillus* section *Nigri* kaynaklı OTA kontaminasyonları belirlenmiştir. Çizelge 2.1’ de okratoksin A üreticisi *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin izole edildikleri ürünler ve OTA üretme potansiyelleri gösterilmiştir.

Çizelge 2.1 : Okratoksin A üreticisi *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin izole edildikleri substratlar ve OTA oluşturma potansiyelleri.

Ürün Çeşidi/Ülke	İzole edilen küf	OTA miktarı	Kaynaklar
Üzüm (Arjantin)	<i>A. niger</i>	2-24 ng/ml	Magnoli ve diğ., 2003
	<i>A. awamori</i>	3-20 ng/ml	
	<i>A. foetidus</i>	2 ng/ml	
Üzüm (İtalya)	<i>A. niger agg.</i>	<10- ≥100 ng/g	Battilani ve diğ., 2006
	<i>A. carbonarius</i>	*- >100 ng/g	
Üzüm (Fransa)	<i>A. niger agg.</i>	≤0.1 µg/g	Bejaoui ve diğ., 2006
	<i>A. carbonarius</i>	1.2- 37.5 µg/g	
Üzüm (Yunanistan)	<i>A. niger agg.</i>	0.25-15.9 ng/g	Tjamos ve diğ., 2006
	<i>A. carbonarius</i>	0.25- ≥25 ng/g	
Üzüm (Arjantin)	<i>A. niger agg.</i>	0.5-17.50 ng/g	Chiotta ve diğ., 2009
	<i>A. carbonarius</i>	1.2-1285 ng/g	
Kuru Üzüm (Arjantin)	<i>A. carbonarius</i>	2- 5202 ng/mL	Magnoli ve diğ., 2004
	<i>A. niger agg.</i>	2-61.15 ng/mL	
	<i>A. awamori</i>	3-56 ng/ml	
	<i>A. aculeatus</i>	7 ng/ml	
	<i>A. foetidus</i>	4.15 ng/ml	
Kuru Üzüm (Arjantin)	<i>A. niger+A. carbonarius</i>	*	Romero ve diğ., 2005
Kahve (Tayland)	<i>A. niger+A. carbonarius</i>	*	Noonim ve diğ., 2008
Yerfıstığı (Arjantin)	<i>A. niger</i>	2-18 ng/ml	Magnoli ve diğ., 2006b
	<i>A. awamori</i>	5-8 ng/ml	
	<i>A. carbonarius</i>	2-12 ng/ml	

Çizelge 2.1 : Okratoksin A üreticisi *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin izole edildikleri substratlar ve OTA oluşturma potansiyelleri (devam).

Ürün Çeşidi/Ülke	İzole edilen küf	OTA miktarı	Kaynaklar
Yerfıstığı (Arjantin)	<i>A.niger agg.</i>	7.5- 21ng/ml	Magnoli ve diğ., 2007a
	<i>A.carbonarius</i>	9- 20 ng/ml	
Kuru incir (Türkiye)	<i>A.niger agg.</i> +	*	Karbancıoğlu-Güler ve
	<i>A. carbonarius</i>		Heperkan.,2008b
Buğday (Cezayir)	<i>A. niger</i>	0.01-0.03 µg/g	Riba ve diğ., 2008
	<i>A. carbonarius</i>	0.01-9.35 µg/g	
Kakao tanesi	<i>A. carbonarius</i>	*	Amezquata ve diğ.,2008
Kahve (Brezilya)	<i>A. niger</i>	*-< 5 ng/g	Taniwaki ve diğ., 2002
	<i>A. carbonarius</i>	*-20 ng/g	
Kahve (Vietnam)	<i>A. niger</i>	*	Ilic ve diğ., 2007

*:Değer belirtilmemiştir.

Çeşitli gıda örneklerinden izole edilen *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin ürettikleri OTA miktarları değişiklik göstermektedir. Literatürde üzüm izolatlarının ürettikleri OTA miktarları $0.25-3.75 \times 10^4$ ng/g; kuru üzüm izolatlarının ürettikleri OTA miktarları 2-5202 ng/ml; kahve izolatlarının ürettikleri OTA miktarları <5-20 ng/g; yerfıstığı izolatlarının ürettikleri OTA miktarları 7.5-21 ng/ml; buğday izolatlarının ürettikleri OTA miktarları 10-9350 ng/g olarak belirtilmiştir (Çizelge 2.1). Bu değerlendirmelere göre en yüksek OTA üretimi Fransa'da üzümünden izole edilen *A. carbonarius* suşlarında görülmektedir. En düşük OTA üretimi ise *A. foetidus* suşlarında görülmektedir.

OTA, nefrotoksik, bağışıklık sistemini baskılayıcı, teratojenik, karsinojenik bir ajandır (Barkai-Golan, 2008). Hayvanlar üzerinde yapılan birçok deney sonucunda OTA'nın hedef aldığı organın böbrek olduğu bildirilmiştir. Bu toksin proksimal tubüllerde doku ölümüne yol açmaktadır (Manning, 2005). OTA, insanlarda Balkan Endemik Nefropati (BEN) hastalığı ile ilişkilendirilmektedir. BEN endemisi görülen bölgelerdeki insanların kanlarından ve bu bölgelerdeki gıdalardan alınan örneklerde yüksek miktarda OTA kontaminasyonu görülmüştür (Hult ve diğ., 1982; Vrabcheva ve diğ., 2000). Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı (IARC), okratoksin A'yı insanlar için potansiyel karsinojen olarak (klas 2B karsinojen) değerlendirmektedir (Aish ve diğ., 2004). Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı (EFSA), OTA üretimi üzerine yaptığı risk değerlendirmesi sonucunda, haftalık tolere edilebilir (TWI) OTA

miktarını 1998 yılında Gıda Bilimsel Komitesi tarafından belirlenen değerin yaklaşık 3 katı daha yüksek 120 ng/kg olarak düzenlemiştir (EFSA, 2006).

Kahve çekirdeklerinden izole edilen *A. niger* izolatlarının fumonisin B₂ (Noonim ve diğ., 2009), üzüm (Logrieco ve diğ., 2009) ve kuru üzümünden (Mogensen ve diğ., 2010) izole edilenlerin ise, fumonisin B₂ ve B₄ üretiminden sorumlu olduğu bildirilmiştir. Çizelge 2.2’de fumonisin üreticisi *A. niger*’lerin izole edildikleri substratlar ve fumonisin B₂ ve B₄ oluşturma potansiyelleri gösterilmiştir.

Çizelge 2.2 : Fumonisin üreticisi *Aspergillus section Nigri* üyesi küflerin izole edildikleri substratlar ve fumonisin oluşturma potansiyelleri.

Örnek	FUM üreten suş sayısı	Kaynaklar
Referans suş	4/4 B ₂	Frisvad ve diğ., 2007
Kahve (Tayland)	13/17 (B ₂)	Noonim ve diğ., 2009
Üzüm	4/8 (B ₂ ve B ₄)	Logrieco ve diğ., 2009
Kuru üzüm	51/66 (B ₂ ve B ₄)	Mogensen ve diğ., 2010

Çizelge 2.2’de verildiği gibi incelenen küf izolatlarının fumonisin üretme sıklıklarının yüksek olduğu belirlenmiştir.

2.2.1 *Aspergillus carbonarius*

Aspergillus carbonarius, *Aspergillus section Nigri* üyeleri içerisinde en önemli OTA üreticisi kültür (Belli ve diğ., 2005; Battilani ve diğ., 2008; Nielsen ve diğ., 2009). *A. carbonarius*; üzüm, kuru üzüm meyveleri ve şarapta OTA kontaminasyonundan sorumlu başlıca küf olarak bildirilmiştir (Aish ve diğ., 2004; Frisvad ve diğ., 2006).

A. carbonarius gelişiminde, substratın su aktivitesi (a_w) ve sıcaklık önemli çevresel etkenlerdir. Güneş ışınlarına karşı dirençli olan *A. carbonarius*, optimum 32-35°C’de gelişmektedir (Aish ve diğ., 2004). *A. carbonarius* izolatlarının optimum gelişme koşullarını belirlemek üzere, üzüm benzeri yapay kültür ortamında çalışılmıştır. Bu çalışma sonucunda *A. carbonarius* izolatlarının, gelişmeleri için gereken minimum sıcaklığın 10°C olduğu, sıcaklık artışına bağlı olarak maksimum 30-37°C’de gelişme gözlemlendiği bildirilmiştir (Belli ve diğ., 2004).

A. carbonarius, genel olarak yüksek a_w değerlerinde daha iyi gelişme göstermektedir (Belli ve diğ., 2004; Esteban ve diğ., 2006a; Romero ve diğ., 2007; Amezcua ve diğ., 2008). Üzümden elde edilen *A. carbonarius* izolatlarının gelişme hızlarının su

aktivitesi değerine bağlı olarak artış gösterdiği ve 25°C sıcaklıkta, yüksek a_w değerinde (0.95-0.995) en yüksek; düşük a_w değerinde (0.90) ise minimum gelişme gösterdiği bildirilmiştir (Belli ve diğ., 2004). Başka bir çalışmada ise kuru zmnden izole edilen *A. carbonarius* izolatının lag fazı süresinin (koloni çapı 5mm olana kadar geçen süre) optimum sıcaklıkta (30°C) 0.97 a_w değerinde 2 saat, 0.85 a_w değerinde ise 300 saat olduğu gözlenmiştir (Astoreca et al., 2007a). Gelişim zerine a_w ve sıcaklığın tek başlarına etkilerinin yanı sıra bu iki faktörün interaksiyonu da önemlidir (Belli ve diğ., 2004; Belli ve diğ., 2005; Esteban ve diğ., 2006a; Romero ve diğ., 2007). zmnden elde edilen *A. carbonarius* izolatları ile yapılan çalışmada, *A. carbonarius*'un optimum sıcaklıkta düşük su aktivitesine daha dirençli olduğu bildirilmiştir (Belli ve diğ., 2004; Astoreca et al., 2007a). Esteban ve diğ. (2006a) kf gelişimine su aktivitesi ve sıcaklığın etkisini incelemiştir. Bu alışma sonucunda; farklı substratlardan elde edilen *A. carbonarius* suşlarının, 30°C'de yeast ekstrakt sukrose agar (YES) besiyerinde 0.82-0.99 a_w aralığındaki tüm değerlerde, Czapek yeast autolysate agar (CYA) besiyerinde ise iki suşun 0.86-0.99, bir suşun 0.88-0.99 ve üç suşun da 0.90-0.99 a_w aralığındaki tüm değerlerde gelişme gösterdiğini bildirmişlerdir. 15°C'de ise incelenen tüm suşlar hem CYA hem de YES besiyerlerinde sadece 0.94-0.99 a_w değerinde gelişme göstermiştir (Esteban ve diğ., 2006a). Su aktivitesinin gelişme üzerine etkisi sıcaklığa bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Romero ve diğ., 2007). Arjantin'de kuru zmnden izole edilen *A. carbonarius* izolatlarının incelendiği çalışmada, sıcaklığın 30°C'den 25°C' ye azaltılması ile beraber 0.90 a_w değerinde lag fazı süresi 1.2 gün uzarken, 0.85 a_w değerinde lag fazı süresinin 20 gün uzadığı bildirilmiştir (Romero ve diğ., 2007).

Bölgesel ve suşlar arası farklılıklar *A. carbonarius* suşlarının optimum gelişme sıcaklığı ve su aktivitesi değerleri üzerinde etkili olmaktadır (Romero ve diğ., 2007). Belli ve diğ. (2005) İtalya, Fransa, Portekiz ve İspanya'da şaraplık üzümlerden izole edilen *A. carbonarius* suşlarının 30°C'de 0.95-0.995 a_w değerlerinde yüksek gelişme gösterdiği, Arjantin'de kuru zmnden izole edilen *A. carbonarius* suşlarının ise 30°C'de 0.95 a_w değerinde yüksek gelişme gösterdiği (17.46 mm/gün) bildirilmiştir (Romero ve diğ., 2007). Başka bir çalışmada ise, Arjantin'de kuru zmnden izole edilen *A. carbonarius* izolatının kuru üzüm ekstrakt agar ortamında optimum 30°C'de 0.97 a_w 'de geliştiği bildirilmiştir (Astoreca ve diğ., 2007a). Diğer

Çalışmalardan farklı olarak, Fas'da zmnden elde edilen *A. carbonarius* izolatlarının optimum 25°C'de 0.95 a_w değerinde geliştiği bildirilmiştir (Selouane ve diğ., 2009).

Gelişim zerine etkili olan çevresel faktörler, aynı zamanda OTA retimi için de önemlidir. Ancak OTA retimi için optimum sıcaklık ve a_w değerleri gelişme için gerekli değerlerden farklıdır. Bu değerler gelişme için gerekli değerlerden daha dar sınırlardadır (Belli ve diğ., 2005; Astoreca et al., 2007a). Avrupa'nın farklı bölgelerinden toplanan şaraplık üzümlerden izole edilen *A. carbonarius* izolatlarının, optimum 20°C'de ve yüksek a_w değerlerinde OTA ürettiği belirtilmiştir (Belli ve diğ., 2005). Farklı substratlardan elde edilen *A. carbonarius* izolatlarının tümünün 15°C'de 0.94-0.99 a_w aralığında OTA rettiği, 30°C'de ise incelenen suşlardan iki adedinin 0.94-0.99 a_w aralığında, diğer iki suşun da 0.86-0.90 a_w aralığında OTA ürettiği bildirilmiştir. Ayrıca, aynı çalışmada suşların 15°C'de OTA retiminin 30°C'den yüksek olduğu gözlenmiştir (Esteban ve diğ., 2006a). Kuru zmnden izole edilen *A. carbonarius* izolatlarının optimum 25-30°C, 0.99 a_w değerinde OTA ürettiği bildirilmiştir (Astoreca et al., 2007b). Kakao çekirdeklerinden izole edilen *A. carbonarius* izolatlarında da, su aktivitesi artışına bağlı olarak OTA retim miktarlarında artış gözlenmiştir (Amezquata ve diğ., 2008). Fas'da zmnden izole edilen *A. carbonarius* izolatlarında 25-30°C, 0.95-0.99 a_w değerlerinde maksimum OTA retimi gözlenmiştir (Selouane et al., 2009).

Aspergillus carbonarius ve *A. niger* zmde önemli miktarda OTA üretiminden sorumludur (Battilani ve diğ., 2003). *A. carbonarius* izolatlarının %80'den fazlası, *A. niger* agg. izolatlarının ise yaklaşık %5'i bu toksinin üretiminden sorumludur (Kozakiewicz ve diğ., 2004). Portekiz'in iki farklı bölgesinden hasat zamanında toplanan şaraplık zmlerde *A. carbonarius* görülme sıklığı az olmasına rağmen, OTA oluşturma kapasitesi açısından en önemli kf olarak tanımlanmıştır (Serra ve diğ., 2005). Farklı yıllarda toplanan üzümlerden izole edilen 1728 izolatın %20'sini oluşturan *A. carbonarius*, zmlerdeki OTA kontaminasyonunun %90'ından sorumludur (Battilani ve diğ., 2006).

OTA birikiminde, bölgenin iklim koşulları önemli ölçüde etkilidir (Belli ve diğ., 2005; Noonim ve diğ., 2008; Chiotta ve diğ., 2009). 1999-2000 yıllarında Brezilya'nın farklı bölgelerinden toplanan kahve çekirdeklerinde de, bölgeler arası farklılıklar görülmüştür. İzolatların % 6'sını oluşturan *A. carbonarius*, sadece kahve yetiştirilen bölgeler için yüksek sıcaklığa sahip Alta Paulista bölgesinden izole

edilmiştir. Kurutma ve depolama alanından izole edilen suşlar, yüksek miktarda (5 ve 20 µg/kg) OTA oluşturmuştur (Taniwaki ve diğ., 2003). Brera ve diğ. (2008), sıcaklık ve nemin daha yüksek olduğu güney bölgelerinden elde edilen üzümlerle yapılan şaraplarda OTA kontaminasyonunun (0.54 ng/mL), kuzey bölgesi üzümleri ile yapılan şaraplardakinden (0.01 ng/mL) daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. 2006-2007 yıllarında Kuzey ve Tayland Bölgeleri'nden toplanan kahve çekirdekleri ile yapılan çalışmada Güney Tayland bölgesinden toplanan kahve çekirdeklerinden izole edilen *A. carbonarius* suşlarının tümü OTA üretme potansiyeline sahip iken, Kuzey Tayland Bölgesi'nden toplanan kahve çekirdeklerinden hiçbirinde *A. carbonarius*'a rastlanmamıştır (Noonim ve diğ., 2008). Chiotta ve diğ. (2009) Arjantin'de yüksek sıcaklık değerlerine sahip La Rioja ve San Juan bölgelerinde yetiştirilen şaraplık üzümlerin potansiyel OTA riski taşıdığını bildirmiştir.

Şarap çeşidi ve kalitesi ile OTA kontaminasyonu arasında ilişki bulunmaktadır. Brera ve diğ. (2008) tarafından yapılan çalışmada kırmızı şarapların %2.84' ünün Avrupa Birliği tarafından şaraplar için belirlenen yasal OTA limiti olan 2.0 ng/mL' den (Commission Regulation; EC, 2006) fazla olduğu, pembe şaraplarda ise bu oranın %5.33 seviyesinde olduğu ifade edilmiştir. Düşük kaliteli sofr şaraplarının (*Vino da Tavola*), % 12.82'sinde OTA kontaminasyonu 2.0 ng/mL'den fazla iken, geleneksel yöntemlere göre üretilen ve şişelenmeden önce tadım işleminden geçen *Denominazione di Origine Controllata e Garantita* tipi şaraplarda OTA kontaminasyonunun tespit edilebilecek düzeyin altında olduğu bulunmuştur (Brera ve diğ., 2008).

Aspergillus carbonarius suşlarının, kuru üzümde yüksek miktarda OTA üretme kapasitesine sahip olduğu bu konuda yapılmış olan birçok çalışma ile doğrulanmıştır. Ancak üretilen OTA miktarı, izole edilen *A. carbonarius* suşlarının OTA üretim sıklıkları, çalışılan izolat sayısı ve substrata bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir Magnoli ve diğ. (2004), Arjantin marketlerinden toplanan kuru üzümlerden izole edilen *Aspergillus section Nigri* grubuna ait 219 suştan 62 adedinin OTA üretme kapasitesinde olduğunu bildirmişlerdir. Okratoksijenik suşların %82.6'sını *A. carbonarius* izolatlarının oluşturduğu ve bu izolatların kültür ortamında 2-5202.5 ng/mL aralığında OTA üretme kapasitesinde olduğu ifade edilmiştir (Magnoli ve diğ., 2004). Romero ve diğ. (2005) Arjantin'de yetiştirilen

kuru üzümelerin mikoflorasının % 7.32' sini oluşturan *A. carbonarius* izolatlarının %96' sının okratoksijenik özellikte olduğunu belirtmişlerdir.

2.2.2 *Aspergillus niger*

Aspergillus niger, gıdalarda sıklıkla rastlanılan bir küftür. Ancak sadece birkaç suşu okratoksin A üretebilmektedir. *A. niger*, üzüm, şarap ve kahve çekirdeklerinde *A. carbonarius*'dan sonra ikinci önemli OTA üreticisi küftür (Frisvad ve diğ., 2006).

Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda *A. niger* suşlarının fumonisin B₂ ve B₄ üretme kapasitesinde olduğu bildirilmiştir (Frisvad ve diğ., 2007, Logrieco ve diğ., 2009, Mogensen ve diğ., 2010 Noonim ve diğ., 2009). Ayrıca OTA ve FB₂ mikotoksinlerinin her ikisini üretebilen *A. niger* suşları olduğu da bildirilmiştir (Noonim ve diğ., 2009).

A. niger; minimum 6-8°C, maksimum 45-47°C, optimum 37°C'de gelişme göstermektedir (Pitt ve Hocking, 1997). Ancak bu değerler; izolat, substrat ve coğrafi koşullara bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Belli ve diğ. (2005), meteorolojik koşulların şaraplık üzümler üzerine etkisini inceledikleri çalışmada; tarla sıcaklığı ile *A. niger* agg. suşlarının sayısında pozitif korelasyon bulunduğunu ifade etmişlerdir. Farklı substratlardan elde edilen *A. niger* agg. suşlarının (12 adet) tümü 0.86-0.99 a_w değerinde gelişme gösterirken, üç adedi 20 günlük inkübasyon sonucunda 0.82 a_w'de de gelişme göstermiştir (Esteban ve diğ., 2006b). Avustralya'dan izole edilen *A. niger* suşlarının, üzüm suyuna benzer besiyerinde gelişme hızına sıcaklık ve su aktivitesinin etkisinin incelendiği çalışmada, maksimum gelişmenin 35°C'de 0.98 a_w değerinde elde edildiği, su aktivitesinin 0.98'den 0.92'ye azalması durumunda *A. niger* gelişme hızında % 32'lik azalma olduğu ifade edilmiştir (Leong ve diğ., 2006). Arjantin'de yerfıstığı ve kahve çekirdeklerinden izole edilen *A.niger* izolatlarının yerfıstığı ekstrakt agar ve kahve ekstrakt agar ortamında optimum 30°C'de 0.97 a_w'de geliştiği bildirilmiştir. Farklı a_w (0.85-0.995) ve sıcaklık (15-30°C) değerlerinin gelişme üzerine etkisinin incelendiği bu çalışmada, kahveden elde edilen izolatın 15°C'de hiçbir a_w değerinde gelişme göstermediği bildirilmiştir. *A. niger* izolatlarının optimum sıcaklıkta lag fazı süresinin 0.97 a_w değerinde 2 saat, 0.85 a_w değerinde ise 260 saat olduğu belirlenmiştir. İzolatların lag fazı süresi, sıcaklık azalmasına bağlı olarak artış göstermiştir. (Astoreca et al., 2007a). Işınlanmış yerfıstıklarının besi ortamı olarak kullanıldıkları bir çalışmada ise *A. niger* agg.

suşları için optimum gelişme koşulunun 30°C’de 0.995 a_w olduğu bildirilmiştir (Astoreca ve diğ., 2009a). Işınlanmış mısır tanelerinin besi ortamı olarak kullanıldığı çalışmada *A. niger* agg. suşları 30°C’de, 0.951 a_w ’ de, optimum (ortalama 11 mm/gün) gelişme göstermiştir (Astoreca ve diğ., 2009b). Fas’da üzümünden elde edilen *A. niger* izolatları ise optimum 25°C’de 0.95 a_w degerinde gelişme göstermiştir (Selouane ve diğ., 2009).

A. niger’in OTA üretiminde, gelişme koşullarında olduğu gibi birçok faktör etkilidir. Ancak OTA oluşumu için gerekli koşullar küf gelişimine göre daha dar sınırlardadır ve her suşun OTA üretim potansiyeli birbirinden farklılık göstermektedir (Esteban ve diğ., 2006b; Astoreca ve diğ., 2009a). Substratın bileşimi, sıcaklıktaki değişimler, kuraklıktan doğan stres toksin oluşumunda önemli faktörlerdir (Ilic ve diğ., 2007). Işınlanmış mısır tanelerinde ve yerfıstıklarında *A. niger* agg. tarafından en yüksek OTA konsantrasyonu 25°C’de 0.973 a_w ’de gözlenmiştir (Astoreca ve diğ., 2009a, 2009b). Farklı substratlardan izole edilen *A. niger* agg. suşlarının OTA üretimine su aktivitesinin etkisinin incelendiği bir çalışmada, Czapek yeast autolysate agar (CYA) besiyerinde maksimum OTA üretiminin 0.94-0.98 a_w aralığında, yeast ekstrakt sukroze agar (YES) besiyerinde ise 0.96-0.98 a_w aralığında olduğu gözlenmiştir. Okratoksijenik *A. niger* agg. suşlarının, YES besiyerinde ortalama 4.38 $\mu\text{g/g}$, CYA besiyerinde de ortalama 1.88 $\mu\text{g/g}$ seviyesinde OTA oluşturduğu bildirilmiştir (Esteban ve diğ., 2006b). Arjantin’de yer fıstığı ve mısırdan izole edilen *A. niger* agg. suşlarının maksimum OTA üretiminin 25°C’de 0.97 ve 0.99 a_w degerinde gözlendiği bildirilmiştir (Astoreca ve diğ., 2007b). Fas’da üzümünden izole edilen *A. niger* izolatlarında ise 30-37°C, 0.90-0.95 a_w degerlerinde maksimum OTA üretimi gözlenmiştir (Selouane ve diğ., 2009).

A. niger, üzümün yetiştiği bölge, yıl ve gelişme dönemine bağlı olarak üzüm mikoflorasının büyük bir çoğunluğunu oluşturmaktadır. Fakat izole edilen suşların okratoksin üretme kapasiteleri sınırlıdır (Belli ve diğ., 2005; Bejaoui ve diğ., 2006; Tjamos ve diğ., 2006). İspanya’da 2002-2003 yıllarında dört farklı bölgeden toplanan şaraplık üzümlerden izole edilen, *Aspergillus section Nigri* üyesi küflerin 2002 yılında % 75’ inin, 2003 yılında % 53’ ünün *A. niger* agg. olduğu bildirilmiştir. İzole edilen *A. niger* agg. suşlarının OTA üretme kapasitesinin ise düşük olduğu (%2-2002; %5-2003) gözlenmiştir (Belli ve diğ., 2005). Yunanistan’da 2002-2003 yıllarında 5 farklı bölgeden toplanan şarap yapımında kullanılan üzümlerde

Aspergillus spp. popülasyonu ile ilgili yapılan çalışmada üzümlerin tarlada gelişmesine bağlı olarak *Aspergillus* spp. popülasyonunda artış olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada bölgeler arası farklılığın da *Aspergillus* section *Nigri* türlerinin dağılımı açısından önemli olduğu, ancak üzümlerde baskın *Aspergillus* section *Nigri* üyesinin *A. niger* olduğu bildirilmiştir. OTA üretim kapasitesinin de incelendiği çalışmada, *A. niger* agg. izolatlarının OTA üretim miktarlarının düşük olduğu belirtilmiştir. 85 *A. niger* agg. izolatından % 95.2' sinin ya hiç OTA üretmediği ya da 2.9 ppb'nin altında OTA ürettiği, geri kalan % 4.8' lik kısmın ise 15.9 ppb'nin altında OTA ürettiği bildirilmiştir (Tjamos ve diğ., 2006). Fransa'da farklı iklim özelliklerine sahip dört farklı bağda şarap yapımında kullanılan üzümlerin mikoflorası ve OTA kontaminasyonu araştırılmıştır. Yapılan çalışmada üzümler; yeşil üzüm, erken olgunlaşmanın başlangıcında ve normal hasat zamanı olmak üzere üç farklı aşamada toplanmıştır. Çalışma sonucunda gelişmenin ilerlemesi ile birlikte küf popülasyonunda ve OTA kontaminasyonunda artış gözlenmiştir. Toplam fungal floranın % 79.2' sini *Aspergillus* section *Nigri* grubuna ait *A. japonicus*, *A. carbonarius* ve *A. niger* agg.'in oluşturduğu belirtilmiştir. Bu üç türün oransal olarak dağılımı ise yıllara göre (2001, 2002, 2003) değişkenlik göstermekle beraber, sıcaklığın en yüksek olduğu yılda (2003) *A.niger*'in daha baskın (%72) olduğu belirtilmiştir. OTA üretimi açısından ise yıllar arasındaki farklılığın önemli olmadığı ve *A. niger* agg. izolatlarının (maksimum 0.1 µg/g OTA üretimi), Fransız üzümlerinde *A. carbonarius*'dan (maksimum 37.5 µg/g OTA üretimi) sonra ikinci önemli küf olduğu ifade edilmiştir (Bejaoui ve diğ., 2006). Ancak Iamanaka ve diğ. (2006) tarafından yapılan çalışmada, diğer çalışmaların aksine *A. niger* izolatlarının yüksek oranda OTA ürettiği bildirilmiştir. Türkiye, İspanya, Meksika, Tunus, Amerika ve Şili orijinli 119 kuru meyve örneği ile yapılan bu çalışmada mikofloranın % 25'ini oluşturan okratoksijenik *Aspergillus* section *Nigri* izolatlarının 3 adedinin *A. carbonarius*, geri kalan 120 adedinin de *A. niger* olduğunu ifade edilmiştir (Iamanaka ve diğ., 2006). OTA kontaminasyonunun sıkça görüldüğü bir ürün olan kahvede, başlıca kontaminasyon kaynağı *A. carbonarius* olmakla beraber, okratoksijenik *A. niger* suşlarının varlığına dair çalışmalar bulunmaktadır. Vietnam'da yetiştirilen 15 kahve çekirdeği örneğinden 14 adedinde *A. niger* izole edilmiştir. 14 adet izolatın 5 adedi, OTA üretme kapasitesine sahiptir. OTA üreten *A.niger* oranı düşük olmakla beraber *A.niger*, örneklerden izole edilen tek okratoksijenik türdür (Ilic ve diğ., 2007).

Frisvad ve diğ. (2007), tarafından yapılan çalışmada, ilk kez *A. niger* tarafından FB₂ üretilbildiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada farklı bileşime sahip besi ortamlarının, *A. niger* suşlarının FB₂ üretme kapasitesine etkisi de incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda; sakaroz, NaCl veya gliserol içeren ortamların *A. niger*' in fumonisin üretimini destekleyici etkisi olduğu belirtilmiştir (Frisvad ve diğ., 2007). Mogensen ve diğ. (2009), su aktivitesinin ve kültür ortamındaki farklı bileşenlerin (tuz, şeker ve gliserol) *A. niger* tarafından fumonisin B₂ oluşumuna etkisini araştırmıştır. En fazla FB₂ oluşumunun 0.98-0.99 a_w değerinde gözlemlendiği bildirilmiştir. Ayrıca kültür ortamına % 2.5-5 tuz veya % 10-20 şeker ilavesinin *A.niger* suşlarının FB₂ üretimini teşvik ettiği, gliserol ilavesinin ise FB₂ oluşumunu azalttığı bildirilmiştir. Kuru üzümlere *A. niger* inoküle edilerek yapılan bir çalışmada, kuru üzümün a_w değerinde azalmaya bağlı olarak *A. niger* tarafından fumonisin üretim miktarında azalma gözlenmiştir (Mogensen ve diğ., 2010).

Aspergillus section Nigri tarafından fumonisin üretimine ilişkin taze izolatların kullanıldığı ilk çalışma Noonim ve diğ. (2009) tarafından Tayland'da yetiştirilen kahve çekirdeklerinde yapılmıştır. *A. niger* izolatlarının besiyerinde % 67'sinin FB₂ ve FB₄ ürettiği belirlenmiştir. FB₂ üretme kapasitesine sahip iki izolatın aynı zamanda OTA da üretebildiği bildirilmiştir (Noonim ve diğ.,2009). Logrieco ve diğ. (2009) tarafından yapılan çalışmada üzümde izole edilen 8 *A. niger* izolatının 4 tanesinin 29-293 µg/g fumonisin B₂ ürettiği bildirilmiştir. Mogensen ve diğ. (2010), kuru üzümde izole edilen *A. niger* suşlarının %77'sinin besiyerinde FB₂ ürettiğini bildirmiştir. Fumonisin üretme kapasitesine sahip on tane *A. niger* suşunun üzümde inokülasyonları sonucunda üzümde, 171-7841 µg/kg FB₂ ve 14-1157 µg/kg FB₄ oluşumu gözlenmiştir. Fumonisin üreticisi dört suş, kuru üzümde de 5-6476 µg/kg FB₂ ve 12-672 µg/kg FB₄ üretmiştir (Mogensen ve diğ., 2010).

2.3 Mikotoksijenik *Aspergillus section Nigri* Üyelerinin Kuru İncirde Önemi

İncir, bütün halde tüketilebilen, tatlı ve besin değeri yüksek bir meyvedir. Taze veya işlenmiş halde tüketilebilmektedir. En fazla tercih edilen tüketim şekli ise kurutulmuş formudur (Desai ve Kotecha, 1995). İncir üretimi genellikle Mısır, Türkiye, İspanya, İtalya, Fas, Cezayir gibi Akdeniz ülkelerinde yapılmaktadır. Türkiye, dünyada önemli incir üreticilerinden birisidir. Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO) 2008 yılı verilerine göre, 205.067 ton incir üretimi ve 91630000 \$ üretim değeri ile Türkiye

dünyada ikinci önemli incir üreticisi ülkedir. Kuru incir ihracatı açısından ise dünya sıralamasında Türkiye, 162908000 \$ üretim değeri ile birinci sıradadır (FAO, 2008).

İncir, birçok açıdan besleyici özellik taşır. Lifler dahil olmak üzere karbonhidrat açısından oldukça iyi bir kaynaktır. Kalsiyum, demir, A ve C vitaminleri açısından zengindir. Vücuttaki fazla asidi nötrleştirerek, asit-baz dengesinin korunmasına yardımcı olmaktadır (Desai ve Kotecha, 1995).

İncirlerde hakim flora, incirin temin edildiği aşamaya göre değişkenlik göstermekle beraber, *A. niger*, *A. flavus*-*A. parasiticus* ve *Fusarium* sıklıkla rastlanılan küf türleridir. Kuru incirlerde *Aspergillus* section *Nigri* kaynaklı kontaminasyon oranı, kurutma aşamasında %75, depolama aşamasında %100'dür (Heperkan, 2006). Karbancıoğlu-Güler ve Heperkan (2009), kurutma aşamasındaki incir örneklerinde fumonisin varlığı üzerine yaptıkları çalışmalarında, incirlerde *Fusarium* kontaminasyonunun yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Zohri ve Abdel-Gawad (1993), kuru meyve örneklerinin mikoflorasını inceledikleri çalışma sonucunda, Mısır'dan temin edilen kuru incirlerin fungal florasının %34.8'ini *Penicillium* spp., %30.2'sini *Aspergillus* spp. ve % 35'ini de farklı cins küflerin oluşturduğunu bildirmişlerdir. Farklı bahçelerden toplanan Kaliforniya incirlerinin mikoflorası üzerine yapılan çalışma sonucunda, incirlerden *A. alliaceus*, *A. ochraceus*, *A. melleus*, *A. sclerotium* ve *Penicillium* spp. izole edilmiştir (Bayman ve diğ., 2002).

Kuru meyveler genellikle *Aspergillus* section *Nigri* ile kontamine olmaktadır (Magnoli ve diğ., 2004; Romero ve diğ., 2005; Iamanaka ve diğ., 2006.). Pitt ve Hocking (1997), kuru meyvelerde toksin oluşumuna neden olan baskın küf türlerinin *Aspergillus* section *Nigri* grubunda olduğunu ifade etmiştir. Kuru meyvelerin fazla şeker miktarı ve düşük su aktivitesi kserofilik olan *A. niger* ve *A. carbonarius* gelişimini desteklemektedir (Valero et al., 2005; Iamanaka ve diğ., 2006). Ayrıca *A. niger* ve *A. carbonarius* hücre duvarlarında bulunan melanin sayesinde güneşten gelen UV ışınlarına karşı direnç gösterebilmektedir. Böylece kuru meyvelerde hakim florayı oluşturmaktadır (Valero et al., 2005; Valero et al., 2007). Türkiyede yetiştirilen incirlerde *Aspergillus* section *Nigri* varlığı birçok çalışmada belirtilmiştir.

Okratoksjenik *Aspergillus* section *Nigri* üyelerine, sıklıkla sıcak ve tropik iklime sahip bölgelerde rastlanmaktadır (Abarca ve diğ., 2001). Güney Avrupa'da yetiştirilen üzümelerde yüksek *Aspergillus* section *Nigri* kontaminasyonu, bu bölgenin

kuru ve sıcak iklim koşullarına sahip olması ile açıklanmaktadır (Hocking ve diğ., 2007). Bu duruma benzer olarak, Türkiye’de yetiştirilen kuru incirlerde iklim koşullarına bağlı olarak yüksek *Aspergillus section Nigri* kontaminasyonu görülebilir (Karbancıoğlu-Güler ve Heperkan, 2008b; Bircan, 2009). Türkiye’de incir üretiminin yapıldığı önemli bir bölge olan Aydın’da 1975-2008 yılları arasında Ağustos ayı sıcaklık değerleri 20.0°C-35.5°C (ortalama 27.4°C), Eylül ayı sıcaklık değerleri de 16.5°C-31.9°C (ortalama 23.3°C) olarak bildirilmiştir (DMI, 2010). İncirin hasat zamanı ve sonrasında görülen bu sıcaklık değerleri, *A.carbonarius* ve *A.niger* suşlarının gelişimi ve OTA üretimi açısından uygun koşulların oluşmasını sağlamaktadır.

Literatürde, kuru incirlerde okratoksin A kontaminasyonu ile ilişkili çalışmalar bulunmaktadır. Iamanaka ve diğ. (2005), farklı orjinli kuru meyvelerle yaptığı çalışmada, incelenen kuru incir örneklerinin %26’sının 5 µg/kg’dan fazla OTA içerdiğini ve bu incirlerin tümünün orjininin Türkiye olduğunu ifade etmişlerdir. Iamanaka ve diğ. (2006)’nın kuru meyvelerde okratoksijenik küfler ve OTA üretimi üzerine yaptığı çalışmada, incirlerin % 4.5’ inin *A. carbonarius* ve *A. niger* ile enfekte olduğunu, örneklerin hiçbirinde *A. ochraceus*’a rastlanmadığını belirtilmiştir. Aynı çalışmada incirlerde OTA kontaminasyonunun ≤0.13- 30 µg/kg aralığında, ortalama 4.1 µg/kg olduğu bildirilmiştir (Iamanaka ve diğ., 2006). Zinedine ve diğ. (2007), Fas’da satılan kuru meyve örneklerinde OTA kontaminasyonunu inceledikleri çalışmada, kuru incirlerde OTA kontaminasyonunun 0.03- 1.42 µg/kg, ortalama 0.33 µg/kg olduğunu bildirmişlerdir. Karbancıoğlu-Güler ve Heperkan (2008b), 2003-2004 yıllarında Ege Bölgesi’ndeki incir bahçelerinden kurutma aşamasında toplanan incir örneklerinde OTA kontaminasyonu ile ilgili yaptıkları çalışmada, örneklerin %47.8’inde OTA tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, kuru incirlerdeki OTA miktarının 0.12-15.31 µg/kg arasında değiştiği ifade edilmiştir. Örneklerin %96.5’ lik kısmında 1 µg/kg‘ dan az, %3.5’ lik kısmında da, 8.01 µg/kg’dan fazla OTA bulunduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada, Türkiye’de yetiştirilen kuru incirlerde başlıca OTA üreticisinin *Aspergillus section Nigri* olduğunu, *A. ochraceus* ve *P. verrucosum* sıklığının düşük bulunduğunu ifade etmişlerdir (Karbancıoğlu-Güler ve Heperkan,2008b). Bircan (2009), Aydın ilinde ihracat yapan 10 firmadan paketleme öncesi alınan kuru incir örnekleri ile yaptığı çalışmada, örneklerin % 18’inde olmak üzere 0.87-24.37 µg/kg aralığında,

ortalama 4.3 µg/kg OTA tespit etmişlerdir. Örneklerin 3 tanesinde 8 µg/kg'dan fazla OTA bulunduğunu belirtmiştir. Çizelge 2.3'de kuru incir örneklerinde belirlenen OTA miktarları gösterilmiştir.

Çizelge 2.3 : Çeşitli kuru incir örneklerinde tespit edilen OTA miktarları.

Kuru İncir Örneğinin Orjini	OTA Miktarı (µg/kg)	Referans
Türkiye (2002-2003)	≤0.13-30	Iamanaka ve diğ., 2006
Fas (2005)	0.03- 1.42	Zinedine ve diğ., 2007
Türkiye, Ege Bölgesi (2003-2004)	0.12- 15.31	Karbancıoğlu-Güler ve Heperkan (2008)
Türkiye, Aydın	0.87- 24.37	Bircan (2009)

Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda kuru incirde OTA miktarının 0.03-24.37 µg/kg arasında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 2.3). Kuru incirlerin, OTA kontaminasyonu açısından riskli olduğu, konu ile ilgili yapılmış çalışmalarla belirlenmiş olmasına rağmen Avrupa Birliği tarafından henüz belirlenmiş bir yasal limit bulunmamaktadır. Kuru meyvelerle ilişkili olarak, Avrupa Birliği tarafından kuru asma meyvelerinde yasal düzenleme yapmıştır. Kuru asma meyvelerinde izin verilen OTA limiti 10 µg/kg olarak belirlenmiştir (European Commission, 2006). Türk Gıda Kodeksi'nde kuru incir ile ilgili özel bir düzenleme bulunmamakla birlikte, OTA bulunması muhtemel riskli gıdalarda yasal limit 10 µg/kg olarak belirlenmiştir (Türk Gıda Kodeksi, 2008). Almanya, kuru incirlerde OTA kontaminasyonu ile ilgili yasal düzenleme yapmış ve bu değeri 8 µg/kg olarak belirlemiştir (Bundesgesetzblatt Jahrgang, 2004).

2.4 Fumonisin

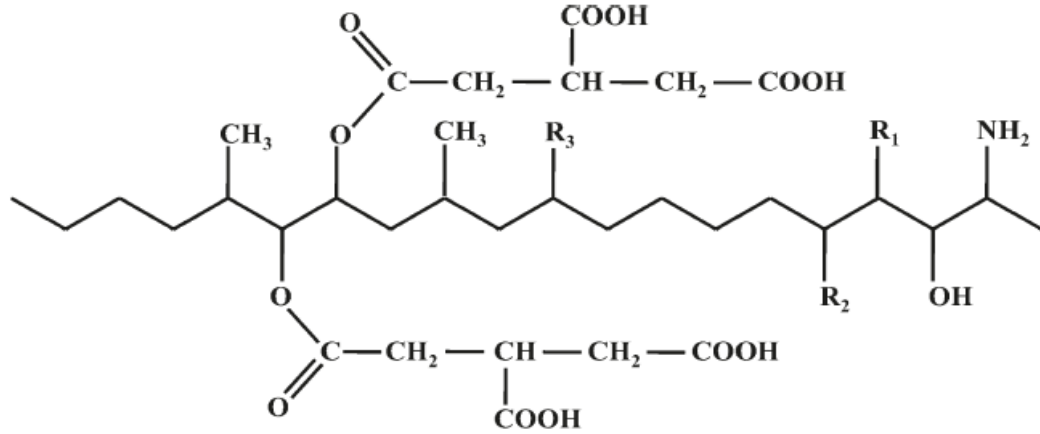
Fumonisinler, metanol ve asetonitrilin sulu çözeltilerinde ve suda çözünabilen polar bileşiklerdir (Jackson ve Jablonski, 2004). Fumonisin kontaminasyonu ilk olarak mısırdan izole edilen *F. verticilloides* izolatlarında tespit edilmiştir (Gelderblom ve diğ., 1998). Gıdalarda fumonisin kontaminasyonu genel olarak *Fusarium* spp. ile ilişkilendirilmektedir (Desjardins, 2006). Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar gıdalarda, *Aspergillus* section *Nigri* kaynaklı fumonisin kontaminasyonu

görülebileceğini belirtmektedir (Logrieco ve diğ., 2009; Mogensen ve diğ., 2009; Noonim ve diğ., 2009).

Fumonisinin yapısı ile ilgili çalışmalara göre 28 farklı fumonisin türevi bulunmaktadır (Rheeder ve diğ., 2002). Fumonisinler; A, B, C ve P olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadır. A grubu fumonisinler, bütün haldeki mısır tanelerinden ve *F. verticilloides* kültürlerinden izole edilmiştir. C grubu fumonisinler küflü mısırlardan, P grubu fumonisinler ise mısırdaki gelişen *F. proliferatum* kültürlerinden izole edilmiştir (Jackson ve Jablonski., 2004). B serisi dışındaki diğer grup fumonisinlere, kontamine mısırlarda pek fazla rastlanmamaktadır (Desjardins, 2006; Nielsen ve diğ., 2009). Gıdalarda B grubu fumonisinlerden sıklıkla B₁ (FB₁), B₂ (FB₂) ve B₃ (FB₃)'e rastlanılmaktadır (Nielsen ve diğ., 2009). Fumonisin B₁, makrofüzin olarak da bilinmektedir. Fumonisin B₁, *F. verticilloides* kültürlerinin oluşturduğu ve kontamine mısırlarda bulunan toplam fumonisinin %70-80'ini oluşturmaktadır. FB₂ ve FB₃ de sırasıyla toplam fumonisin içeriğinin %15-25 ve % 3-8'ini oluşturmaktadır (Rheeder ve diğ., 2002).

Fumonisinler, 19-20 karbon aminopolihidroksil alkil zincirinin propan-1,2,3-trikarboksilik asitle iki kez esterleşmesi sonucu oluşmaktadır (Musser ve diğ., 1997).

Genetik ve biyokimyasal çalışmalar *F. verticilloides*'in fumonisin biosentetik gen kümesinin (cluster) 17 genden oluştuğunu göstermiştir. FUM genleri enzim, transport protein ve transkripsiyon faktörlerin kodlanmasından sorumludur ve fumonisin biyosentezinde önemli rol oynamaktadır (Alexander ve diğ., 2009; Moretti ve Susca, 2010). FUM1 ve FUM8 gen kümeleri FB₁, FB₂ ve FB₃ mikotoksinlerinin iskeletini oluşturan 20 karbonlu zincirin sentezi için gereklidir (Proctor ve diğ., 2006; Alexander ve diğ., 2009). *A. niger* genomu ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda, bu küfün fumonisin biyosentetik gen kümesi varsayılan bir gen kümesine sahip olduğu bildirilmiştir (Baker, 2006; Pel ve diğ., 2007). Susca ve diğ. (2010), *A. niger* suşlarında fumonisin biyosentetik geninin varlığı ile fumonisin üretimi arasında korelasyon olduğunu bildirmiştir. Ancak *A. niger* fumonisin gen kümesi, *Fusarium* FUM kümesinden farklılık göstermektedir. *Fusarium* FUM kümesinde bulunan 7 gen, *A. niger* gen kümesinde bulunmamaktadır. *A. niger* kümesinde eksik olan bu gen (FUM2), fumonisin molekülünün iskeletinde onuncu karbon atomunun (C-10) hidroksilasyonundan sorumludur (Proctor ve diğ., 2006). Fumonisinin kimyasal yapısı ve hidroksil süstitüsyon pozisyonları Şekil 2.1'de verilmiştir.



Bileşen	R ₁	R ₂	R ₃
Fumonisin B ₁	H	OH	OH
Fumonisin B ₂	H	OH	H
Fumonisin B ₃	OH	H	OH
Fumonisin B ₄	H	H	H
Fumonisin B ₆	OH	OH	H

Şekil 2.1 : Fumonisinin kimyasal yapısı ve hidroksil süstitüsyon pozisyonları (Susca ve diğ., 2010).

Şekil 2.1’de görüldüğü gibi, fumonisin B₁ ve B₃, C-10 pozisyonunda hidroksil (OH-) grubu içerirken, fumonisin B₂, B₄ ve B₆ hidrojen (H-) içermektedir.

2.4.1 Fumonisinin sağlık üzerine etkileri

Fumonisinlerin, insan ve hayvan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri bulunmaktadır. Fumonisin, atlarda kontamine yem tüketimine bağlı olarak birkaç gün içinde beyin lezyonlarına, domuzlarda ise akciğer ödemlerine neden olmaktadır. Fumonisin ile kontamine tahılların fareler üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, fumonisinin karsinogenik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Fumonisinle kontamine olan gıdaların insanlar tarafından tüketimi epidemiyolojik hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (Desjardins, 2006). Brezilya, Çin ve İran’da yüksek oranda yemek borusu kanseri vakası görülen bölgelerde yetiştirilen mısırlarda yüksek miktarda fumonisin kontaminasyonu olduğu belirtilmiştir (Galvano ve diğ., 2005). Benzer olarak, fumonisin kontamine mısırların tüketimi ile nöral tüp defekti oluşumu arasında muhtemel bir ilişki olduğu belirtilmiştir (Jackson ve Jablonski, 2004). Fumonisin

insan sağlığı üzerine etkilerine dair kesin veri bulunmamasına rağmen, fumonisin deney hayvanları üzerine etkileri değerlendirilerek, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından potansiyel karsinojen (2B) olarak değerlendirilmiştir (IARC, 1993). Fumonisin B₁, B₂ ve B₃ için ‘‘Günlük Tolere Edilebilir Değer’’ (TDI-Tolerable Daily Intake) Avrupa Birliği Gıda Bilimsel Komitesi tarafından 2  g/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir (EC, 2005).

2.4.2 Gıdalarda fumonisin varlığı

Gıdalarda fumonisin varlığı, ürüne bağlı olmak üzere *Fusarium* spp. veya *Aspergillus niger* kontaminasyonu ile ilişkilidir (Frisvad ve diğ., 2007). Mısır ve mısır ürünleri, fumonisin kontaminasyonunun sıklıkla ve yüksek miktarda görüldüğü gıdalardır. Bu gıdalardaki yüksek fumonisin kontaminasyonu *Fusarium verticilloides* ve *F. proliferatum* varlığı ile ilişkilendirilmektedir. (Marin ve diğ., 2004). Mısır ve mısır ürünlerinde fumonisin kontaminasyon oranı ürünün işlenmesine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Fumonisin kontaminasyonu mısır ve mısır ürünlerinde oldukça yüksek miktarda görülürken, kahvaltılık mısır gevreği, patlamış mısır ve mısırdan yapılmış ürünlerde fumonisin miktarının düşük olduğu bildirilmiştir. Bu durumun fiziksel prosese ek olarak ürünlerin başka işlemlerden geçmesiyle de bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Soriona ve Dragacci., 2004).

in’in Linxian ilinde yapılan çalışmada ev tipi üretim, tahıl ambarları, yerel market ve depolardan toplanan mısır örneklerinde sırasıyla % 61.5; % 50; % 33; % 17 oranlarında fumonisin B₁ kontaminasyonu tespit edilirken marketlerden alınan örneklerde fumonisin B₁, B₂, B₃ ve B₄ varlığına rastlanmamıştır. Aynı çalışmada küflü mısırlar ile herhangi bir zararlanma gözlenmeyen mısırlar da fumonisin kontaminasyonu açısından değerlendirilmiştir. Sonuç olarak FB₁ kontaminasyon oranının küflü mısırlarda %75, kf oluşumu veya zararlanma gözlenmeyen mısırlarda %35.7 olduğu bildirilmiştir (Wang ve diğ., 2008).

İspanya ve İtalya’da organik ve geleneksel tarımla üretilen mısır nişastası bazlı bebek maması, mısır unu, mısır gevreği, makarna, kek ve diğer mısır ürünlerinde fumonisin varlığı araştırılmıştır. İspanya’da satılan mısır ürünlerinin % 22’sinde, İtalya’da satılanların ise % 23’nde FB₁, FB₂ ve FB₃ tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında incelenen ürünler arasında sadece bebek mamasında kontaminasyonun (449  g/kg FB₁; 229  g/kg FB₂; 105  g/kg FB₃) fumonisin için belirlenen yasal limitin üzerinde

olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada organik ve geleneksel ürünler fumonisin kontaminasyonu açısından da değerlendirilmiş ve organik ürünlerde fumonisin kontaminasyonu görülme sıklığının geleneksel ürünlerden fazla olduğu bildirilmiştir (D'arco ve diğ.,2009). Fumonisin kontaminasyonunun organik ve geleneksel gıdalarda değerlendirildiği başka bir çalışmada ise, organik ve geleneksel mısırlarda fumonisin kontaminasyonu açısından önemli bir fark bulunmadığı belirtilmiştir (Arino ve diğ., 2007).

Fumonisin başlıca mısır ve mısır ürünlerinde bulunmakla beraber, bira (Torres ve diğ., 1998), kuşkonmaz (Waskiewicz ve diğ., 2009.), darı (Jackson ve Jablonski, 2004), pirinç (Abbas ve diğ., 1998), tıbbi bitkiler (Omurtag ve diğ., 2006), yer fıstığı (Marin ve diğ., 2006), kuru incir (Karbancıoğlu- Guler ve Heperkan., 2009), üzüm (Logrieco ve diğ., 2009), kahve çekirdeği (Noonim ve diğ., 2009) ve şarapta (Mogensen ve diğ., 2010) da oluşabilmektedir.

İspanya'da 32 bira örneğindeki fumonisin varlığı araştırılmıştır. İncelenen bira örneklerinden % 43.8'inde 4.76-85.53 ng/ml miktarında fumonisin bulunduğu bildirilmiştir. Fumonisin kontaminasyonu görülen ürünlerden 5 adedinin etiketinde hammadde olarak arpa ve mısırın kullanıldığı belirtilirken, geri kalan biralarda mısır üretimine dair bir bilgi bulunmamıştır. Biralarda fumonisin varlığı, bira hammaddesi olan arpanın kontaminasyonu veya arpa yerine mısır tozu kullanılması ile ilişkilendirilmiştir (Torres et al., 1998).

Kahve çekirdeklerinde fumonisin kontaminasyonu üzerine bir araştırma yapılmıştır. Çalışmada incelenen 12 kahve çekirdeğininin 7 adedinde 1-9.7 ng/g fumonisin B₂, bir adedinde B₂ ile beraber B₄ bulunduğu bildirilmiştir (Noonim ve diğ., 2009).

Üzümlerde fumonisin B₂ kontaminasyonu ilk kez, İtalya'nın güney bölgesinde depolanan üzüm örneklerinde tespit edilmiştir. Şarap üretiminde kullanılmak üzere toplanan 12 üzümünden 2 adedinde 0.01 ve 0.4 µg/ml fumonisin B₂ bulunduğu belirtilmiştir (Logrieco ve diğ., 2009).

Farklı ülkelerden alınan 77 şarap örneğinde fumonisin B₂ varlığının araştırıldığı bir çalışmada, 18 şarapta (% 23) FB₂ kontaminasyonu saptanmıştır. Fumonisin kontaminasyonu saptanan örneklerin 16 adedinin kırmızı şarap, bir adedinin beyaz ve 1 adedinin de porto şarabı olduğu ve FB₂ kontaminasyonunun 1-25 µg/L düzeyinde olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonucunda, kırmızı ve beyaz şaraplarda fumonisin

kontaminasyonu açısından görülen farklılığın okratoksin A kontaminasyonuna benzer olduğu ifade edilmiştir (Mogensen ve diğ., 2010).

Türkiye’de Ege Bölgesi’nden kurutma aşamasında toplanan incir örneklerinde fumonisin B₁ varlığı araştırılmıştır. Çalışmada incelenen 115 incir örneğinin 86 adedinde (% 74.7) FB₁ kontaminasyonu saptanmıştır. Örneklerin %9.6’sında FB₁ kontaminasyon düzeyinin 1 µg/g’dan fazla olduğu bildirilmiştir (Karbancıoğlu-Güler ve Heperkan, 2009). Moretti ve diğ. (2010), İtalya’da Puglia bölgesinden toplanan incirlerde yaptıkları çalışma sonucunda, incirlerin *Fusarium ramigenum*, *F. solani* ve *F. proliferatum* ile kontamine olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada, *F. ramigenum* suşlarının kültür ortamında 0.1-1080 mg/kg düzeyinde FB₁ ve 0.1-655 mg/kg düzeyinde FB₂ oluşturduğu ifade edilmiştir.

2.4.3 Fumonisinle ilgili yasal düzenlemeler

Avrupa Birliği ve Türkiye’de, gıdalarda maksimum fumonisin limitleri ile ilgili yasal düzenlemeler yapılmıştır. Çizelge 2.4’de gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum fumonisin limitleri verilmiştir.

Çizelge 2.4 : Gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum fumonisin limitleri.

Ülke	Ürün	Maksimum düzey FB ₁ + FB ₂ (µg/g)
Avrupa Birliği ¹ ve Türkiye ²	İşlenmemiş Mısır	4000
	Direkt insan tüketimine sunulan mısır ve mısır bazlı ürünler	1000
	Mısır bazlı kahvaltılık tahıllar ve mısır bazlı çerezler	800
	İşlenmiş mısır bazlı bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	200
	500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısırın kabaca öğütülmesinden elde edilen küçük parçalar ve mısır irmiği (GTİP 1103 13) veya mısırdan elde edilen pelleter (GTİP 1103 20 40) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri (GTİP 1904 10 10)	1400
	500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır unu (GTİP 1102 20) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri (GTİP 1904 10 10)	2000

¹: European Commission, 2006

²: Türk Gıda Kodeksi, 2008

3. MATERYAL ve METOT

3.1 *Aspergillus section Nigri* İzolatları

Çalışmada, Ege Bölgesi'nin 7 farklı yöresinden (Erbeyli, Germencik, İncirliova, Söke, Selçuk, Ortaklar, Torbalı) toplanan kuru incir örneklerinden izole edilmiş, mikroskopik ve makroskopik özelliklerine göre identifiye edilmiş izolatlar kullanılmıştır (Karbancıoğlu-Güler, 2008a). Bu kapsamda 133 adet *Aspergillus section Nigri* izolatının fumonisin B₁, B₂ ve B₃ üretimleri araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan izolatlara ait bilgiler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 : *Aspergillus section Nigri* üyesi küfler ve küflerin izole edildikleri incir örneklerinin temin edildiği bölgeler.

Bölge	No	İzolat kodu	Tür	Bölge	No	İzolat kodu	Tür
Erbeyli	1	8-03X4AN	<i>A. niger</i> agg.	Germencik	28	17-03D6AN	<i>A. foetidus</i>
Erbeyli	2	8-03D3AN	<i>A. niger</i> agg.	Germencik	29	18-03M5AN	<i>A. foetidus</i>
Erbeyli	3	8-03D5AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	30	23-03D1AN	<i>A. foetidus</i>
Erbeyli	4	11-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	Germencik	31	26-03D2AN	<i>A. carbonarius</i>
Erbeyli	5	16-03X2AN	<i>A. niger</i> agg.	Germencik	32	26-03D5AN	<i>A. niger</i> agg.
Erbeyli	6	16-03X5AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	33	27-03D2AN	<i>A. foetidus</i>
Erbeyli	7	16-03M2AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	34	27-03D3AN	<i>A. foetidus</i>
Erbeyli	8	19-03M3AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	35	27-03M1AN	<i>A. niger</i> agg.
Erbeyli	9	19-03D7AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	36	53-03X6AN	<i>A. niger</i> agg.
Erbeyli	10	58-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	Germencik	37	56-03X2AN	<i>A. niger</i> agg.
Erbeyli	11	58-03D4AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	38	56-03M2AN	<i>A. foetidus</i>
Erbeyli	12	60-03D2AN	<i>A. awamori</i>	Germencik	39	57-03X5AN	<i>A. foetidus</i>
Erbeyli	13	64-03D1AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	40	57-03M2AN	<i>A. niger</i> agg.
Erbeyli	14	14-04D3AN	<i>A. niger</i> agg.	Germencik	41	57-03D1AN	<i>A. carbonarius</i>
Erbeyli	15	14-04M2AN	<i>A. niger</i> agg.	Germencik	42	59-03D2AN	<i>A. foetidus</i>
Erbeyli	16	24-04X1AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	43	62-03M1AN	<i>A. niger</i> agg.
Germencik	17	1-03Y1AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	44	63-03X1AN	<i>A. niger</i> agg.
Germencik	18	1-03D6AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	45	65-03D6AN	<i>A. foetidus</i>
Germencik	19	3-03D8AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	46	65-03D9AN	<i>A. carbonarius</i>
Germencik	20	4-03D5AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	47	65-03X2AN	<i>A. niger</i> agg.
Germencik	21	4-03D6AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	48	1-04D1AN	<i>A. carbonarius</i>
Germencik	22	6-03D7AN	<i>A. awamori</i>	Germencik	49	1-04D3AN	<i>A. niger</i> agg.
Germencik	23	7-03D1AN	<i>A. niger</i> agg.	Germencik	50	1-04D6AN	<i>A. awamori</i>
Germencik	24	12-03D3AN	<i>A. niger</i> agg.	Germencik	51	2-04M2AN	<i>A. awamori</i>
Germencik	25	12-03D7AN	<i>A. niger</i> agg.	Germencik	52	3-04M6AN	<i>A. foetidus</i>
Germencik	26	13-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	Germencik	53	8-04X2AN	<i>A. niger</i> agg.
Germencik	27	17-03D1AN	<i>A. foetidus</i>	Germencik	54	8-04D2AN	<i>A. carbonarius</i>

Çizelge 3.1 : *Aspergillus* section *Nigri* üyesi küfler ve küflerin izole edildikleri incir örneklerinin temin edildiği bölgeler (devam).

Bölge	No	İzolat kodu	Tür	Bölge	No	İzolat kodu	Tür
Germencik	55	8-04D3AN	<i>A. foetidus</i>	Ortaklar	95	52-03X1AN	<i>A. niger</i> agg.
Germencik	56	9-04X2AN	<i>A. foetidus</i>	Ortaklar	96	7-04D1AN	<i>A. niger</i> agg.
Germencik	57	9-04d1AN	<i>A. carbonarius</i>	Ortaklar	97	26-04D3AN	<i>A. niger</i> agg.
Germencik	58	10-04D1AN	<i>A. niger</i> agg.	Ortaklar	98	34-04M1AN	<i>A. niger</i> agg.
Germencik	59	11-04X1AN	<i>A. foetidus</i>	Ortaklar	99	43-04D8AN	<i>A. niger</i> agg.
Germencik	60	17-04D2AN	<i>A. niger</i> agg.	Selçuk	100	24-03X2AN	<i>A. foetidus</i>
Germencik	61	22-04D3AN	<i>A. niger</i> agg.	Selçuk	101	31-03D2AN	<i>A. foetidus</i>
Germencik	62	30-04X1AN	<i>A. niger</i> agg.	Selçuk	102	32-03D8AN	<i>A. foetidus</i>
Germencik	63	30-04D3AN	<i>A. foetidus</i>	Selçuk	103	33-03D1 AN	<i>A. niger</i> agg.
Germencik	64	32-04D1AN	<i>A. niger</i> agg.	Selçuk	104	35-03X1AN	<i>A. carbonarius</i>
İncirlioğa	65	9-03Y1AN	<i>A. carbonarius</i>	Selçuk	105	35-03X2 AN	<i>A. foetidus</i>
İncirlioğa	66	9-03Y2AN	<i>A. aculeatus</i>	Selçuk	106	40-03D4AN	<i>A. foetidus</i>
İncirlioğa	67	9-03X4AN	<i>A. niger</i> agg.	Selçuk	107	43-03D5AN	<i>A. carbonarius</i>
İncirlioğa	68	9-03D4AN	<i>A. niger</i> agg.	Selçuk	108	48-03D1AN	<i>A. niger</i> agg.
İncirlioğa	69	10-03X6AN	<i>A. foetidus</i>	Selçuk	109	49-03D3AN	<i>A. niger</i> agg.
İncirlioğa	70	10-03D1AN	<i>A. niger</i> agg.	Selçuk	110	49-03D4AN	<i>A. awamori</i>
İncirlioğa	71	14-03D5AN	<i>A. foetidus</i>	Selçuk	111	51-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.
İncirlioğa	72	15-03D2AN	<i>A. foetidus</i>	Selçuk	112	69-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.
İncirlioğa	73	20-03D3AN	<i>A. niger</i> agg.	Selçuk	113	12-04D3AN	<i>A. niger</i> agg.
İncirlioğa	74	29-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	Selçuk	114	18-04D2AN	<i>A. carbonarius</i>
İncirlioğa	75	54-03D3AN	<i>A. niger</i> agg.	Söke	115	21-03D10AN	<i>A. awamori</i>
İncirlioğa	76	55-03X1AN	<i>A. niger</i> agg.	Söke	116	25-03D2AN	<i>A. foetidus</i>
İncirlioğa	77	68-03M1AN	<i>A. foetidus</i>	Söke	117	38-03X1AN	<i>A. niger</i> agg.
İncirlioğa	78	20-04D3AN	<i>A. awamori</i>	Söke	118	39-03MAN	<i>A. niger</i> agg.
İncirlioğa	79	20-04D4AN	<i>A. foetidus</i>	Söke	119	46-03D1AN	<i>A. niger</i> agg.
İncirlioğa	80	20-04X1AN	<i>A. niger</i> agg.	Söke	120	46-03D2AN	<i>A. carbonarius</i>
İncirlioğa	81	20-04X2AN	<i>A. carbonarius</i>	Söke	121	61-03X3AN	<i>A. niger</i> agg.
İncirlioğa	82	35-04D1AN	<i>A. niger</i> agg.	Söke	122	19-04X1AN	<i>A. foetidus</i>
İncirlioğa	83	40-04D2AN	<i>A. carbonarius</i>	Söke	123	23-04D1AN	<i>A. carbonarius</i>
Ortaklar	84	28-03D3AN	<i>A. awamori</i>	Söke	124	23-04M1AN	<i>A. niger</i> agg.
Ortaklar	85	28-03X1AN	<i>A. niger</i> agg.	Söke	125	39-04X2AN	<i>A. niger</i> agg.
Ortaklar	86	30-03D3AN	<i>A. foetidus</i>	Söke	126	39-04X3AN	<i>A. niger</i> agg.
Ortaklar	87	34-03M1AN	<i>A. niger</i> agg.	Söke	127	39-04X4AN	<i>A. carbonarius</i>
Ortaklar	88	34-03X2AN	<i>A. foetidus</i>	Torbalı	128	70-03X4AN	<i>A. niger</i> agg.
Ortaklar	89	36-03D5AN	<i>A. niger</i> agg.	Torbalı	129	71-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.
Ortaklar	90	36-03X2AN	<i>A. foetidus</i>	Torbalı	130	71-03D5AN	<i>A. niger</i> agg.
Ortaklar	91	41-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	Torbalı	131	4-04M3AN	<i>A. foetidus</i>
Ortaklar	92	41-03D3AN	<i>A. niger</i> agg.	Torbalı	132	21-04D1AN	<i>A. carbonarius</i>
Ortaklar	93	47-03D1AN	<i>A. niger</i> agg.	Torbalı	133	21-04X2AN	<i>A. foetidus</i>
Ortaklar	94	50-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.				

3.2 Kuru İncir Örneklerinden İzole Edilen Küf İzolatlarının Geliştirilmesi ve Ekstraksiyonu

Mikotoksin analizlerini gerçekleştirmek amacıyla küf izolatları yatık malt ekstrakt agar (MEA) besiyerine alınarak 25°C’de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Tween 80 çözeltisi kullanılarak her bir izolatın, 10⁶ spor/ml konsantrasyonunda spor

süspansiyonu hazırlanmıştır. Fumonisin analizi için izolatların spor süspansiyonundan, Czapek yeast 20% sukroz agar (CY20S) besiyerine, okratoksin A analizi için ise Czapek yeast agar (CYA) besiyerine üç nokta ekimleri yapılmıştır. Fumonisin analizi için CY20S besiyerleri 25°C’de 7 gün, okratoksin A analizi için CYA besiyerleri 25°C’de 10 gün inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonunda kolonilerin merkezinden üç adet agar plug ependorf tüpüne alınarak izolatlar 750 µl metanol:su (75:25, v/v) ile 30 sn vorteksde ve 50 dak mekanik çalkalayıcıda ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlar 0.45 µm şırınga ucu filtreden süzölmüştür.

3.3 Kuru İncir Örneklerinden İzole Edilen Küflerin Mikotoksin Üretme Kapasitelerinin Belirlenmesi

Çalışma kapsamında izole edilen *Aspergillus section Nigri* üyesi küfler fumonisin B₁, B₂ ve B₃ oluşturma kapasiteleri ve fumonisin oluşturma potansiyeline sahip izolatların okratoksin A oluşturma özellikleri yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile araştırılmıştır.

3.4 Fumonisin Üreticisi İzolatların Kuru İncir Ortamına İnokülasyonu ve Ekstraksiyonu

3.4.1 Örneklerin hazırlanması

Kültür ortamında fumonisin B₂ üretme potansiyeline sahip *Aspergillus section Nigri* izolatlarının kuru incir ortamında fumonisin ve okratoksin A üretme kapasiteleri incelenmiştir. Kuru incir örnekleri ışınlama uygulaması ile steril hale getirilmiştir ve örneklerin su aktivitesi 0.90 olarak ayarlanmıştır. Herbir petride 12.5 g incir olacak şekilde, incirler petri kutularına alınmıştır. Tween 80 çözeltisi kullanılarak fumonisin B₂ üretme potansiyeline sahip her bir izolatın 10⁷ spor/ml konsantrasyonunda spor süspansiyonu hazırlanmış ve izolatlar incirlere inokule edilmiştir. Fumonisin üretimi açısından incelenecek örnekler 25°C’de 7 gün, OTA analizi için incelenecek örnekler 15°C’de 1 gün ve 10 gün, 25 ve 30°C’de 10 gün inkübasyona bırakılmıştır. Örnekler, %100 bağıl nemde plastik kutularda ve karanlıkta inkübe edilmiştir.

3.4.2 İmmunoaffinite kolonla saflaştırma ile OTA ekstraksiyonu

Örneklerden OTA ekstraksiyonu için analitik veya HPLC saflığında kimyasal maddeler kullanılmıştır. Immunoaffinite kolonları (ochratest) VICAM firmasından (VICAM, İstanbul) temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılacak % 0.01 Tween 20 içeren fosfat çözeltisi (PBS-% 0.01 Tween 20) hazırlamak amacıyla 8 g sodyumklorür, 1.2 g susuz disodyum hidrojen fosfat, 0.2 g susuz potasyum dihidrojen fosfat ve 0.2 g potasyum klorür 900 mL distile suda çözülmüştür. Çözeltinin pH'ı HCl veya NaOH kullanılarak 7.4'e ayarlanmıştır. 0.1 mL Tween 20 ilave edildikten sonra çözelti hacmi distile su kullanılarak 1 L'ye tamamlanmıştır.

12.5±0.2 g örnek, 25 mL metanol ve 5 mL 0.1 M orto-fosforik asit ile karıştırıcıda (Waring Blender) 3 dak. süreyle yüksek hızda ekstrakte edilmiştir. Ekstrakt, Whatmann No:4 filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiştir ve 12 mL filtrat alınmıştır. 12 ml filtrat PBS-%0.01 Tween 20 çözeltisi kullanılarak 100 mL'ye seyreltilmiştir. Seyreltilmiş ekstrakt ochratest immunoaffinite kolonundan 1-2 damla/sn hızda geçirilerek saflaştırılmıştır. Kolon daha sonra sırasıyla 10 mL PBS-%0.01 Tween 20 ve 10 mL distile su ile yıkanmıştır. Kolon hava geçirilerek kurutulmuştur. Okratoksin A, kolondan 2 kez 0.5 mL metanol geçirilerek alınmıştır. Eluat 30°C' de su banyosunda azot altında kuruluğa kadar buharlaştırılmıştır. Kalıntı, 1 mL metanol:su (3:1) çözeltisi kullanılarak çözüldükten sonra HPLC'ye enjekte edilmiştir.

3.4.3 İmmunoaffinite kolonla saflaştırma ile fumonisin ekstraksiyonu

Örneklerden fumonisin ekstraksiyonu için analitik veya HPLC saflığında kimyasal maddeler kullanılmıştır. Immunoaffinite kolonları (fumonitest) VICAM firmasından temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılacak fosfat çözeltisini (PBS) hazırlamak amacıyla 8 g sodyum klorür, 1.2 g susuz disodyum hidrojen fosfat, 0.2 g susuz potasyum dihidrojen fosfat ve 0.2 g potasyum klorür 900 mL distile suda çözülmüştür. Çözeltinin pH'ı HCl veya NaOH kullanılarak 7.4'e ayarlanmış ve distile su ile çözeltinin hacmi 1 litreye tamamlanmıştır.

12.5±0.2 g örnek, 25 mL metanol ve 1.25 g sodyum klorür ile karıştırıcıda (Waring Blender) 5 dak. süreyle yüksek hızda ekstrakte edilmiştir. Ekstrakt, Whatmann No:4

filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiştir ve 10 mL filtrat alınmıştır. 10 ml filtrat 40 mL PBS kullanılarak seyreltilmiştir. Seyreltilmiş ekstrakt fumonit test immunoaffinite kolonundan 1-2 damla/sn hızda geçirilerek saflaştırılmıştır. Kolon daha sonra 10 mL PBS su ile yıkanmıştır. Kolon hava geçirilerek kurutulmuştur. Fumonisin, kolondan 1.5 mL metanol geçirilerek alınmıştır. Eluat 30°C’de su banyosunda azot altında kuruluğa kadar buharlaştırılmıştır. Kalıntı, 200 µL metanol:su (1:1) çözeltisi kullanılarak çözüldükten sonra HPLC’ye enjekte edilmiştir.

3.5 Küf İzolatlarının Fumonisin Tayini

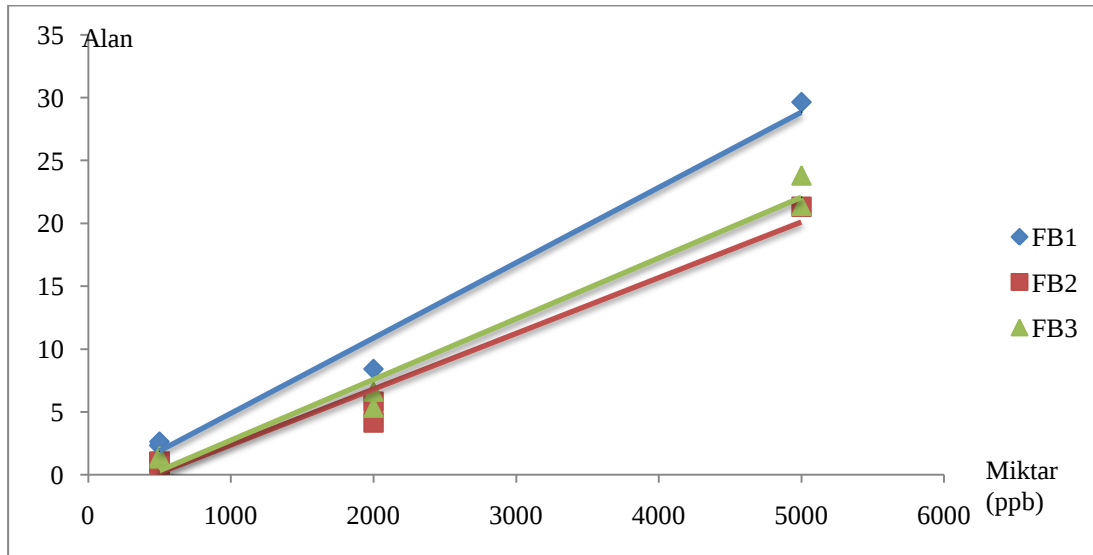
HPLC yöntemi kullanılarak *Aspergillus section Nigri* izolatlarının fumonisin üretme kapasiteleri belirlenmiştir. AOAC 995.15’ de belirtilen koşullarda HPLC analizi uygulanmıştır (AOAC, 2000). HPLC ile fumonisin analizi dörtlü çözgen dağıtım sistemi, 20 µl’ lik döngü içeren Rheodyne enjeksiyon sistemi, floresans dedektör (λ_{ex} : 335 nm; λ_{em} : 440 nm), degasser ünitesi içeren Agilent 1100 HPLC sistemi kullanılarak ortofital aldehit (OPA) reaktifi ile türevlendirme sonrası gerçekleştirilmiştir. Fumonisin ayrımı, oda sıcaklığında ODS- C18 Hypersil 250 mmx4.6 mm, 5 µm partikül çaplı ters faz kolonda 1ml/dakika akış hızında gerçekleştirilmiştir. Analizde, mobil faz olarak o- fosforik asitle pH’ı 3.35’e ayarlanmış 0,1 M NaH₂PO₄: 2H₂O (77:23, v/v) kullanılmıştır. Mobil faz kullanılmadan önce sartolon 25006-47-N (0,45 µm) filtreden süzölmüş ve ultrasonik su banyosunda 2 dak süresince degassing işlemi uygulanmıştır. Fumonisin B₁, B₂ ve B₃ için kolonda alıkonma süreleri sırasıyla yaklaşık olarak 7, 14 ve 13 dakikadır. Fumonisin için geri kazanım ve belirleme limiti Bragulat ve diğ. (2001) tarafından belirlenen yöntemle göre yapılmıştır.

3.5.1 Fumonisin B₁, B₂ ve B₃ standartlarının hazırlanması

Sıvı haldeki 488,3 µl fumonisin B₁, B₂ (fumonisin mix solution, OKENAL) ve 492,1 µl fumonisin B₃ standardı (Romer Labs-S02007-1ml) asetonitril:su (50:50) çözeltisi ilave edilerek 50 µg/ml konsantrasyonunda fumonisin B₁, B₂, B₃ stok çözeltisi (1. aşama) hazırlanmıştır. Elde edilen stok çözeltiden seyreltme yöntemi ile 0.25; 1.25; 5; 20 ve 50 µg/ml konsantrasyonunda kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır (Çizelge 3.2). Fumonisin analizi için oluşturulan kalibrasyon grafiği şekil 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 : Fumonisin kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması.

Kalibrasyon çözeltilerinin konsantrasyonu (µg/ml)	1.aşama standarttan alınan mikotoksin çözeltileri miktarı (µl)	İlave edilen solvent (asetonitril:su) miktarı (µl)
0.25	25	4975
1.25	125	4875
5	500	4500
20	2000	3000
50	5000	-



Şekil 3.1 : Fumonisin kalibrasyon grafiği.

3.5.2 Fumonisin B₁, B₂ ve B₃ analizi HPLC koşulları

HPLC ile fumonisin analizi OPA reaktifi ile türevlendirmeyeyle gerçekleştirilmiştir. OPA reaktifinin hazırlanması için, 40 mg ortofital aldehit 1 ml metanolde çözüldükten sonra 0,1 M Na₂BO₄O₇.10H₂O ile 5 ml' ye tamamlanmıştır. Karışıma 50 µl 2- merkaptetanol ilave edilerek kahverengi renkli şişede saklanmıştır. OPA reaktifi oda koşullarında bir hafta süreyle kullanılabilir. Metanolde çözülmüş kalıntıdan 50 µl alınarak 50 µl OPA reaktifi ilave edilerek vortekste karıştırılmış ve 2 dak içerisinde HPLC'ye enjekte edilmiştir.

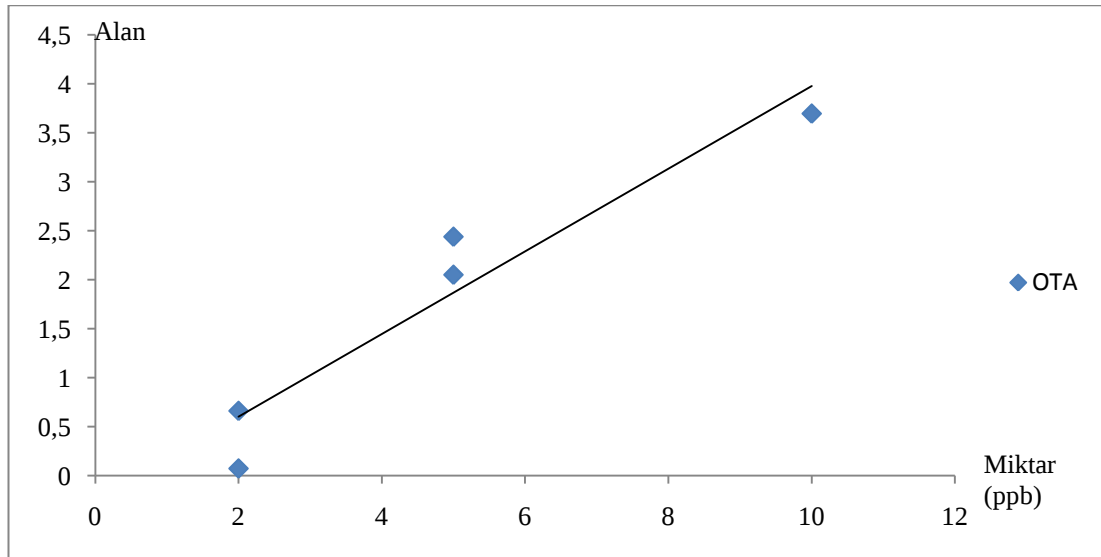
3.6 Küf İzolatlarının Okratoksin A Tayini

Toz haldeki OTA (Sigma Aldrich O1877, $\geq$ %98 saflıkta) standardına toluen:asetik asit (99:1, v/v) ilave edilerek 29,25 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda OTA stok çözeltisi (1. aşama standart) hazırlanmıştır.

Stok çözeltiden 2,5 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonunda toluen:asetik asitte (99:1, v/v) 2. aşama standart çözeltisi hazırlanmıştır. Çalışma standardı (3. aşama) 0.5 ml 2.aşama standart çözeltisinin azot altında kurutulması ile hazırlanmıştır. Kurutulan standart, 1-2 ml mobil faz (asetonitril:su:asetik asit, 99:99:2, v/v/v) kullanılarak çözülmüştür ve 5 ml ye tamamlanmıştır. Böylece 0.25 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda çalışma çözeltisi elde edilmiştir. Elde edilen çalışma çözeltisinden 2, 5, 8, 10 ve 30 ng/ml konsantrasyonunda kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır (Çizelge 3.3). Okratoksin A analizi için oluşturulan kalibrasyon grafiği şekil 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3 : Okratoksin A kalibrasyon çözeltilerinin hazırlanması.

Kalibrasyon çözeltisinin konsantrasyonu (ng/ml)	Çalışma standardından alınan mikotoksin çözeltisi miktarı(μl)	İlave edilen solvent (asetonitril:su:asetik asit) miktarı (μl)
2.0	40	4960
5.0	100	4900
8.0	160	4840
10.0	200	4840
30.0	600	4400



Şekil 3.2 : Okratoksin A kalibrasyon grafiği

3.6.1 Okratoksin A analizi HPLC koşulları

HPLC ile okratoksin A analizi dörtlü çözgen dağıtım sistemi, 20 µl' lik döngü içeren Rheodyne enjeksiyon sistemi, floresans dedektör (λ_{ex} : 335 nm; λ_{em} : 440 nm), degasser ünitesi içeren Agilent 1100 HPLC sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Okratoksin A ayrımı, oda sıcaklığında ODS-C18 Hypersil 250 mmx4.6 mm, 5 µm partikül çaplı ters faz kolonda 1ml/dakika akış hızında gerçekleştirilmiştir. Analizde, mobil faz olarak asetonitril:su:asetik asit (99:99:2, v/v/v) kullanılmıştır. Mobil faz kullanılmadan önce sartolon 25006-47-N (0.45 µm) filtreden süzölmüş ve ultrasonik su banyosunda 2 dakika süresince degassing işlemi uygulanmıştır. Okratoksin A analizi için kolonda alıkonma süresi yaklaşık olarak 8 dakikadır.

3.6.2 Okratoksin A varlığının doğrulanması

Okratoksin A varlığı, Iamanaka ve diğ. (2006) tarafından belirtilen boronthioflorür-metanol kompleksi (BF₃-metanol) kullanarak, OTA metil esterleri oluşturulması sonucu HPLC' de standart çözeltisi ve örneğin kromatogramlarının karşılaştırılması ile gerçekleştirilmiştir.

Örnek ve standart çözeltisinden 200 µl alınarak azot altında kurutulmuştur ve 300 µL BF₃-metanol kompleksinde çözödürölmüştür. Kalıntı OTA 1 ml mobil faz solventinde çözöldükten sonra HPLC'ye enjekte edilmiştir. Standart türevinin enjeksiyonu sonucunda, 8±0,2 dakikada oluşşan OTA piki kaybolmakta ve 19±0,2 dakikada yeni bir pik ortaya çıkmaktadır. Örneklerde OTA bulunması durumunda, standart türevi ile aynı alıkonma sürelerinde örnekte OTA piki kaybolmakta ve yeni bir pik oluşşmaktadır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Kuru İncirden İzole Edilen *Aspergillus section Nigri* Üyelerinin Fumonisin Üretme Potansiyelleri

İncir örneklerinden izole edilen *Aspergillus section Nigri* üyelerinin fumonisin B₁, B₂ ve B₃ oluşturma özellikleri HPLC cihazı ile incelenmiştir ve fumonisin üreten *Aspergillus section Nigri* üyesi izolatlar ve izolatların ürettikleri fumonisin miktarları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1: *Aspergillus section Nigri* üyelerinin fumonisin oluşturma potansiyelleri.

İzolat kodu	Tür	FB ₁ µg/g	FB ₂ µg/g	FB ₃ µg/g	İzolat kodu	Tür	FB ₁ µg/g	FB ₂ µg/g	FB ₃ µg/g
8-03X4AN	<i>A. niger</i> agg.	- ¹	-	-	17-03D6AN	<i>A. foetidus</i>	-	63.57	-
8-03D3AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	18-03M5AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
8-03D5AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	23-03D1AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
11-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	26-03D2AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-
16-03X2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	26-03D5AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
16-03X5AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	27-03D2AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
16-03M2AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	27-03D3AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
19-03M3AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	27-03M1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
19-03D7AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	53-03X6AN	<i>A. niger</i> agg.	-	400.91	-
58-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	56-03X2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
58-03D4AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	56-03M2AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
60-03D2AN	<i>A. awamori</i>	-	-	-	57-03X5AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
64-03D1AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	57-03M2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
14-04D3AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	57-03D1AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-
14-04M2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	59-03D2AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
24-04X1AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	62-03M1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
1-03Y1AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	63-03X1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
1-03D6AN	<i>A. foetidus</i>	-	80.94	-	65-03D6AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
3-03D8AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	65-03D9AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-
4-03D5AN	<i>A. foetidus</i>	-	4.75	-	65-03X2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
4-03D6AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	1-04D1AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-
6-03D7AN	<i>A. awamori</i>	-	58.42	-	1-04D3AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
7-03D1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	1-04D6AN	<i>A. awamori</i>	-	-	-
12-03D3AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	2-04M2AN	<i>A. awamori</i>	-	-	-
12-03D7AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	3-04M6AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
13-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	8-04X2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
17-03D1AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	8-04D2AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-

Çizelge 4.1: *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin fumonisin oluşturma potansiyelleri (devam).

İzolat kodu	Tür	FB ₁ µg/g	FB ₂ µg/g	FB ₃ µg/g	İzolat kodu	Tür	FB ₁ µg/g	FB ₂ µg/g	FB ₃ µg/g
8-04D3AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	52-03X1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
9-04X2AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	7-04D1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	111.52	-
9-04D1AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-	26-04D3AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
10-04D1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	34-04M1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
11-04X1AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	43-04D8AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
17-04D2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	90.85	-	24-03X2AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
22-04D3AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	31-03D2AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
30-04X1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	32-03D8AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
30-04D3AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	33-03D1 AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
32-04D1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	35-03X1AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-
9-03Y1AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-	35-03X2 AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
9-03Y2AN	<i>A. aculeatus</i>	-	-	-	40-03D4AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
9-03X4AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	43-03D5AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-
9-03D4AN	<i>A. niger</i> agg.	-	85.13	-	48-03D1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
10-03X6AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	49-03D3AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
10-03D1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	49-03D4AN	<i>A. awamori</i>	-	307.94	-
14-03D5AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	51-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
15-03D2AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	69-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
20-03D3AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	12-04D3AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
29-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	18-04D2AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-
54-03D3AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	21-03D10AN	<i>A. awamori</i>	-	-	-
55-03X1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	25-03D2AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
68-03M1AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	38-03X1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
20-04D3AN	<i>A. awamori</i>	-	-	-	39-03MAN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
20-04D4AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	46-03D1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
20-04X1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	46-03D2AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-
20-04X2AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-	61-03X3AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
35-04D1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	19-04X1AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
40-04D2AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-	23-04D1AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-
28-03D3AN	<i>A. awamori</i>	-	-	-	23-04M1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
28-03X1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	39-04X2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
30-03D3AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	39-04X3AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
34-03M1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	39-04X4AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-
34-03X2AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	70-03X4AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
36-03D5AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	71-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
36-03X2AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-	71-03D5AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-
41-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	4-04M3AN	<i>A. foetidus</i>	-	-	-
41-03D3AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	21-04D1AN	<i>A. carbonarius</i>	-	-	-
47-03D1AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-	21-04X2AN	<i>A. foetidus</i>	-	242	-
50-03D2AN	<i>A. niger</i> agg.	-	-	-					

⁻¹ : Mikotoksin belirlenmemiştir.

Çalışma kapsamında 133 adet *Aspergillus* section *Nigri* üyesi izolatının fumonisin üretme potansiyeli incelenmiştir. İzolatların % 7.5'inin (10 adet) Czapek yeast 20% sukroz agar besiyerinde fumonisin B₂ ürettikleri belirlenmiştir. İncelenen izolatların hiçbirisi fumonisin B₁ ve B₃ üretmemiştir. İzolatların ürettikleri en düşük toksin

miktarı 4.75 µg/g (*A. foetidus*), en yüksek miktar ise 400.91 µg/g (*A. niger* agg.) olarak belirlenmiştir.

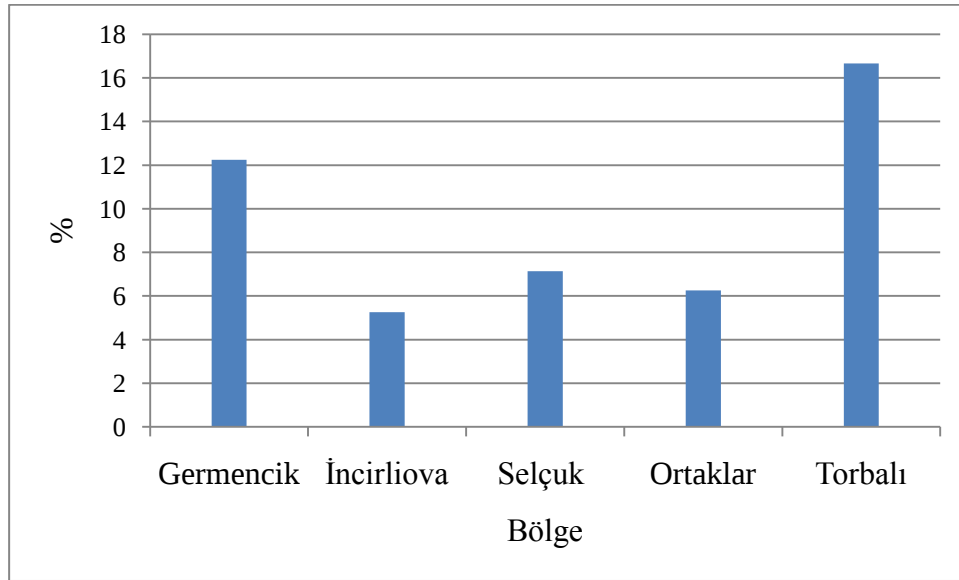
Kuru incir örneklerinden izole edilen *Aspergillus* section *Nigri* üyesi izolatların toksin oluşturma sıklıkları (%7.5) ve üretilen toksin miktarları, literatür incelemesinde elde edilen bulgulardan farklılık göstermektedir. Noonim ve diğ. (2009) kahve çekirdeklerinden izole edilen *Aspergillus* section *Nigri* üyesi 82 izolattan % 15.86'sının fumonisin B₂ üretebildiğini bildirmiştir (Noonim ve diğ., 2009). Üzümden izole edilen 31 izolattan %12.9' unun (Logrieco ve diğ., 2009), kuru üzümünden izole edilen 86 izolattan %58.14' ünün (Mogensen ve diğ., 2010) fumonisin B₂ üretme kapasitesinde olduğu bildirilmiştir. Kuru incirden izole edilen *Aspergillus* section *Nigri* suşlarının fumonisin oluşturma oranının (% 7.5) üzüm, kuru üzüm ve kahve örneklerinden izole edilen *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinden daha düşük olduğu görülmektedir.

Aspergillus section *Nigri* üyelerinin toksin üretim miktarları incelendiğinde üzümünden izole edilen izolatların 29-293 µg/g fumonisin ürettiği bildirilmiştir (Logrieco ve diğ., 2009). Kuru üzümünden izole edilen ve fumonisin B₂ üretim miktarı yüksek 10 adet suşun üzüme inokülasyonu sonucunda üzümlerde 171-7841 µg/kg düzeyinde FB₂ oluştuğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada fumonisin üretim potansiyelleri yüksek 4 adet suşun kuru üzüme inokülasyonu sonucunda da kuru üzümlerde 5- 6476 µg/kg düzeyinde FB₂ bulunduğu belirlenmiştir (Mogensen ve diğ., 2009). Çalışmamızda kuru incirlerden izole edilen *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin oluşturdıkları toksin miktarının (4.75-400.91 µg/kg) üzüm izolatlarının toksin üretme potansiyelleri ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Heperkan (2006), incirlerde *Aspergillus* section *Nigri* kontaminasyonunun kurutma aşamasında % 75, depolama aşamasında ise % 100 olduğunu belirtmiştir. Kuru incirlerde *Aspergillus* section *Nigri* kontaminasyonu yüksek olmasına rağmen, izolatların fumonisin oluşturma sıklığı ve fumonisin B₂ üretme kapasitesi düşüktür. Moretti ve diğ. (2010) tarafından incirlerde yapılan çalışmada, incir örneklerinden izole edilen 69 *F. ramigenum* suşundan 44 adedinin 0.1-655 mg/kg düzeyinde FB₂ ürettiği belirlenmiştir. Bu durumda incirlerde, *F. ramigenum* kontaminasyonuna ek olarak *Aspergillus* section *Nigri* kontaminasyonunun incirleri FB₂ oluşumu açısından riskli hale getireceği düşünülmektedir. Kuru incirlerde yapılan bir diğer çalışmada, *Fusarium* spp. kontaminasyonun sıklığının yüksek olduğu ve incir örneklerinin

0.046-3.649 $\mu\text{g/g}$ FB₁ ile kontamine olduğu belirlenmiştir (Karbancıoğlu-Güler ve Heperkan, 2008). Tez çalışması kapsamında incelenen 133 adet *Aspergillus* section *Nigri* izolatlarının hiçbirisinin FB₁ oluşturmadığı belirlenmiştir. Bu durumda, kuru incirlerde fumonisin B₁ üretiminin ana kaynağının *Fusarium* spp. olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda *Aspergillus* section *Nigri* izolatlarının FB₁' e ilave olarak FB₃ de oluşturmadığı belirlenmiştir. Kuru incirde fumonisin B₃ varlığına ait bir çalışma bulunmadığından bu konuda bir değerlendirme yapılamamıştır.

Örneklerin alındığı bölgelerden (Germencik, Erbeyli, İncirliova, Söke, Selçuk, Ortaklar, Torbalı) Erbeyli ve Söke bölgesine ait incirlerden izole edilen *Aspergillus* section *Nigri* üyesi küflerde fumonisin oluşumu belirlenmemiştir. Şekil 6.1'de bölgelere göre fumonisin oluşturan *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin dağılımı verilmiştir.



Şekil 4.1: Bölgelere göre fumonisin üreten *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin oranı (%)

Germencik bölgesinde yetiştirilen kuru incirlerden izole edilen 49 izolattan 6, İncirliova bölgesine ait 19 izolattan 1, Selçuk bölgesine ait 14 izolattan 1, Ortaklar bölgesine ait 16 izolattan 1 ve Torbalı bölgesine ait 6 izolattan 1 adedinin fumonisin B₂ oluşturduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak Torbalı bölgesinden temin edilen kuru incirlerden izole edilen *Aspergillus* section *Nigri* üyesi küflerin toksin oluşturma sıklığı, diğer bölgelere göre daha fazladır. En yüksek toksin içeriği, Germencik bölgesine ait izolatta 400.91 $\mu\text{g/g}$ belirlenmiştir.

4.2 Fumonisin B₂ Üreticisi *Aspergillus section Nigri* Üyeleri

Çalışma kapsamında, *A. niger* agg., *A. foetidus*, *A. carbonarius*, *A. awamori* ve *A. aculeatus* olmak üzere *Aspergillus section Nigri* üyesi beş tür; FB₁, FB₂ ve FB₃ üretimleri açısından değerlendirilmiştir. *A. niger* agg., *A. foetidus* ve *A. awamori* izolatlarının fumonisin B₂ üretme potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.2’de kuru incirden izole edilen *Aspergillus section Nigri* üyesine ait küf türlerinin dağılımı ve fumonisin üretme potansiyeli verilmiştir.

Çizelge 4.2 : *Aspergillus section Nigri* üyelerinin dağılımı ve fumonisin üretme potansiyeli.

Küf Türü	Fumonisin B ₂ Üretimi	
	Pozitif suş	Fumonisin B ₂ üretim miktarı (µg/g)
<i>A. niger</i> agg.	4/63	85.13- 400.91
<i>A. foetidus</i>	4/45	4.75- 242
<i>A. awamori</i>	2/8	58.42- 307.94
<i>A. carbonarius</i>	0/14	- ¹
<i>A. aculeatus</i>	0/2	-

¹: FB₂ varlığı belirlenmemiştir.

Kuru incirden izole edilen *A. niger* agg. izolatlarının % 6.35’ i, *A. foetidus* izolatlarının %8.88’ i ve *A. awamori* izolatlarının % 25’ i fumonisin B₂ üretme potansiyelindedir. Literatürde üzüm, kahve çekirdeği ve kuru üzümünden izole edilen *Aspergillus section Nigri* üyelerinden sadece *A. niger*’in fumonisin B₂ oluşturma kapasitesine sahip olduğu bildirilmiştir (Noonim ve diğ., 2009; Logrieco ve diğ.,2009; Mogensen ve diğ., 2010). Bu çalışma ile ilk kez *A. foetidus* ve *A. awamori* suşlarının fumonisin B₂ üretme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir.

Kurutma aşamasında toplanan incirlerden izole edilen *Aspergillus section Nigri* izolatlarının % 65.2’sinin *A. niger* agg., % 39’unun *A. foetidus*, % 8.7’sinin *A. awamori* olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan *A. carbonarius* ve *A. aculeatus* kontaminasyon sıklığının sırasıyla % 21.7 ve % 1.7 olduğu bildirilmiştir (Karbancıoğlu-Güler, 2008a). Bu durumda *A. niger* agg., *A. awamori*, *A. foetidus* türüne ait küflerin kuru incirde bulunma sıklığının yüksek olabileceği görülmektedir. Söz konusu bu türlerin fumonisin üretme yeteneğine sahip olması kuru incirde *Aspergillus section Nigri* kaynaklı fumonisin oluşumu açısından risk teşkil edebilir.

4.3 Fumonisin B₂ Üreticisi *Aspergillus section Nigri* Üyelerinin Kuru İncir Ortamında Mikotoksin Üretme Potansiyelleri

Fumonisin üreten *Aspergillus section Nigri* üyesi izolatların kuru incir ortamında fumonisin ve okratoksin A üretme potansiyeli incelenmiştir ve izolatların ürettikleri mikotoksin miktarları Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3 : *Aspergillus section Nigri* üyelerinin kuru incir ortamında mikotoksin oluşturma potansiyelleri.

Küf Türü	Fumonisin (µg/g)			OTA (µg/g)
	FB ₁	FB ₂	FB ₃	
<i>A. awamori</i> (n=2)				
49-03D4AN	- ¹	25.70	-	-
6-03D7AN	-	37.27	-	-
<i>A. foetidus</i> (n=4)				
21-04X2	-	40.10	-	-
1-03D6AN	-	32.02	-	-
17-03D6AN	-	44.98	-	-
4-03D5AN	-	42.20	-	-
<i>A. niger</i> agg. (n=4)				
53-03X6AN	-	48.61	-	-
7-04D1AN	-	44.72	-	-
17-04D2AN	-	42.40	-	-
9-03D4AN	-	41.89	-	-

Çalışma kapsamında kültür ortamında fumonisin B₂ üretme kapasitesine sahip 10 adet *Aspergillus section Nigri* üyesi izolat, a_w değeri 0.90 olarak ayarlanan kuru incir ortamında 25°C sıcaklıkta fumonisin, 15°C; 25°C ve 30 °C sıcaklıkta okratoksin A üretme potansiyelleri açısından incelenmiştir. İncelenen izolatların tümü, kuru incir ortamında 25.70-48.61 µg/g aralığında fumonisin B₂ üretmiştir. İzolatların hiçbiri fumonisin B₁, B₃ ve OTA üretmemiştir.

Ortam bileşimi, toksijenik küflerin mikotoksin üretmesindeki önemli etkenlerden biridir (Selouane ve diğ., 2009). *Aspergillus niger* suşlarının fumonisin üretmesine etkili olan koşulların incelendiği çalışmalarda, yüksek şeker içeriğine sahip ortamların *A. niger* suşlarının fumonisin üretimini teşvik ettiği belirtilmiştir (Frisvad ve diğ., 2007; Mogensen ve diğ., 2009). Kuru incirin de yüksek şeker içeriğine (%55-69) sahip olduğu bilinmektedir (Tous ve Ferguson, 1996; Anonim, 2007). Bu özelliği ile kuru incir, *Aspergillus section Nigri* suşlarının fumonisin üretimi için

uygun bir substrat olabilir. Çalışmamızda da, *Aspergillus* section *Nigri* üyesi izolatların kuru incir ortamında fumonisin B₂ üretebildiği belirlenmiştir.

Heperkan (1989), kuru incirlerin su aktivitesinin ağaçta, olgun meyvede, kurutma aşamasında ve depolarda sırasıyla 0,88-0,94; 0,76-0,87; 0,74-0,80 ve 0,69-0,71 olduğunu belirtmiştir. İncirde kurutma ile beraber şeker daha konsantre hale gelmekte ve su aktivitesi azalmaktadır (Iamanaka ve diğ.,2006; Juan ve diğ., 2008). Bu durum *Fusarium* spp. gelişimini ve toksin oluşumunu sınırlandırırken, kseroofilik bir küf olan *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin gelişimini ve toksin oluşturmalarını teşvik edebilir ve özellikle kurutma aşamasında fumonisin B₂ oluşabilir.

Kültür ortamındaki sonuçlara benzer olarak *Aspergillus* section *Nigri* suşları, kuru incir ortamında da fumonisin B₁ ve B₃ oluşturmamıştır. Bu durum, *A. niger*'in fumonisin gen kümesinde FUM2 geninin bulunmamasıyla açıklanabilir. FUM2, fumonisin molekülünün iskeletinde onuncu karbon atomunun (C-10) hidroksilasyonundan sorumludur (Proctor ve diğ., 2006). FUM2 geninin eksikliğine bağlı olarak *A. niger* türleri tarafından FB₁ ve FB₃'ün üretilmeyeceği bildirilmiştir (Mansson et al., 2010).

4.4 Fumonisin B₂ Üreticisi *Aspergillus* section *Nigri* Üyelerinin OTA Üretme Potansiyelleri

Kuru incirden izole edilen fumonisin oluşturma kapasitesine sahip *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin kültür ortamında ve kuru incir ortamında okratoksin A üretim potansiyeli HPLC yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Analiz sırasında, okratoksin A pikine benzer pik veren örneklerin doğrulaması yapılmıştır. Sonuç olarak fumonisin üreticisi olan *A. niger* agg., *A. awamori* ve *A. foetidus* izolatlarının hiçbirinin kuru incirde okratoksin A üretmediği belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Literatürde *A.niger*, *A. awamori* ve *A. foetidus* suşlarının OTA üretme sıklıklarının düşük olduğu bildirilmiştir. Kuru üzümde OTA oluşumundan başlıca sorumlu küf, *A. carbonarius* olarak tanımlanmıştır (Magnoli ve diğ., 2004; Valero ve diğ., 2005). *A. niger*, *A. carbonarius*' dan sonra ikinci önemli OTA üreticisi küf olarak değerlendirilmektedir (Magnoli ve diğ., 2006; Frisvad ve diğ., 2006; Bejaoui ve diğ., 2006). *A. niger* agg. suşlarının OTA üretim sıklığı çalışılan izolat sayısı ve kullanılan substrata bağlı olmak üzere % 1.7 ve % 18.5 arasında değişmektedir (Schuster ve

diğ., 2002). Yerfıstığı, mısır tanesi, kuru üzüm ve üzümünden izole edilen *A. foetidus* ve *A. awamori*'nin düşük oranda OTA üretme potansiyeline sahip oldukları bildirilmiştir. (Belli ve diğ., 2002; Magnoli ve diğ., 2003, 2004, 2006a, 2006b). Bu durumda çalışma kapsamında incelenen *A.niger* agg., *A. awamori* ve *A. foetidus* suşlarının OTA üretmemesi, bu türe ait suşların OTA üretme sıklığının düşük olması ile açıklanabilir. Bununla birlikte, fumonisin üreticisi *A. niger* suşlarının bir kısmının aynı zamanda OTA üretme potansiyeline sahip olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Ancak fumonisin üreticisi *A. niger* suşlarının OTA üretme sıklığı oldukça düşüktür (Logrieco ve diğ., 2009; Noonim ve diğ., 2009).

Biyoteknolojide, patojenik ve toksijenik olmayan *A. niger* agg. suşları sıklıkla kullanılmaktadır (Schuster ve diğ., 2002). Doğadan veya kültür koleksiyonundan elde edilen *A.niger* agg. suşları okratoksin A üretme potansiyeline sahip olmasalar dahi fumonisin oluşturabilirler. Bu nedenle biyoteknolojik amaçlarla kullanılacak tüm *A. niger* agg. suşları, hem OTA hem de fumonisin üretimi açısından incelenmelidir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Ege Bölgesi'nde 7 farklı yöreden kurutma aşamasında temin edilen kuru incir örneklerinden izole edilmiş, mikroskopik ve makroskopik özelliklerine göre identifiye edilmiş 133 adet *Aspergillus* section *Nigri* üyesi izolat kullanılmıştır. Çalışma kapsamında izolatların kültür ortamında fumonisin B₁, B₂ ve B₃ üretme potansiyelleri ve fumonisin üreten izolatların kuru incir ortamında da fumonisin üretme potansiyelleri belirlenmiştir. Ayrıca fumonisin üreten izolatlar okratoksin A üretme potansiyelleri açısından da incelenmiştir.

Kuru incir örneklerinden izole edilen 133 adet izolattan 10 adedi 4.75- 400.91 µg/g aralığında fumonisin B₂ üretme kapasitesine sahip iken, hiçbir izolatın fumonisin B₁ ve B₃ oluşturmadığı belirlenmiştir. Fumonisin üretme potansiyeline sahip izolatlar; *A. niger* agg., *A. foetidus* ve *A. awamori* olarak belirlenmiştir. *A. niger* agg., *A. foetidus*, *A. awamori* suşlarının sırasıyla % 6.35, % 8.88 ve % 25 sıklıkla fumonisin ürettiği belirlenmiştir. Yapılan çalışma ile ilk kez *A. foetidus* ve *A. awamori*' nin fumonisin B₂ üretme potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir.

Bulgulara göre, Torbalı yöresine ait kuru incirlerden elde edilen izolatların fumonisin üretme sıklığı diğer yörelere göre daha fazladır. Erbeyli ve Söke yörelerinden elde edilen izolatların hiçbirinde fumonisin oluşturan *Aspergillus* section *Nigri* üyesine rastlanmamıştır.

Kültür ortamında fumonisin B₂ üretme kapasitesine sahip izolatlar, kuru incir ortamında da fumonisin B₂ oluşturmuştur. Çalışma kapsamında incelenen izolatların tümü kuru incir ortamında 25.70-48.61 µg/g aralığında fumonisin B₂ oluştururken, izolatların hiçbirisi fumonisin B₁ ve B₃ üretmemiştir.

Aspergillus section *Nigri* üyelerinin potansiyel OTA üreticisi olduğunun bilinmesi nedeniyle fumonisin oluşturan izolatlar, OTA üretimleri açısından da değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, fumonisin üreten *Aspergillus* section *Nigri* izolatlarının OTA üretmediği belirlenmiştir. *Aspergillus* section *Nigri* kuru incirler dahil olmak üzere birçok kuru meyveden sıklıkla izole edilmektedir. Bu bağlamda *Aspergillus niger* agg., *A. foetidus* ve *A. awamori* suşlarının fumonisin B₂ üretme

potansiyeli birçok gıda ürününü fumonisin kontaminasyonu açısından riskli hale getirebilir. Ayrıca *A. niger* agg. suşlarının fumonisin üretme özelliğinin, biyoteknolojik uygulamalar açısından da önemli bir bulgu olduğu düşünülmektedir

Sonuç olarak, fumonisin oluşturma sıklığı ve toksin üretme kapasiteleri açısından kuru incirlerde *Aspergillus* section *Nigri* varlığının, yüksek miktarda fumonisin riski taşımayacağı bu çalışma ile belirlenmiştir. Ancak, kuru incirlerde hakim florayı oluşturan küflerden biri olan *Fusarium* spp. tarafından fumonisin oluşumuna ilave olarak *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin de fumonisin oluşturmaları kuru incirlerde, daha sık ve yüksek düzeyde fumonisin kontaminasyonu görülmesine neden olabilir.

Kuru incirden izole edilen *Aspergillus* section *Nigri* üyelerinin toksin oluşturma özelliklerinin incelenmesi ve bu konuda yapılacak çalışmalar, incirlerin kurutma ve depolama prosesleri için uygun parametrelerin belirlenmesine olanak sağlayabilir. Böylece kuru incirlerde mikotoksin oluşumunu sınırlandırmak söz konusu olabilir.

KAYNAKLAR

- Abarca, M. L., Accensi, F., Bragulat, M. R. and Cabanes, F. J.,** 2001. Current importance of ochratoxin A-producing *Aspergillus* spp. *Journal of Food Production*. **64** (6), 903-906.
- Abarca, M. L., Accensi, F., Cano, J. and Cabanes, F. J.,** 2004. Taxonomy and significance of black *Aspergilli*. *Antonie van Leeuwenhoek*. **86**, 33-49.
- Abbas, H. K., Cartwright, R. D., Shier, W. T., Abouzied, M. M., Bird, C. B., Rice, L. G., Ross, P. F., Sciumbato, G. L. and Merdith, F. I.,** 1998. Natural occurrence of fumonisins in rice with *Fusarium* sheath rot disease. *Plant Disease*. **82**, 22-25.
- Aish, J. L., Rippon, E. H., Barlow, T. and Hattersley, S. J.,** 2004. Ochratoxin A. In: *Mycotoxins in Food Detection and Control*. Eds. Magan, N., Olsen, M., Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, England. 367-405.
- Alexander, N. J., Proctor, R. H. and McCormick, S. P.,** 2009. Genes, gene clusters, and biosynthesis of trichothecenes and fumonisins in *Fusarium*. *Toxin Reviews*. **28**, 198-215.
- Amezquata, S., Gonzalez- Penas, E., Dachoupakan, C., Murillo-Arbizu, M., de Cerain, A. L. and Guiraud, J. P.,** 2008. Ochratoxin A producing fungi isolated from stored cocoa beans. *Letters in Applied Microbiology*. **47** (3), 197-201.
- Anonim,** 2007. TARİŞ, İncir, Üzüm, Pamuk ve Yağlı Tohumlar Tarım Satış Kooperatifleri Birlikleri, <<http://www.taris.com.tr>>, alındığı tarih: 25.11.2010.
- AOAC,** 2000. Natural poisons: Method 995.15 Fumonisin B₁, B₂ and B₃ in Corn in *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists Inc., Virginia, USA.
- Arino, A., Estopanan, G., Juan, T. and Herrera, A.,** 2007. Estimation of dietary intakes of fumonisin B₁ and B₂ from conventional and organic corn. *Food Control*. **18**, 1058-1062.
- Astoreca, A., Magnoli, C., Ramirez, M. L., Combina, M. and Dalcero, A.,** 2007a. Water activity and temperature effects on growth of *Aspergillus niger*, *A. awamori* and *A. caronarius* isolated from different substrates in Argentina. *International Journal of Food Microbiology*. **119**, 314-318.
- Astoreca, A., Magnoli, C., Barberis, C., Chiacchiera, S.M., Combina, M. and Dalcero, A.,** 2007b. Ochratoxin A production in relation to ecophysiological factors by *Aspergillus* section *Nigri* strains isolated from different substrates in Argentina. *Science of the Total Environment*. **388**, 16-23.

- Astoreca, A., Barberis, C., Magnoli, C., Combina, M. and Dalcero, A., 2009a.** Ecophysiological factor effect on growth rate, lag phase and OTA production by *Aspergillus niger* agg. strains on irradiated peanut seeds. *International Journal of Food Microbiology*. **129** (2), 131-135.
- Astoreca, A., Barberis, C., Magnoli, C., Combina, M. and Dalcero, A., 2009b.** Influence of ecophysiological factors on growth, lag phase and OTA production by *Aspergillus niger* agg. strains on irradiated corn grains. *International Journal of Food Microbiology*. **129** (2), 174-179.
- Barkai-Golan, R., 2008.** *Aspergillus* mycotoxins. In: Mycotoxins in fruits and vegetables, Eds. Barkai- Golan, R., Paster, N., Academic Press, USA. 115-152.
- Baker, S. E., 2006.** *Aspergillus niger* genomics: past, present and into the future. *Medical Mycology* **44**, 17–21.
- Battilani, P., Pietri, A., Bertuzzi, A. T., Languasco, L., Giorni, P. and Kozakiewicz, Z., 2003.** Occurrence of ochratoxin A-producing fungi in grapes grown in Italy. *Journal of Food Protection*. **66**, 633- 636.
- Battilani, P., Giorni, P., Bertuzzi, T., Formenti, S. and Pietri, A., 2006.** Black aspergilli and ochratoxin A in grapes in Italy. *International Journal of Food Microbiology*. **111**, 53- 60.
- Battilani, P., Barbano, C. and Logrieco, A., 2008.** Risk assessment and safety evaluation of mycotoxins in fruits. In: Mycotoxins in fruits and vegetables, Eds. Barkai-Golan, R., Paster, N., Academic Press, USA. 1-26.
- Bayman, P., Baker, J. L., Doster, M. A., Michailides, T. J. and Mahoney, N. E., 2002.** Ochratoxin production by the *Aspergillus ochraceus* group and *Aspergillus alliaceus*. *Applied and Environmental Microbiology*. **68**, 2326-2329.
- Belli, N., Marin, S., Sanchis, V. and Ramos, A. J., 2002.** Review: Ochratoxin A in wines, musts and grape juices: occurrence, regulations and methods of analysis. *Food Science and Technology International*, **8** (6), 325-335.
- Belli, N., Marin, S., Sanchis V. and Ramos, A.J., 2004.** Influence of water activity and temperature on growth of isolates of *Aspergillus* section *Nigri* obtained from grapes. *International Journal of Food Microbiology*, **96**, 19-27.
- Belli, N., Ramos, A. J., Coronas, I. Sanchis V. and Marin S., 2005.** *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A production on a synthetic grape medium in relation to environmental factors. *Journal of Applied Microbiology*. **98**, 839–844.
- Bejaoui, H., Mathieu, F., Taillandier, P. and Lebrihi, A., 2006.** Black aspergilli and ochratoxin A production in French vineyards. *International Journal of Food Microbiology*. **111**, 46- 52.

- Bhatnagar, D., Payne, G.A., Cleveland, T.E. and Robens, J.F., 2004.** Mycotoxins: current issues in U.S.A. In: Meeting the Mycotoxin Menace, Eds. Barug, D., van Egmond, H., Lopez-Garcia, R., van Osenbruggen, T., Visconti, A., Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands. 17-40.
- Bircan, C., 2009.** Incidence of ochratoxin A in dried fruits and co-occurrence with aflatoxins in dried figs. *Food and Chemical Toxicology*. **47**, 1996-2001.
- Bragulat, B. B., Abarca, M. L. and Cabanes, F. J., 2001.** An easy screening method for fungi producing ochratoxin A in pure culture. *International Journal of Food Microbiology*. **71**, 139-144.
- Brera, C., Debegnach, F., Minardi, V., Prantera, E., Pannunzi, E., Faleo, S., De Santis, B. and Miraglia, M., 2008.** Ochratoxin A Contamination in Italian Wine Samples and Evaluation of the Exposure in the Italian Population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **56**, 10611–10618.
- Bundesgesetzblatt Jahrgang, 2004.** Verordnung zur Änderung der Mykotoxin-Höchstmengenverordnung und der Diätverordnung, Teil 1, Nr. 5. Bundesanzeiger Verlag.
- Chiotta, M. L., Ponsone, M. L., Combina, M., Torres, A. M. and Chulze, S.N., 2009.** Aspergillus section Nigri species isolated from different wine-grape growing regions in Argentina. *International Journal of Food Microbiology*. **136**, 137-141.
- Darco, G., Fernandez- Franzon, M., Font, G., Damiani, P. and Manes, J., 2009.** Survey of fumonisin B₁, B₂ and B₃ in conventional and organic retail corn products in Spain and Italy and estimated dietary exposure. *Food Additives and Contaminants*. **2** (2), 146- 153.
- Desai, U. T. and Kotecha, P. M., 1995.** Fig. In: *Handbook of fruit science and technology*. Eds. Salunkhe, D.K., Kadam, S.S., Marcel Dekker, Inc. NY. 407-418.
- Desjardins, A., 2006.** *Fusarium mycotoxins: Chemistry, Genetics and Biology*, American Phytopathology Society 268.
- DMI, 2010.** Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü. < <http://www.dmi.gov.tr> > , alındığı tarih: 01.10.2010
- EC, 2005.** Commission regulation 856/2005 of June 6, 2005 amending regulation EC No 446/2001 as regards *Fusarium* toxins. *Official Journal European Union*. **143**, 3.
- EC, 2006.** Commission regulation 1881/ 2006 of December 19, 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal European Community*. **364**, 16.
- EFSA, 2006.** Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to ochratoxin A in food. *The EFSA Journal*. **365**, 1-56.

- Esteban, A., Abarca, M. L., Bragulat, M. R. and Cabanes, F. J.,** 2006a. Study of the effect of water activity and temperature on ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius*. *Food Microbiology*. **23**, 634–640.
- Esteban, A., Abarca, M. L., Bragulat, M. R. and Cabanes, F. J.,** 2006b. Effect of water activity on ochratoxin A production by *Aspergillus niger* aggregate species. *International Journal of Food Microbiology*. **108**, 188-195.
- FAO,** 2008. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Databases. <<http://faostat.fao.org>> , alındığı tarih:18.10.2010
- Frisvad, J. C., Thrane, U., Samson, R.A. and Pitt, J. I.,** 2006. Important mycotoxins and the fungi which produce them. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. **571**, 3- 31.
- Frisvad, J. C., Smedsgaard, J., Samson, R. A., Larsen, T. O. and Thrane, U.,** 2007. Fumonisin B₂ production by *Aspergillus niger*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **55**, 9727- 9732.
- Galvano, F., Ritieni, A., Piva, G. and Pietri, A.,** 2003, Mycotoxins in the human food chain, in *The Mycotoxin Blue Book*. Eds. Diaz, D., Nottingham University Press, UK.
- Gelderblom, W. C. A., Jaskiewicz, K., Marasas, W. F. O., Thiel, P. G., Horak, R. M., Vleggar, R. and Kriek, N. P. J.,** 1998. Fumonisin-novel mycotoxins with cancer promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology*. **54**, 1806-1811.
- Heperkan, D.,** 2006. The importance of mycotoxins and a brief history of mycotoxin studies in Turkey, Special issue “Mycotoxins: hidden hazards in food”, *ARI Bulletin of Istanbul Technical University*, Ed. Heperkan, D. **54**, 18-27.
- Hocking, A. D., Leong, S. L., Kazi, B. A., Emmett, R. W. and Scott, E. S.,** 2007. Fungi and mycotoxins in vineyards and grape products. *International Journal of Food Microbiology*. **119**, 84-88.
- Hult, K., Plestina, R., Habazin-Novak, V., Radic, B. and Ceovic, S.,** 1982. Ochratoxin A in human blood and Balkan endemic nephropathy. *Archives of Toxicology*. **51**, 313-321.
- Iamanaka, B. T., Taniwaki, M. H., Menezes, H. C., Vicente, E. and Fungaro, M. H. P.,** 2005. Incidence of toxigenic fungi and ochratoxin A in dried fruits old in Brazil. *Food Additives and Contaminants*. **22(12)**, 1258–1263.
- Iamanaka, B. T., Taniwaki, M. H., Vicente, E. and Menezes, H. C.,** 2006. Fungi producing ochratoxin in dried fruits. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. **571**, 181- 188.
- IARC,** 1993. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans. **56**, Lyon, France.

- Ilic, Z., Bui, T., Tran-Dinh, N., Dang, M. N. V., Kennedy, I. and Carter, D.,** 2007. Survey of Vietnamese coffee beans for the presence of ochratoxigenic *Aspergilli*. *Mycopathologia*. **163**, 177- 182.
- Jackson, L. and Jablonski, J.,** 2004. Fumonisin. In *Mycotoxins in Food Detection and Control*, Eds. Magan, N., Olsen, M., Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, England. 367-405.
- Karbancıoğlu-Güler, F.,** 2008a. İncirde okratoksin A ve fumonisin oluşumunun incelenmesi. *Doktora Tezi*. İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Karbancıoğlu-Güler, F. and Heperkan, D.,** 2008b. Natural occurrence of ochratoxin A in dried figs. *Analytica Chimica Acta*. **617**, 32-36.
- Karbancıoğlu-Güler, F. and Heperkan, D.,** 2009. Natural occurrence of fumonisin B₁ in dried figs as an unexpected hazard. *Food and Chemical Toxicology*. **47(2)**, 289-292.
- Kozakiewicz, Z., Battilani, P., Cabanes, J., Venancio, A., Mule, G., Tjamos, E., Lichter, A., Magan, N., Sanchis, V., Lebríhi, A., Zinzani, G. and Minguez, S.,** 2004. Making wine safer: the case of ochratoxin A. In: *Meeting the Mycotoxin Menace*, Eds. Barug, D., van Egmond, H., Lopez-Garcia, R., van Osenbruggen, T., Visconti, A., Wageningen academic Publishers, Wageningen, The Netherlands. 133-142.
- Galvano, F., Ritieni, A., Piva, G. and Pietri, A.,** 2003, Mycotoxins in the human food chain, in *The Mycotoxin Blue Book*, Eds. Diaz, D., Nottingham University Press, UK.
- Leong, S. L., Hocking, A. D. and Scott, S. E.,** 2006. Effect of temperature and water activity on growth and ochratoxin A production by Australian *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* isolates on a simulated grape juice medium. *International Journal of Food Microbiology*. **110**, 209–216.
- Logrieco, A., Ferracane, R., Haidukowsky, M., Cozzi, G., Visconti, A. and Ritieni, A.,** 2009. Fumonisin B₂ production by *Aspergillus niger* from grapes and natural occurrence in must. *Food Additives and Contaminants*. **26**, 1495- 1500.
- Magnoli, C., Violanta, M., Combina, M., Palacia, G. and Dalcero, A.,** 2003. Mycoflora and ochratoxin- producing strains of *Aspergillus* section *Nigri* in wine grapes in Argentina. *Letters in Applied Microbiology*, **37**, 179-184.
- Magnoli, C., Astoreca, A., Ponsone, L., Combina, M., Palacio, G., Rosa, C. A. R. and Dalcero, A.M.,** 2004. Survey of mycoflora and ochratoxin A in dried vine fruits from Argentina markets. *Letters in Applied Microbiology*. **39**, 326–331.
- Magnoli, C., Hallak, C., Astoreca, A., Ponsone, L., Chiacchiera, S. and Dalcero, M. A.,** 2006a. Occurrence of ochratoxin A- producing fungi in commercial corn kernels in Argentina. *Mycopathologia*. **161**, 53-58.

- Magnoli, C., Astoreca, A., Ponsone, L., Fernandez- Juri, G. M., Chiacchiera, S. and Dalcero, A.,** 2006b. Ochratoxin A and the occurrence of ochratoxin A- producing black aspergilli in stored peanut seeds from Cordoba, Argentina. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **86**, 2369- 2373.
- Magnoli, C., Astoreca, A., Ponsone, M. L., Fernandez- Juri, G. M., Barberis, C. and Dalcero, M. A.,** 2007a. Ochratoxin A and Aspergillus section Nigri in peanut seeds at different months of storage in Córdoba, Argentina. *International Journal of Food Microbiology*. **119**, 213–218.
- Magnoli, C. E., Astoreca, A., Chiacchiera, S. and Dalcero, M. A.,** 2007b. Occurrence of ochratoxin A and ochratoxigenic mycoflora in corn and corn based foods and feeds in some South American countries. *Mycopathologia*. **163**, 249–260.
- Manning, B.,** 2005, Mycotoxins in aquaculture. In: *The Mycotoxin Blue Book*, Ed. Diaz, D., Nottingham University Press, UK. 139-156.
- Mansson, M., Klejnstrup, M. L., Phipps, R. K., Nielsen, K. F., Frisvad, J. C., Gotfredsen, C. H. and Larsen, T. O.,** 2010, Isolation and NMR characterization of fumonisin B2 and a new fumonisin B6 from Aspergillus niger. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **58** (2), 949–953.
- Marin, S., Magan, N., Ramos, A. J. and Sanchis, V.,** 2004. Fumonisin producing strains of *Fusarium*: A review of their ecophysiology. *Journal of Food Protection*. **67**, 1792- 1805.
- Mogensen, J. M., Nielsen, K.F., Samson, R. A., Frisvad, J. C. and Thrane, U.,** 2009. Effect of temperature and water activity on the production of fumonisins by *Aspergillus niger* and different *Fusarium* species. *BMC Microbiology*. **9**, 281-293.
- Mogensen, J. M., Frisvad, J.C., Thrane, U. and Nielsen, K. F.,** 2010. Production of fumonisin B₂ and B₄ by *Aspergillus niger* on grapes and raisins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **58** (2), 954–958.
- Mogensen, J. M., Larsen, T. O. and Nielsen, K. F.,** 2010. Widespread occurrence of the mycotoxin fumonisin B₂ in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **58** (8), 4853–4857.
- Moretti, A. and Susca A.,** 2010a. *Fusarium*. In: *Molecular Detection of Foodborne Pathogens*. Ed. Liu, D., CRC Press Taylor&Francis Group, United States of America. 569-584.
- Moretti, A., Ferracane, L., Somma, S., Ricci, V., Mule, G., Susca A., Ritieni, A. and Logrieco A.,** 2010b. Identification, mycotoxin risk and pathogenicity of *Fusarium* species associated to fig endosepsis in Apulia. *Food Additives and Contaminants*, **27**, 718-728.
- Musser, S. M. and Plattner, R. D.,** 1997. Fumonisin composition in cultures of *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and *Fusarium nygamai*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **45**, 1169-1173.

- Nielsen, K. F., Mogensen, J. M., Johansen, M., Larsen, T. O. and Frisvad, J. C., 2009, Review of secondary metabolites and mycotoxins from the *Aspergillus niger* group. *Analytical Bioanalytical Chemistry*. **395**, 1225-1242.
- Noonim, P., Mahakarnchanakul, W., Nielsen, K. F., Frisvad, J. C. and Samson, R. A., 2009. Fumonisin B₂ production by *Aspergillus niger* in Thai coffee beans. *Food Additives and Contaminants*. **26** (1), 94- 100.
- Omurtag, G. Z., Yazıcıoğlu, D., Beyoğlu, D., Tozan, A. ve Atak, G., 2005. Besinlerde fumonisinler ve trikotesenler. 2. *Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildirileri Kitabı*, 73-79, Eds, Heperkan, D., Kaya, G.D., Güler, F.K., Türkiye’de Mikotoksin Çalışmaları. İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, 23- 25 Mayıs, 73-79.
- Pel, H. J., de Winde, J. H., Archer, D. B., Dyer, P. S., Hofmann, G., Schaap, P. J., Turner, G., de Vries, R. P., Albang, R., Albermann, K., Andersen, M. R.; Bendtsen, J. D., Benen, J. A., van den Berg, M.; Breestraat, S., Caddick, M. X., Contreras, R., Cornell, M., Coutinho, P. M., Danchin, E. G., Debets, A. J., Dekker, P., van Dijk, P.W., van Dijk, A., Dijkhuizen, L., Driessen, A. J., d’Enfert, C., Geysens, S., Goosen, C., Groot, G. S., deGroot, P.W., Guillemette, T., Henrissat, B., Herweijer, M., van den Hombergh, J. P., van den Hondel, C. A., van der Heijden, R. T., van derKaaij, R. M., Klis, F. M., Kools, H. J., Kubicek, C. P., van Kuyk, P. A., Lauber, J., Lu, X., van der Maarel, M. J., Meulenbergh, R., Menke, H., Mortimer, M. A., Nielsen, J., Oliver, S. G., Olsthoorn, M., Pal, K., van Peij, N. N., Ram, A. F., Rinas, U., Roubos, J. A., Sagt, C. M., Schmoll, M., Sun, J., Ussery, D., Varga, J., Vervecken, W.; van de Vondervoort, P. J.; Wedler, H.; Wosten, H. A.; Zeng, A. P., van Ooyen, A. J., Visser, J. and Stam, H., 2007. Genome sequencing and analysis of the versatile cell factory *Aspergillus niger* CBS 513.88. *Nature Biotechnology*. **25** (2), 221–231.
- Perrone, G., Susca, A., Cozzi, G., Ehrlich, K., Varga, J., Frisvad, J. C., Meijer, M., Noonim, P., Mahakarnchanakul, W. and Samson, R. A., 2007. Biodiversity of *Aspergillus* species in some important agricultural products. *Studies in Mycology*. **59** (1), 53-66
- Perrone, G., Varga, J., Susca, A., Frisvad, J.C., Stea, G., Koscube, S., Toth, B., Kozakiewicz, Z. and Samson, R.A., 2008. *Aspergillus uvarum* sp. nov., an uniseriate black *Aspergillus* species isolated from grapes in Europe. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. **58**, 1032–1039.
- Pitt, J. I. and Hocking, A. D., 1997. Food and Fungi Spoilage, 2nd Ed., Blackie Academic & Professional, London, UK.
- Proctor, R. H., Plattner, R. D., Desjardins, A. E., Busman, M. and Butchko, R. A. E., 2006. Fumonisin production in the maize pathogen *Fusarium verticillioides*: genetic basis of naturally occurring chemical variation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **54** (6), 2424–2430.

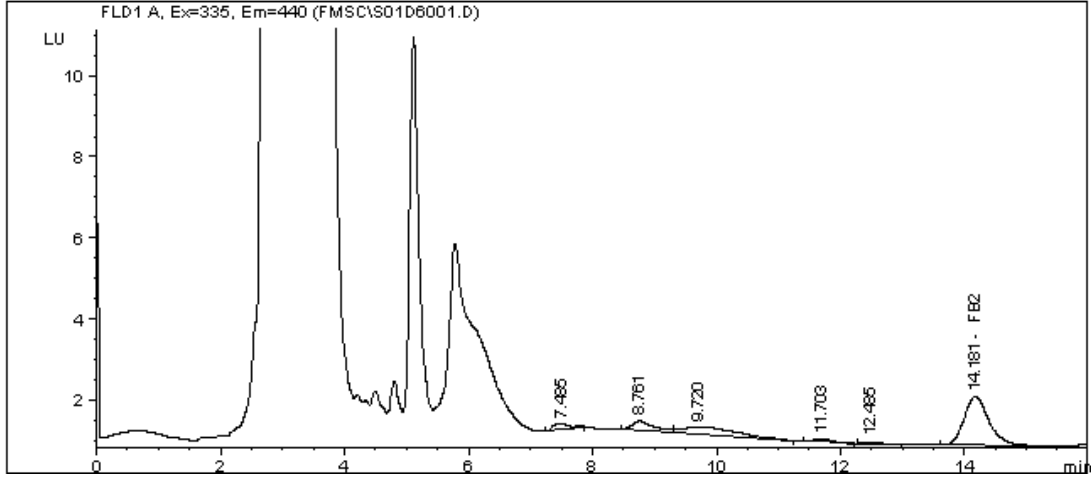
- Rheeder, J. P., Marasas, W. F. O. and Wismer, H. F.,** 2002. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*. **68**, 2101-2105.
- Riba, A., Mokrane, S., Mathieu, F., Lebrihi, A. and Sabaou, N.,** 2008. Mycoflora and ochratoxin A producing strains of *Aspergillus* in Algerian wheat. *International Journal of Food Microbiology*. **122**, 85–92.
- Romero, S. M., Comerio, R. M., Larumbe, G., Ritieni, A., Vaamonde, G. and Fernandez Pinto, V.,** 2005. Toxigenic fungi isolated from dried vine fruits in Argentina. *International Journal of Food Microbiology*. **104**, 43– 49.
- Romero S. M., Patriarca A, Fernández Pinto V. and Vaamonde G.,** 2007. Effect of water activity and temperature on growth of ochratoxigenic strains of *Aspergillus carbonarius* isolated from Argentinean dried vine fruits, *International Journal of Food Microbiology*. **115** (2), 140-143.
- Samson, R. A., Houbraken, J. A. M. P., Kuijpers, A. F. A., Frank, M. and Frisvad, J. C.,** 2004. New ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section *Nigri*, *Studies in Mycology*, **50**, 45-61.
- Schuster, E., Dunn- Coleman, N., Frisvad, J. C. and van Dijck, P. W. M.,** 2002. On the safety of *Aspergillus niger*- a review, *Applied Microbiology and Biotechnology*. **59**, 426-435.
- Selouane, A., Bouya, D., Lebrihi, A., Decock, C. and Bouseta, A.,** 2009. Impact of some environmental factors on growth and production of ochratoxin A of/by *Aspergillus tubingensis*, *A. niger* and *A. carbonarius* isolated from Moroccan grapes. *The Journal of Microbiology*. **47** (4), 411-419.
- Serra, R., Mendonça, C. and Venancio, A.,** 2005. Fungi and ochratoxin A detected in healthy grapes for wine production. *Letters in Applied Microbiology*. **42**, 42-47.
- Serra, R., Cabanes, F. J., Perrone, G., Castella, G., Venancio, A., Mule, G. and Kozakiewicz, Z.,** 2006. *Aspergillus ibericus*: a new species of section *Nigri* isolated from grapes. *Mycologia*. **98** (2), 295–306.
- Soriano, J. M. and Dragacci, S.,** 2004. Occurrence of fumonisins in foods. *Food Research International*. **37**, 985-1000.
- Susca, A., Proctor, R. H., Mule, G., Stea, G., Ritieni, A., Logrieco, A. and Moretti, A.,** 2010. Correlation of mycotoxin Fumonisin B₂ production and presence of the fumonisin biosynthetic gene *fum8* in *Aspergillus niger* from grape. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **58**, 9266-9272.
- Taniwaki, M. H., Pitt, J. I. and Iamanaka, B. T.,** 2003. The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. *International Journal of Food Microbiology*. **82** (2), 173-179.
- Teren, J., Varga, J., Hamari, Z., Rinyu, E. and Kevei, F.,** 1996. Immunochemical detection of ochratoxin A in black *Aspergillus* strains. *Mycopathologia*. **134**, 171-176.

- Torres, M. R., Sanchis, V. and Ramos, A. J.,** 1998. Occurrence of fumonisins in Spanish beers analyzed by an enzyme-linked immunosorbent assay method. *International Journal of Food Microbiology*. **39**, 139-143.
- Tous, J. and Ferguson, L.,** 1996. Mediterranean fruits. In: *Progress in New Crops*. Ed. Janick, J., ASHS Press, Arlington, VA. 416-430.
- Tjamos, S. E., Antoniou, P. P. and Tjamos, E. C.,** 2006. *Aspergillus* spp., distribution, population composition and ochratoxin A production in wine producing vineyards in Greece. *International Journal of Food Microbiology*. **111**, 61-66.
- Türk Gıda Kodeksi,** 2008. Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ. *Resmi Gazete*. No: 2008/26. 17.08.2008.
- Valero, A., Marin, S., Ramos, A. J. and Sanchis, V.,** 2005. Ochratoxin A-producing species in grapes and sun-dried grapes and their relation to ecophysiological factors. *Letters in Applied Microbiology*. **41**, 196-201.
- Valero, A., Begum, M., Leong, S. L., Hocking, A. D., Ramos, A. J., Sanchis, V. and Marin, S.,** 2007. Effect of germicidal UVC light on fungi isolated from grapes and raisins. *Letters in Applied Microbiology*. **45**, 238-243.
- Varga, J., Kocsube, S., Toth, B., Frisvad, J. C., Perrone, G., Susca, A., Meijer, M. and Samson, R. A.,** 2007. *Aspergillus brasiliensis* sp. nov., a biserial black *Aspergillus* species with world-wide distribution. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. **57**, 1925–1932.
- Wang, J., Zhou, Y., Liu, W., Zhu, X., Du, L. and Wang, Q.,** 2008. Fumonisin level in corn based food and feed from Linxian County, a high- risk area for esophageal cancer in China. *Food Chemistry*. **106**, 241-246.
- Waskiewicz, A., Irzykowska, L., Bocianowski, J., Karolewski, Z., Kostecki, M., Weber, Z. and Golinski, P.,** 2010. Occurrence of *Fusarium* fungi and mycotoxins in marketable asparagus spears. *Polish Journal of Environmental Studies*. **19**, 219-225.
- Vrabcheva, T., Usleber, E., Dietrich, R. and Martlbauer, E.,** 2000. Co-occurrence of ochratoxin A and citrinin in cereals from Bulgarian villages with a history of Balkan endemic nephropathy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48** (6), 2483-2488.
- Zinedine, A., Soriano, J. M., Juan, C., Mojemmi, B., Molto, J. C., Bouklouze, A., Cherrah, Y., Idrissi, L., El Aouad, R. and Manes, J.,** 2007. Incidence of ochratoxin A in rice and dried fruits from Rabat and Sale area, Morocco. *Food Additives and Contaminants*, **24** (3), 285-291.
- Zohri, A. A. and Abdel-Gawad, K. M.,** 1993. Survey of mycoflora and mycotoxins of some dried fruits in Egypt. *Journal of Basic Microbiology*. **33**, 279-288.

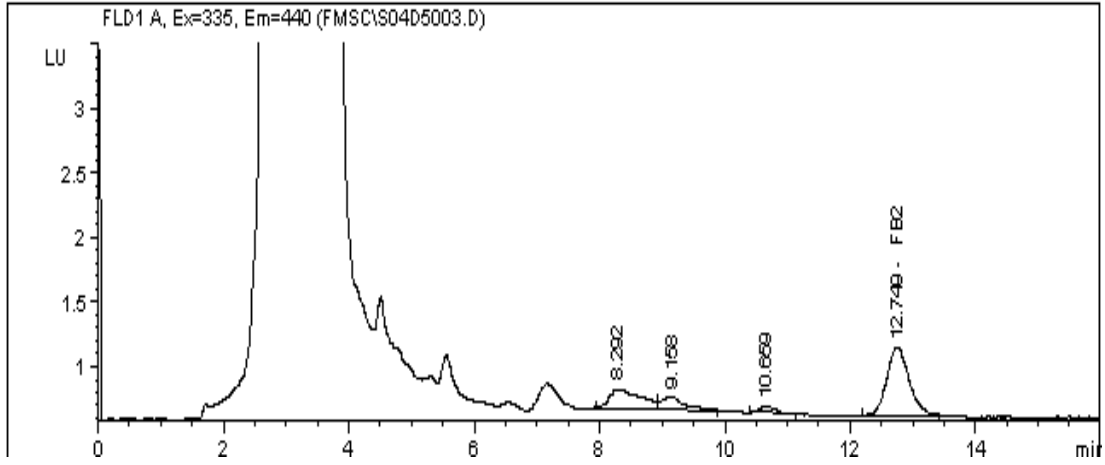
EKLER

EK A: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Metodu Sonuç Kromatogramları

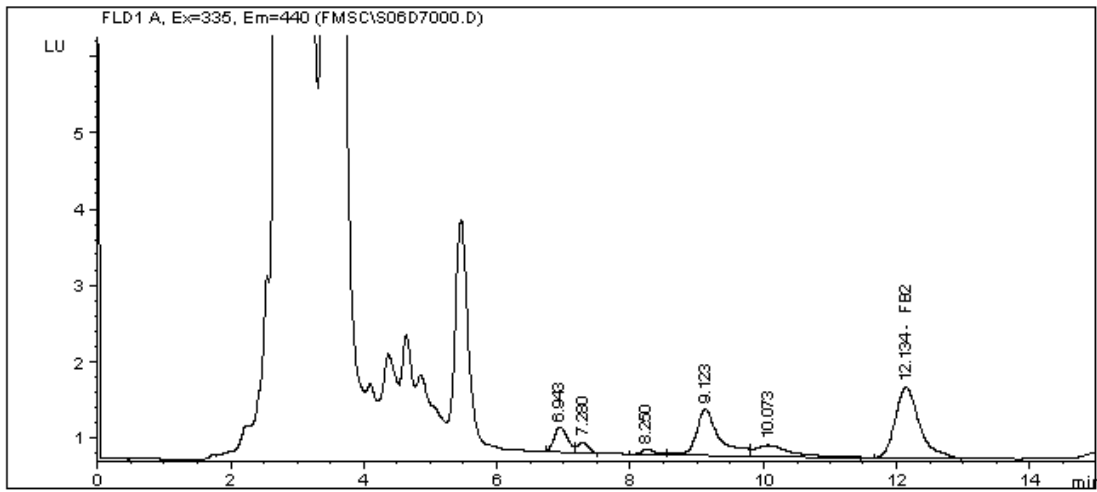
EK A : Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Metodu Sonuç Kromatogramları



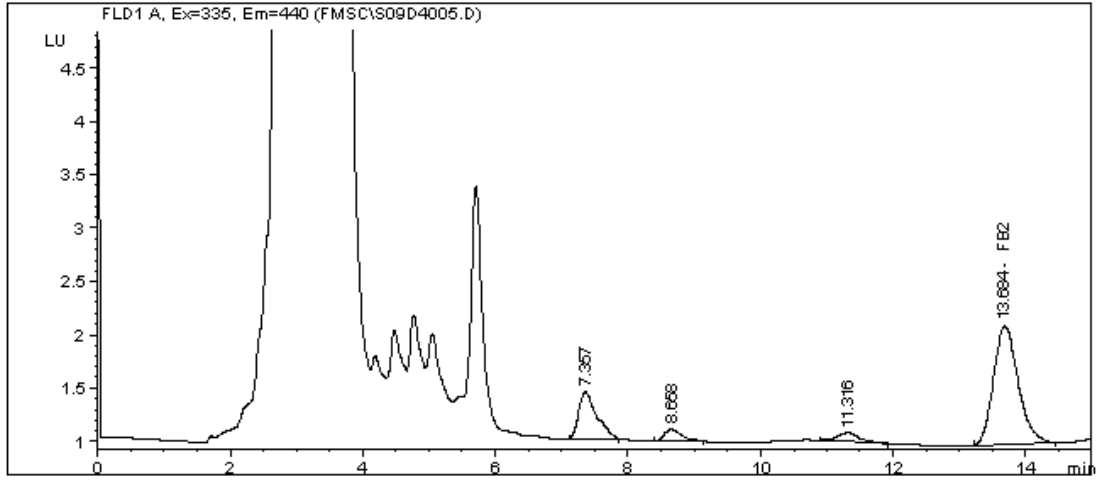
Şekil A.1 : Kültür ortamına inoküle edilen 1-03D6 nolu izolata ait kromatogram.



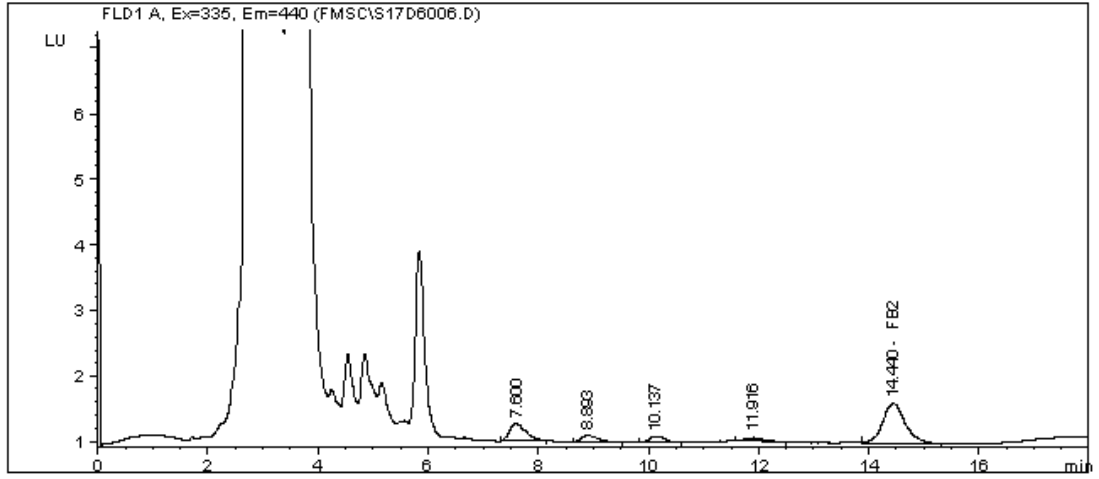
Şekil A.2 : Kültür ortamına inoküle edilen 4-03D5 nolu izolata ait kromatogram.



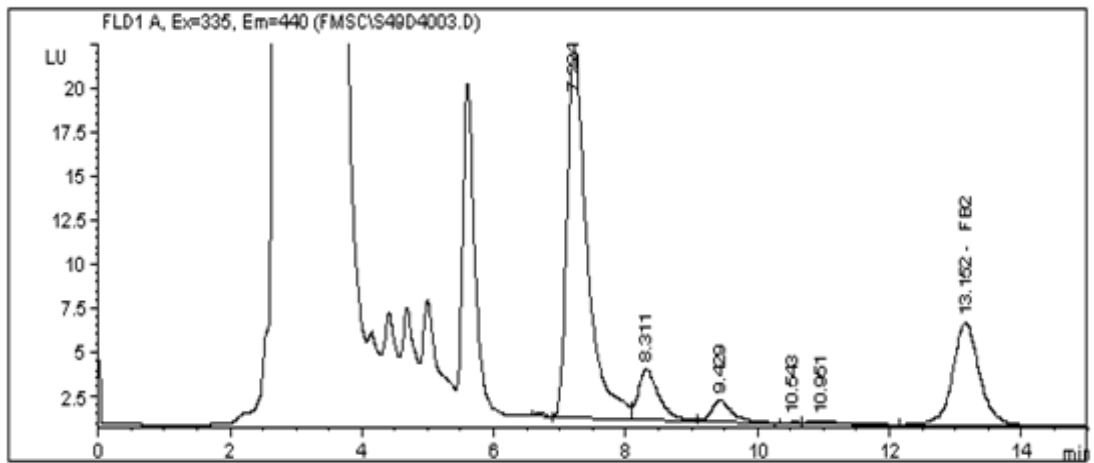
Şekil A.3 : Kültür ortamına inoküle edilen 6-03D7 nolu izolata ait kromatogram.



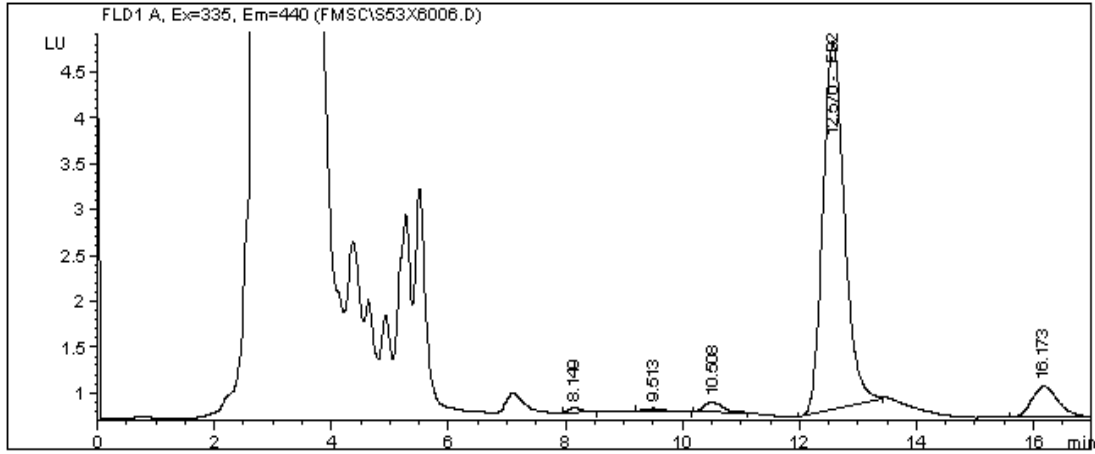
Şekil A.4: Kültür ortamına inoküle edilen 9-03D4 nolu izolata ait kromatogram.



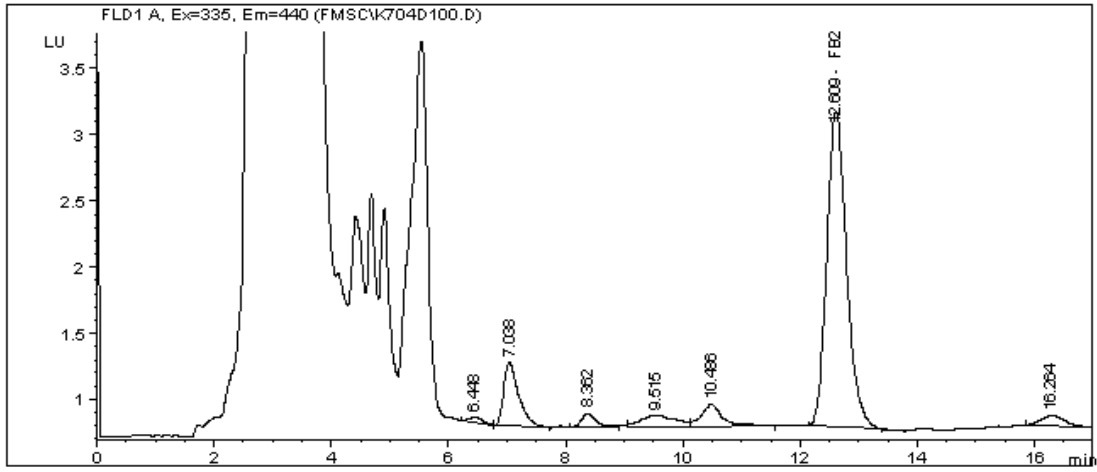
Şekil A.5 : Kültür ortamına inoküle edilen 17-03D6 nolu izolata ait kromatogram.



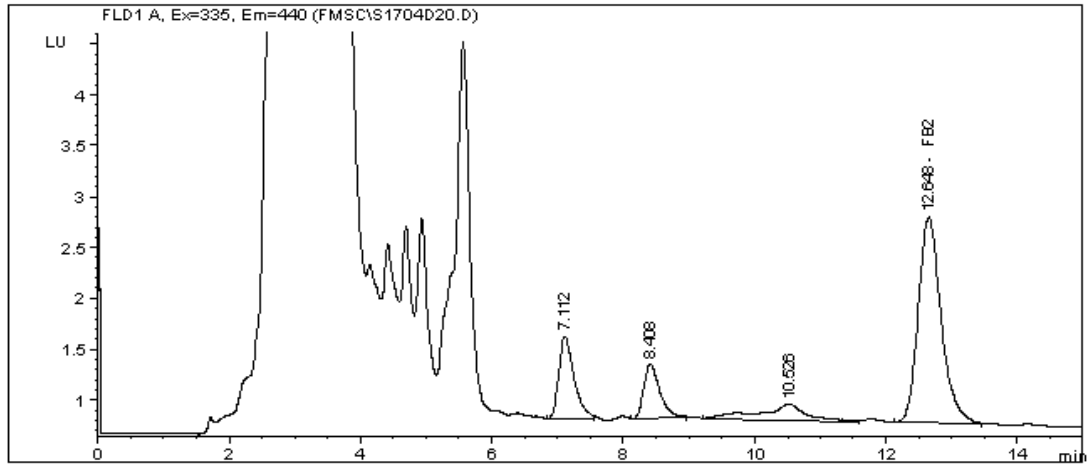
Şekil A.6 : Kültür ortamına inoküle edilen 49-03D4 nolu izolata ait kromatogram.



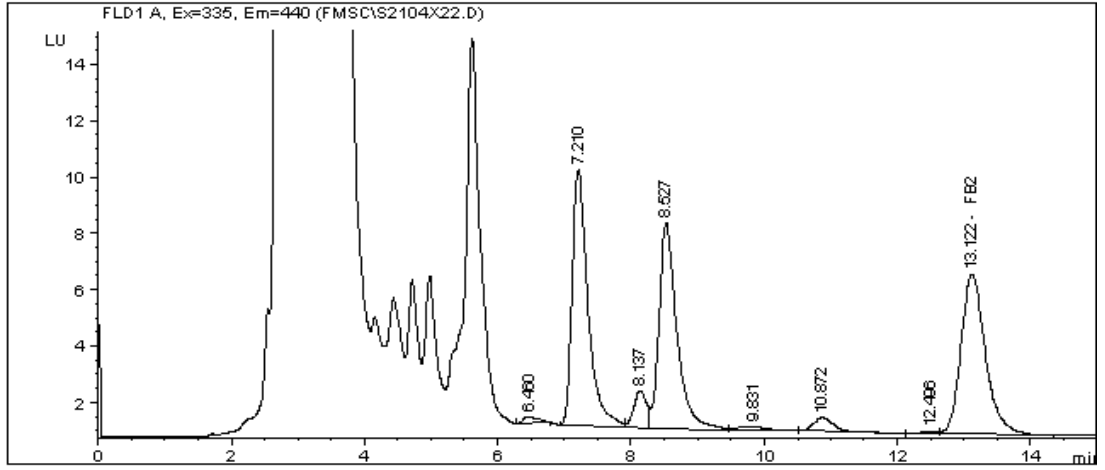
Şekil A.7 : Kültür ortamına inoküle edilen 53-03X6 nolu izolata ait kromatogram.



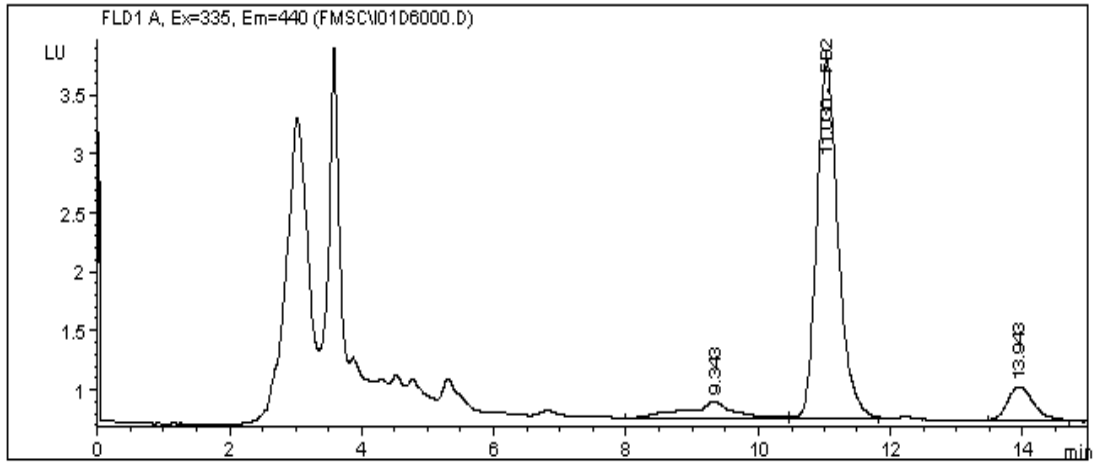
Şekil A.8 : Kültür ortamına inoküle edilen 7-04D1 nolu izolata ait kromatogram.



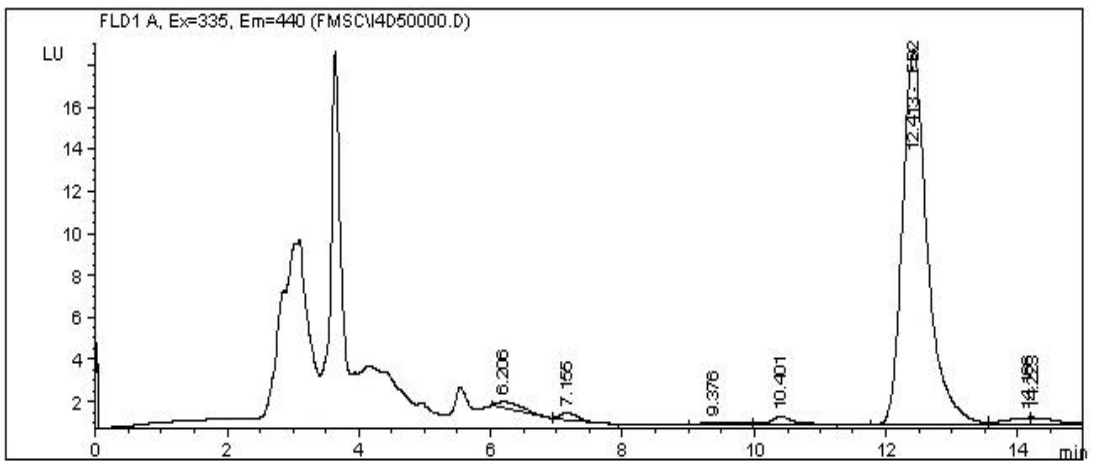
Şekil A.9 : Kültür ortamına inoküle edilen 17-04D2 nolu izolata ait kromatogram.



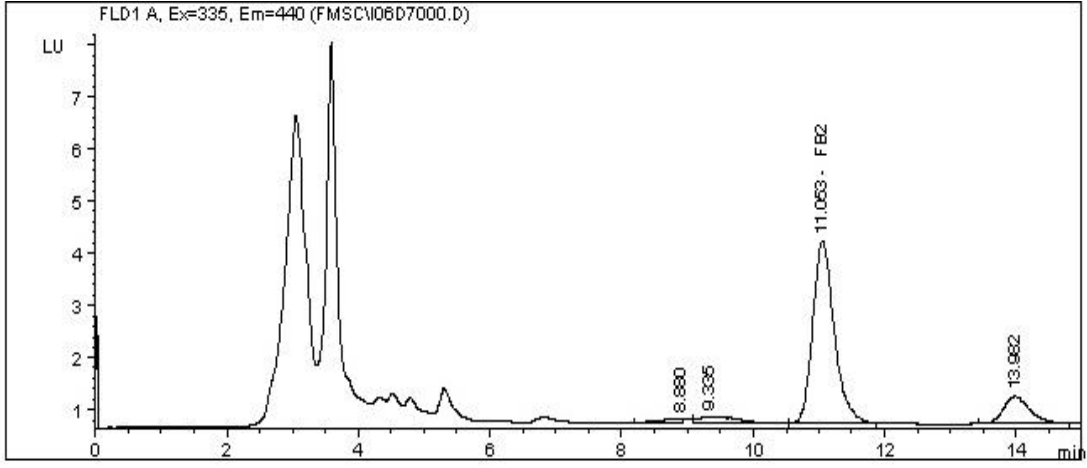
Şekil A.10 : Kültür ortamına inoküle edilen 21-04X2 nolu izolata ait kromatogram.



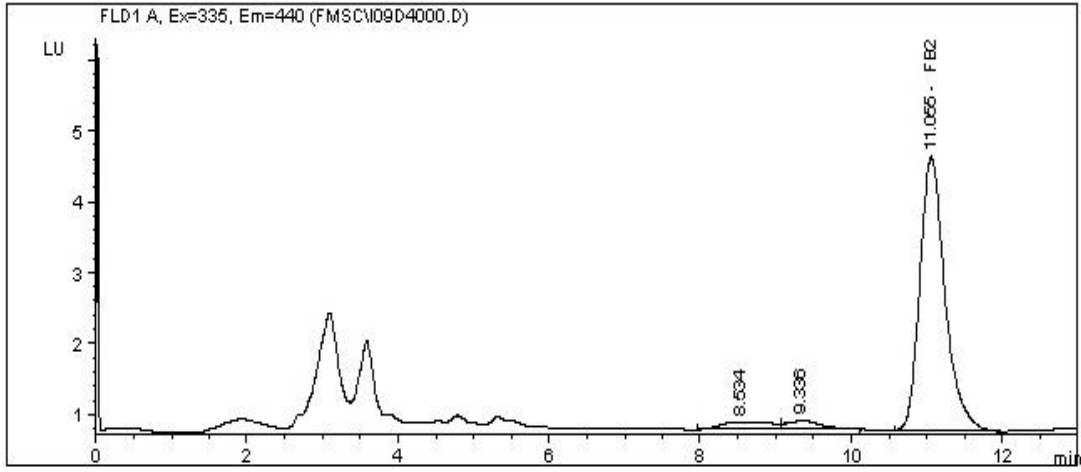
Şekil A.11 : Kuru incir ortamına inoküle edilen 1-03D6 nolu izolata ait kromatogram.



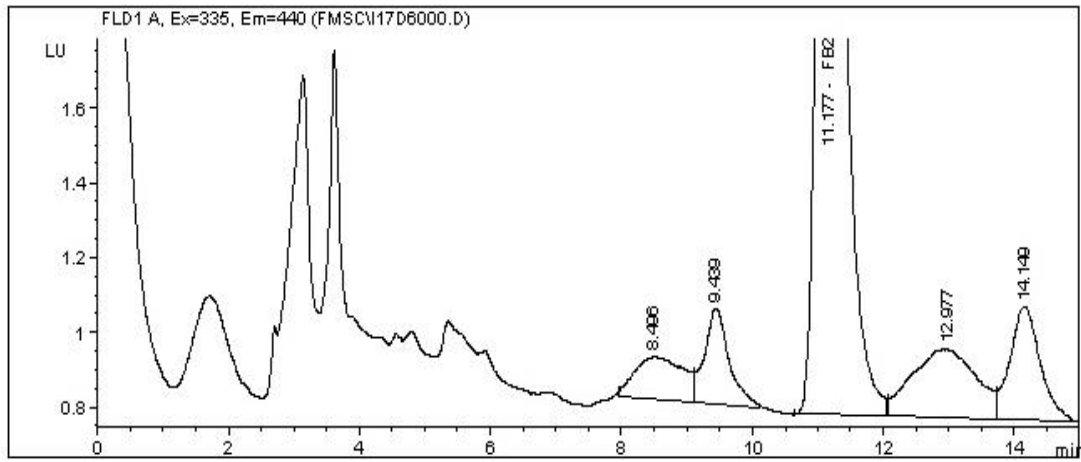
Şekil A.12 : Kuru incir ortamına inoküle edilen 4-03D5 nolu izolata ait kromatogram.



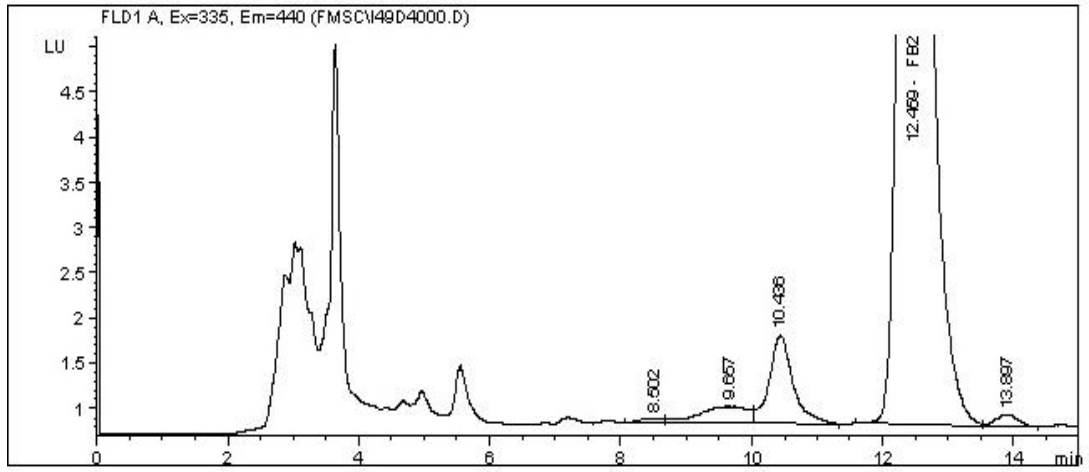
Şekil A.13 : Kuru incir ortamına inoküle edilen 6-03D7 nolu izolata ait kromatogram.



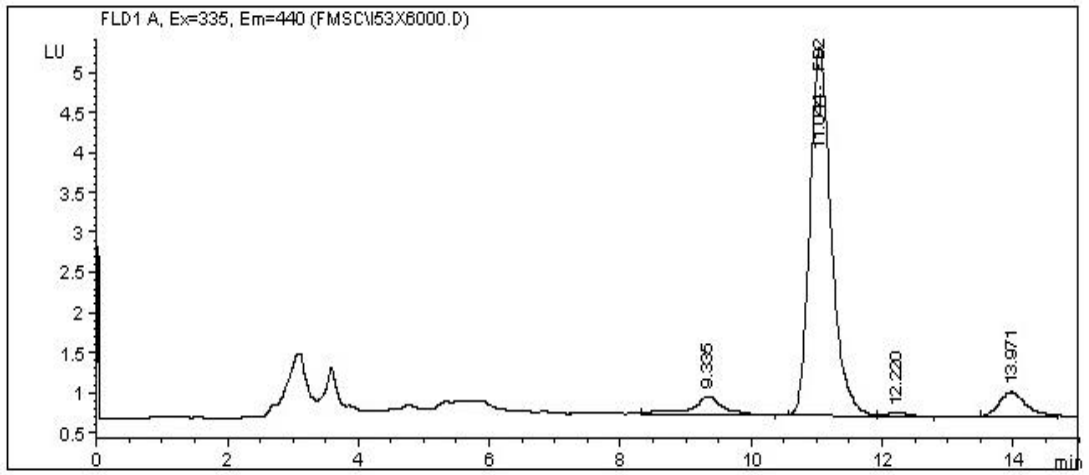
Şekil A.14 : Kuru incir ortamına inoküle edilen 9-03D4 nolu izolata ait kromatogram.



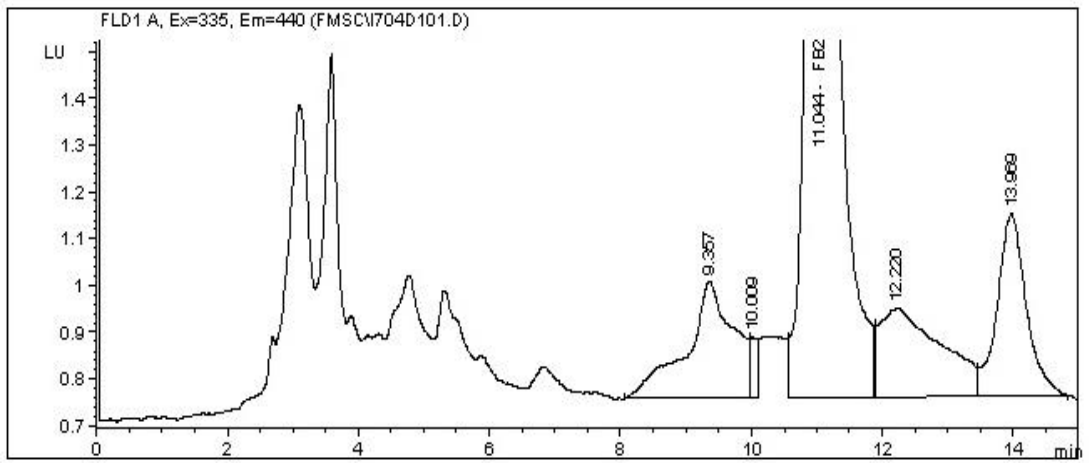
Şekil A.15 : Kuru incir ortamına inoküle edilen 17-03D6 nolu izolata ait kromatogram.



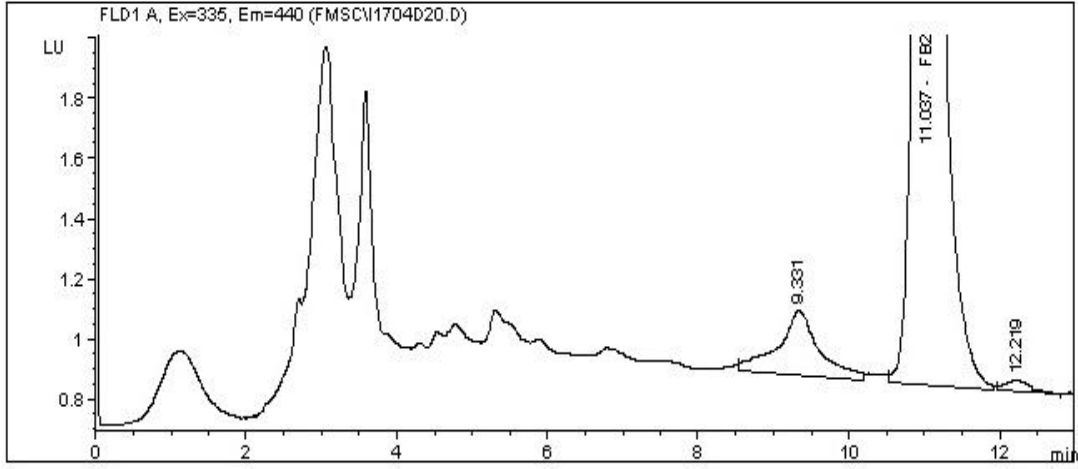
Şekil A.16 : Kuru incir ortamına inoküle edilen 49-03D4 nolu izolata ait kromatogram.



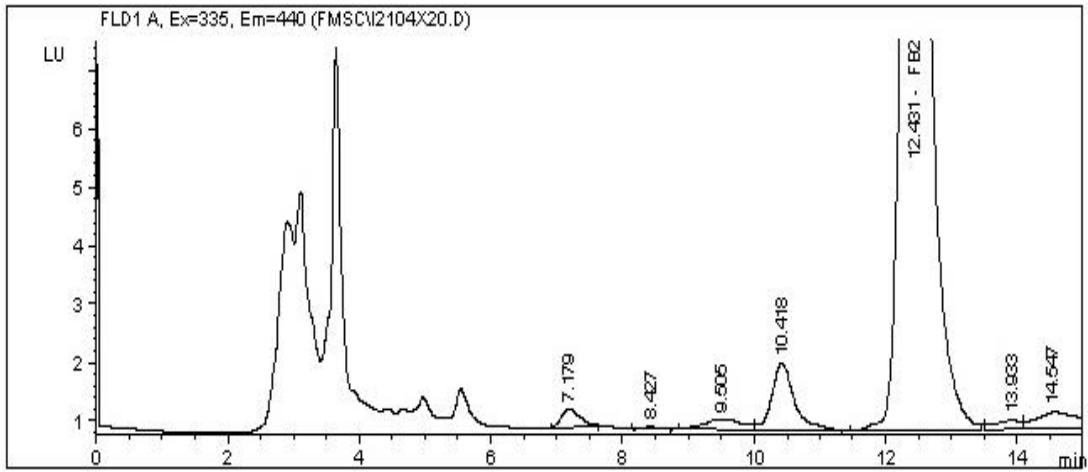
Şekil A.17 : Kuru incir ortamına inoküle edilen 53-03X6 nolu izolata ait kromatogram.



Şekil A.18 : Kuru incir ortamına inoküle edilen 7-04D1 nolu izolata ait kromatogram.



Şekil A.19 : Kuru incir ortamına inoküle edilen 17-04D2 nolu izolata ait kromatogram.



Şekil A.20 : Kuru incir ortamına inoküle edilen 21-04X2 nolu izolata ait kromatogram.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Ceren Daşkaya

Doğum Yeri ve Tarihi: Malatya/ 1985

Adres:

Lisans Üniversitesi: Ankara Üniversitesi

Yayın Listesi:

Daskaya, C., Hızarcı, O. and Heperkan, D. , 2010: Hardaliye: grape based non-alcoholic traditional beverage. *Traditional Foods From Adriatic to Caucasus*, 15-16 April 2010, Tekirdağ, Turkey.

Daskaya, C. and Heperkan, D., 2010: Fumonisin production by *Aspergillus section Nigri* from dried fig. *22nd International ICFMH Symposium Food Micro 2010*, 30August-3 September 2010, Copenhagen, Denmark.

Daskaya, C., Karbancıoğlu-Güler, F. and Heperkan, D., 2010: Comparison of culture media and TEMPO YM for the enumeration of yeast and moulds in tulum cheese. *22nd International ICFMH Symposium Food Micro 2010*, 30August-3 September 2010, Copenhagen, Denmark.

Daskaya, C., Karbancıoğlu-Güler, F. and Heperkan, D., 2010: Rapid determination of some microbiological properties of tulum cheeses by TEMPO® system. *1st International Congress on Food Technology*, 03-06 November 2010, Antalya, Turkey.

Daskaya, C., Moretti, A., Heperkan, D. and Logrieco, A., 2010: Toxigenic fungi and mycotoxin associated to figs in the Mediterranean area. *Mycotoxycological risks in Mediterranean countries: economic impact, prevention, management and control*, 25-27 October 2010, Cairo, Egypt.

Moretti, A., **Daskaya, C.,** Heperkan, D., Mule, G., Susca, A., Stea, G., Haidukowski, M., and Logrieco, A., 2010. Toxin, molecular and biological characterization of *Fusarium* isolated from fumonisin contaminated dried fig fruits in Turkey, *Global Mycotoxin Reduction Strategies: Research Advances in Asia and the Pacific Rim*, 1-4 December 2010, Penang, Malaysia.

