

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ASPERGİLLUS* SECTION *FLAVİ* GELİŞİMİNE VE TOKSİN ÜRETİMİNE
SÜRE- SICAKLIK ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Aysu DALGIÇ ESEN

Anabilim Dalı : Gıda Mühendisliği

Programı : Gıda Mühendisliği

HAZİRAN 2010

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ASPERGİLLUS* SECTION *FLAVİ* GELİŞİMİNE VE TOKSİN ÜRETİMİNE
SÜRE- SICAKLIK ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Aysu DALGIÇ ESEN
(506071516)**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 05 Mayıs 2010

Tezin Savunulduğu Tarih : 09 Haziran 2010

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

HAZİRAN 2010

ÖNSÖZ

Mikotoksinler ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesinin önemli sağlık sorunlarına ve ekonomik kayıplara yol açması sebebiyle, mikotoksin problemi gün geçtikçe önem kazanan bir araştırma konusu haline gelmiştir. *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* pek çok gıdada bulunmaları, bu gıdalarda bozulmaya yol açmaları ve en toksik mikotoksin grubu olan aflatoksinleri üretmeleri sebebiyle gıda endüstrisi açısından oldukça büyük öneme sahiptirler. Mevcut çalışmada, *A. flavus* ve *A. parasiticus* izolatlarının gelişimi ve mikotoksin üretmeleri üzerine sıcaklık ve sürenin etkisi katı besiyerinde incelenmiştir. Bu çalışma ile ülke ekonomisine ve literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Tez çalışmam boyunca, laboratuvar çalışmalarımın teorik tartışmalara kadar her aşamadaki akademik vizyon ve öngörüsü, ilgi ve desteği ile bu tez çalışmasının asıl nedeni olan çok değerli hocam Prof. Dr. Dilek Heperkan'a en derin teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans eğitimim süresince pek çok işverenin aksine, beni desteklemekten yorulmayan, umutsuzluğa kapıldığım her an teşviki ve hoşgörüsü ile yoluma devam etmemi kolaylaştıran Deyvi Florentin'e minnettarlığımı ve sonsuz teşekkürlerimi belirtmek isterim. Laboratuvar çalışmalarımın büyük katkı sağlayan, sabır ve hoşgörü gösteren İmge Oktay ve Ceren Daşkaya'ya, HPLC analizlerimde yardımcı olan Dr. Funda Karbancıoğlu Güler'e, istatistiksel analizler için değerli vaktini ayıran Prof. Dr. Alexander Papadopoulos'a, bu süreç içinde de bana güç ve mutluluk veren çok sevgili dostlarım Duygu Gürel, Ebru Akdoğan, Kıvanç Kemaloğlu'na, sevgi ve desteklerini her zaman hissettiğim anne ve babam başta olmak üzere tüm aileme çok teşekkür ederim. Ve son olarak, bu çalışmanın her bir satırında izi bulunan Dr. Oğul Esen'e, duyduğu akademik heyecana beni de ortak ettiği, emeği, anlayışı ve katkıları için teşekkür ederim.

Mayıs 2010

Aysu Dalgıç Esen
(Gıda Mühendisi)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER.....	v
KISALTMALAR.....	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÖZET	xv
SUMMARY	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1 <i>Aspergillus</i> Section <i>Flavi</i>	3
2.1.1 <i>Aspergillus flavus</i>	4
2.1.2 <i>Aspergillus parasiticus</i>	4
2.2 <i>Aspergillus</i> Section <i>Flavi</i> Tarafından Üretilen Toksinler.....	5
2.2.1 Aflatoksinler	5
2.2.2 Siklopiazonik asit	7
2.1.2 Aflatoksin ve siklopiazonik asitin birlikte bulunması	9
2.3 Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler	10
2.4 <i>Aspergillus</i> Section <i>Flavi</i> Gelişimine ve Toksin Üretimine	
Ortam Koşullarının Etkisi.....	11
2.4.1 Sıcaklık ve su aktivitesi	11
2.4.2 Besin içeriği	14
2.4.3 pH	15
2.4.4 Kültür ortamı	16
2.4.5 Çevredeki gazlar ve konsantrasyonu	16
2.4.6 Işık	17
2.4.7 Mikrobiyal rekabet	17
2.4.6 Kimyasal Maddeler.....	17
2.5 Aflatoksin Tayin Yöntemleri.....	18
3. MATERYAL VE METOT	23
3.1 Materyal.....	23
3.1.1 <i>Aspergillus</i> Section <i>Flavi</i> izolatları	23
3.1.2 Besiyeri.....	23
3.1.3 Kullanılan çözeltiler	24
3.1.3.1 Aflatoksin standart çözeltisi	24
3.1.3.1 HPLC kalibrasyon çözeltisi.....	24
3.1.3.1 Mobil Faz	24
3.2 Metot.....	25
3.2.1 <i>Aspergillus</i> Section <i>Flavi</i> gelişiminin belirlenmesi.....	25
3.2.2 Aflatoksin miktarının belirlenmesi.....	25
3.2.2.1 Ekstraksiyon	25
3.2.2.2 HPLC ile aflatoksin analizi	26

3.3 İstatistiksel Analiz.....	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1 Farklı Süre-Sıcaklık Uygulamalarının.....	
<i>Aspergillus</i> Section <i>Flavi</i> Gelişimine Etkisi.....	29
4.2 Farklı Süre-Sıcaklık Uygulamalarının.....	
<i>Aspergillus</i> Section <i>Flavi</i> Toksin Üretimine Etkisi	38
4.2.1 Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. flavus</i> 6Z2.....	
izolatının toksin üretimi.....	40
4.2.2 Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. flavus</i> 4104Z1	
izolatının toksin üretimi.....	43
4.2.3 Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. parasiticus</i> 52D1	
izolatının toksin üretimi.....	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR	53
EKLER	60

KISALTMALAR

ADI	: Acceptable Daily Intake
AF	: Aflatoksin
AFB₁	: Aflatoksin B ₁
AFB₂	: Aflatoksin B ₂
AFB_{2a}	: Aflatoksin B _{2a}
AFG₁	: Aflatoksin G ₁
AFG₂	: Aflatoksin G ₂
AFBG_{2a}	: Aflatoksin G _{2a}
AFM₁	: Aflatoksin M ₁
a_w	: Su aktivitesi
CPA	: Siklopiazonik asit
CYA	: Czapek yeast autolysate agar
EIA	: Enzyme Immuno Assay
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
HPLC	: High Performance Thin Layer Chromatography
HP-TLC	: High Performance Thin Layer Chromatography
IAK	: Immuno afinite kolon
MEA	: Malt extract agar
PBPB	: Piridinyum bromid perbromat
PBS	: Phosphate buffer saline
SPE	: Solid Phase Extraction
TFA	: Trifloroasetik asit
YES	: Yeast extract sucrose

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 : <i>Aspergillus</i> Section <i>Flavi</i> üyeleri	4
Çizelge 2.2 : Gıda maddelerindeki maksimum aflatoksin seviyeleri.....	7
Çizelge 3.1 : HPLC kalibrasyon çözeltileri ve içerdikleri AF miktarları.....	24
Çizelge 4.1 : Farklı sıcaklık uygulamalarında <i>Aspergillus</i> Section <i>Flavi</i>	
lag faz süreleri (dakika)	34
Çizelge 4.2 : <i>A. flavus</i> 6Z2 toksin miktarları.....	40
Çizelge 4.3 : <i>A. flavus</i> 4104Z1 toksin miktarları	43
Çizelge 4.4 : <i>A. parasiticus</i> 52D1 toksin miktarları.....	44
Çizelge 4.5 : <i>A. parasiticus</i> 52D1 ortalama toksin miktarları.....	45
Çizelge A.1 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>Aspergillus</i> Section <i>Flavi</i>	
grubu küflerin çap ölçüm değerleri (mm)	62
Çizelge C.1 : <i>A. flavus</i> 6Z2 gelişimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi	97
Çizelge C.2 : <i>A. flavus</i> 6Z2 AFB ₁ üretimine süre-sıcaklık etkisi	
varyans analizi	97
Çizelge C.3 : <i>A. flavus</i> 6Z2 AFB ₂ üretimine süre-sıcaklık etkisi	
varyans analizi	98
Çizelge C.4 : <i>A. flavus</i> 6Z2 toplam AF üretimine süre-sıcaklık etkisi.....	
varyans analizi.....	98
Çizelge C.5 : <i>A. flavus</i> 51D4 gelişimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi.....	98
Çizelge C.6 : <i>A. flavus</i> 4104Z1 gelişimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi....	99
Çizelge C.7 : <i>A. flavus</i> 4104Z1 AFB ₁ üretimine süre-sıcaklık.....	
etkisi varyans analizi.....	99
Çizelge C.8 : <i>A. parasiticus</i> 52D1 gelişimine süre-sıcaklık.....	
etkisi varyans analizi.....	100
Çizelge C.9 : <i>A. parasiticus</i> 52D1 AFB ₁ üretimine süre-sıcaklık.....	
etkisi varyans analizi.....	100
Çizelge C.10 : <i>A. parasiticus</i> 52D1 AFB ₂ üretimine süre-sıcaklık.....	
etkisi varyans analizi.....	101
Çizelge C.11 : <i>A. parasiticus</i> 52D1 AFG ₁ üretimine süre-sıcaklık.....	
etkisi varyans analizi.....	101
Çizelge C.12 : <i>A. parasiticus</i> 52D1 AFG ₂ üretimine süre-sıcaklık.....	
etkisi varyans analizi.....	101
Çizelge C.13 : <i>A. parasiticus</i> 52D1 toplam AF üretimine süre-sıcaklık.....	
etkisi varyans analizi.....	101
Çizelge C.14 : <i>A. flavus</i> 6Z2 AFB ₁ üretimine süre-sıcaklık.....	
etkisi Duncan testi sonuçları.....	102
Çizelge C.15 : <i>A. flavus</i> 6Z2 AFB ₂ üretimine süre-sıcaklık.....	
etkisi Duncan testi sonuçları.....	103
Çizelge C.16 : <i>A. flavus</i> 6Z2 toplam AF üretimine süre-sıcaklık.....	
etkisi Duncan testi sonuçları.....	104
Çizelge C.17 : <i>A. parasiticus</i> 52D1 AFB ₁ üretimine süre-sıcaklık.....	
etkisi Duncan testi sonuçları.....	105

Çizelge C.18 : <i>A. parasiticus</i> 52D1 AFB ₂ üretimine süre-sıcaklık.....	
etkisi Duncan testi sonuçları.....	106
Çizelge C.19 : <i>A. parasiticus</i> 52D1 AFG ₁ üretimine süre-sıcaklık.....	
etkisi Duncan testi sonuçları.....	107
Çizelge C.20 : <i>A. parasiticus</i> 52D1 AFG ₂ üretimine süre-sıcaklık.....	
etkisi Duncan testi sonuçları.....	108

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 : Aflatoksinlerin kimyasal yapıları.....	5
Şekil 2.2 : Siklopiazonik asitin kimyasal yapısı.....	8
Şekil 4.1 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. flavus</i> 6Z2 gelişimi (7.gün).....	30
Şekil 4.2 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. flavus</i> 51D4 gelişimi (7.gün).....	32
Şekil 4.3 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. flavus</i> 4104Z1 gelişimi (7.gün).....	33
Şekil 4.4 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. parasiticus</i> 52D1 gelişimi (7.gün).....	35
Şekil 4.5 : Sıcaklığın <i>A. flavus</i> 6Z2 gelişimine etkisi.....	36
Şekil 4.6 : Sıcaklığın <i>A. flavus</i> 4104Z1 gelişime etkisi.....	36
Şekil 4.7 : Sıcaklığın <i>A. flavus</i> 51D4 gelişimine etkisi.....	37
Şekil 4.8 : Sıcaklığın <i>A. parasiticus</i> 52D1 gelişimine etkisi.....	37
Şekil 4.9 : Aflatoksin B ₁ Kalibrasyon Grafiği.....	38
Şekil 4.10 : Aflatoksin B ₂ Kalibrasyon Grafiği.....	38
Şekil 4.11 : Aflatoksin G ₁ Kalibrasyon Grafiği.....	39
Şekil 4.12 : Aflatoksin G ₂ Kalibrasyon Grafiği.....	39
Şekil 4.13 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. flavus</i> 6Z2 küfünün aflatoksin B ₁ üretimi.....	41
Şekil 4.14 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. flavus</i> 6Z2 küfünün aflatoksin B ₂ üretimi.....	42
Şekil 4.15 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. flavus</i> 6Z2 küfünün toplam aflatoksin üretimi.....	42
Şekil 4.16 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. parasiticus</i> 52D1 küfünün aflatoksin B ₁ üretimi.....	46
Şekil 4.17 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. parasiticus</i> 52D1 küfünün aflatoksin B ₂ üretimi.....	46
Şekil 4.18 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. parasiticus</i> 52D1 küfünün aflatoksin G ₁ üretimi.....	47
Şekil 4.19 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. parasiticus</i> 52D1 küfünün aflatoksin G ₂ üretimi.....	47
Şekil 4.20 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında <i>A. parasiticus</i> 52D1 küfünün toplam aflatoksin üretimi.....	48
Şekil B.1 : 25°C’de <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı.....	79
Şekil B.2 : 30°C’de 1 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı.....	79
Şekil B.3 : 30°C’de 2 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı.....	80
Şekil B.4 : 30°C’de 3 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı.....	80
Şekil B.5 : 30°C’de 4 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı.....	80

Şekil B.6 : 35°C’de 1 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	81
Şekil B.7 : 35°C’de 2 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	81
Şekil B.8 : 35°C’de 3 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	81
Şekil B.9 : 35°C’de 4 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	82
Şekil B.10 : 40°C’de 1 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	82
Şekil B.11 : 40°C’de 2 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	82
Şekil B.12 : 40°C’de 3 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	83
Şekil B.13 : 40°C’de 4 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	83
Şekil B.14 : 45°C’de 1 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	83
Şekil B.15 : 45°C’de 2 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	84
Şekil B.16 : 45°C’de 3 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	84
Şekil B.17 : 45°C’de 4 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 6Z2 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	84
Şekil B.18 : 25°C’de <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının HPLC kromatogramı	85
Şekil B.19 : 30°C’de 1 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	85
Şekil B.20 : 30°C’de 2 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	85
Şekil B.21 : 30°C’de 3 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	86
Şekil B.22 : 30°C’de 4 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	86
Şekil B.23 : 35°C’de 1 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	86
Şekil B.24 : 35°C’de 2 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	87
Şekil B.25 : 35°C’de 3 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	87
Şekil B.26 : 35°C’de 4 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	87
Şekil B.27 : 40°C’de 1 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	88
Şekil B.28 : 40°C’de 2 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	88
Şekil B.29 : 40°C’de 3 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	88
Şekil B.30 : 40°C’de 4 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	89

Şekil B.31 : 45°C’de 1 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	89
Şekil B.32 : 45°C’de 2 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	89
Şekil B.33 : 45°C’de 3 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	90
Şekil B.34 : 45°C’de 4 saat bekletilen <i>A. parasiticus</i> 52D1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	90
Şekil B.35 : 25°C’de <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı	90
Şekil B.36 : 30°C’de 1 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	91
Şekil B.37 : 30°C’de 2 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	91
Şekil B.38 : 30°C’de 3 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	91
Şekil B.39 : 30°C’de 4 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	92
Şekil B.40 : 35 °C’de 1 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	92
Şekil B.41 : 35°C’de 2 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	92
Şekil B.42 : 35°C’de 3 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	93
Şekil B.43 : 35 °C’de 4 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	93
Şekil B.44 : 40°C’de 1 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	93
Şekil B.45 : 40°C’de 2 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	94
Şekil B.46 : 40°C’de 3 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	94
Şekil B.47 : 40 °C’de 4 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	94
Şekil B.48 : 45°C’de 1 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	95
Şekil B.49 : 45°C’de 2 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	95
Şekil B.50 : 45°C’de 3 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	95
Şekil B.51 : 45°C’de 4 saat bekletilen <i>A. flavus</i> 4104Z1 izolatının.....	
HPLC kromatogramı.....	96

ASPERGILLUS SECTION FLAVI GELİŞİMİNE VE TOKSİN ÜRETİMİNE SÜRE- SICAKLIK ETKİSİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Mikotoksinler küfler tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir. Mikotoksinler ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesinin pek çok önemli sağlık sorununa ve ekonomik kayıplara yol açması sebebiyle, mikotoksin kontaminasyonu tüm dünyada oldukça önem kazanan bir konu durumuna gelmiştir. *Aspergillus* Section *Flavi* grubu içinde yer alan *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* gıdalarda bozulmaya yol açan küfler içinde en yaygın bulunan türlerdir, pek çok gıdada bulunmaları ve mikotoksinler içerisinde en toksik mikotoksin grubu olan aflatoksinleri üretmeleri sebebiyle gıda endüstrisi açısından oldukça büyük öneme sahiptirler. Küf gelişimi ve mikotoksin üretimi sıcaklık ve süre gibi pek çok farklı çevresel faktörden etkilenmektedir. *A. flavus* ve *A. parasiticus* küflerinin üzerinde bu etkilerin incelenmesi gıda güvenliği açısından büyük bir öneme sahiptir.

Mevcut araştırmada, *A. flavus* ve *A. parasiticus* küflerinin gelişimi ve mikotoksin üretmeleri üzerine süre-sıcaklık etkisi, katı besiyerinde incelenmiştir. Küf izolatları farklı sürelerde (1, 2, 3 ve 4 saat) , farklı sıcaklık derecelerine (30°C, 35°C, 40°C, 45°C) maruz bırakılmış ve daha sonra 25°C'lik etüve alınarak 7 gün boyunca inkübe edilmiştir. Küf gelişimi günlük olarak takip edilmiş, aflatoksin analizleri, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen veriler, 25°C'de inkübe edilen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 30 ve 35°C'lik süre-sıcaklık uygulamalarının *A. flavus* gelişiminde bir farklılık yaratmadığını, ancak 40 ve 45°C'lik uygulamaların inkübasyonun 3. günü ve sonrasında *A. flavus* gelişiminde azalmaya sebep olduğunu ortaya koymaktadır. 45°C'lik uygulamaların inkübasyonun 2. günü ve sonrasında, 40°C'lik uygulamaların inkübasyonun 3. günü ve sonrasında *A. parasiticus* gelişiminde azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir. *A. parasiticus* gelişiminde 30 ve 35°C'lik uygulamaların ise küf gelişimini arttırdığı belirlenmiş, artış inkübasyonun ilk 5 günü istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur.

Aspergillus Section *Flavi* toksin üretimine süre-sıcaklık etkisi değerlendirildiğinde, 25°C'de 7 gün inkübe edilen küf izolatlarında aflatoksin B₁ üretiminin maksimum düzeyde olduğu, aflatoksin B₁ üretiminin süre-sıcaklık uygulamaları ile azaldığı belirlenmiştir. *A. flavus* 6Z2 izolatında 30, 35 ve 40°C'lik uygulamaların, *A. flavus* 4104Z1 izolatında 30, 35, 40 ve 45°C'lik uygulamaların, *A. parasiticus* izolatında ise 45°C'lik uygulamaların aflatoksin B₁ miktarında azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Sabit sıcaklıkta farklı süre uygulamalarının aflatoksin B₁ miktarında değişikliğe sebep olmadığı saptanmıştır. Aflatoksin B₂ miktarının, 1 ve 2 saat 40°C'lik uygulama sonucu *A. flavus* 6Z2 küfünde, 4 saat 35°C'lik uygulama ile *A. parasiticus* 52D1 küfünde arttığı, ancak *A. parasiticus* 52D1 küfünün aflatoksin B₂ üretiminin 40°C (2, 3 ve 4 saat) ve 45°C'deki uygulamalar ile azaldığı belirlenmiştir. 40 ve 45°C'lik uygulamaların aflatoksin G₁ üretiminde artışa neden olduğu saptanmıştır. *A. parasiticus* 52D1 izolatının aflatoksin G₂ üretiminde ve

toplam aflatoksin miktarında süre-sıcaklık uygulamalarının istatistiksel açıdan bir farklılığa sebep olmadığı belirlenmiştir.

DETERMINATION OF TIME-TEMPERATURE EFFECT ON GROWTH AND MYCOTOXIN PRODUCTION OF *ASPERGILLUS* SECTION *FLAVI*

SUMMARY

Mycotoxins are seconder metabolites of moulds. Mycotoxin contamination is an important worldwide issue because consumption of mycotoxin contaminated foods causes several cases of health problems and economic losses. *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* species in *Aspergillus* Section *Flavi* group are among the most commonly occurring food spoilage fungi and these species are of particular interest in food industry because their presence in lots of foods and their ability to produce aflatoxins which are a group of most carcinogenic mycotoxins. Fungal growth and mycotoxin production are influenced by a variety of extrinsic factors such as temperature and time. Investigating these factors on *A. flavus* and *A. parasiticus* has a great importance for food safety.

In the present research, effect of different time-temperature combinations on growth and mycotoxin production of *A. flavus* and *A. parasiticus* was evaluated in solid media. The isolates were incubated at 25°C for 7 days after they were exposed to different time (1, 2, 3 and 4 hours) - temperature (30°C, 35°C, 40°C, 45°C) effects. Fungal growth was examined daily. Aflatoxin production is determined by High Performance Liquid Chromatography.

According to results, time-temperature effect at 30 and 35°C has no influence on the growth of *A. flavus* whereas treatments at 40 and 45°C cause reduction in growth on the third day of incubation and thereafter relative to the control groups incubated at 25°C. It was found that treatments at 45°C and 40°C cause reduction in *A. parasiticus* growth on the second day and on the third day of incubation respectively, and the reduction in growth was seen in the days of following incubation. It was determined that the treatments at 30 and 35°C improves *A. parasiticus* growth, but statistically, the difference in growth was evaluated as being insignificant in the first 5 days of incubation.

Whilst the effect of time-temperature on mycotoxin production of *Aspergillus* Section *Flavi* is evaluated, it was found that the isolates incubated at 25°C for 7 days produce aflatoxin B₁ at maximum levels, aflatoxin B₁ production decreases by time-temperature effect. Treatments at 30, 35 and 40°C cause reduction of aflatoxin B₁ produced by *A. flavus* 6Z2 isolate, treatments at 30, 35, 40 and 45°C cause reduction of aflatoxin B₁ in *A. flavus* 4104Z1 isolate and treatments in 45 °C cause reduction of aflatoxin B₁ produced by *A. parasiticus* isolate. It was observed that, different time treatments at constant temperatures do not cause any change in aflatoxin B₁ concentration. 1 and 2 hours at 40°C for *A. flavus* 6Z2 and 4 hours at 35°C for *A. parasiticus* improves aflatoxin B₂ concentration, however, the concentration of aflatoxin B₂ produced by *A. parasiticus* 52D1 is decreased by treatments at 40°C (2, 3 and 4 hours) and at 45°C. It was found that the treatments at 40 and 45°C improves aflatoxin G₁ production. It was determined that, statistically, time- temperature

effects do not cause any difference on aflatoxin G₂ production and on total aflatoxin concentration of *A. parasiticus* 52D1.

1. GİRİŞ

Küfler, pek çoğu insanlar ve hayvanlar üzerinde olumsuz etkiye sebep olan, mikotoksinler olarak adlandırılan bir dizi sekonder metabolit üretmektedirler. Mikotoksinler filamentli küflerin misellerinde oluşmaktadır, ancak aynı zamanda bu organizmaların sporlarında da bulunabilmektedir. Sebep oldukları zararlı etki mikotoksikozis olarak adlandırılmaktadır (D'Mello ve Macdonald., 1997). Toksikjenik küfler bu toksik sekonder metabolitlerden bir veya daha fazlasını üretebilmektedir, ancak tüm küfler toksijenik değildir ve küflerden elde edilen tüm sekonder metabolitler de toksik değildirler (Hussein ve Brasel, 2001).

Aflatoksinler, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* küflerinin sekonder metabolitleridir. Yer fıstığı, mısır, pirinç, pamuk tohumu ve daha pek çok önemli tarımsal ürünü kontamine eden bu metabolitler, oldukça toksik, mutajenik, teratojenik ve karsinojenik bileşiklerdir. Bu küflerin gelişimi ve aflatoksin üretimi substrat tipi, küf türü, substratın nem içeriği, mineral maddelerin varlığı, çevrenin bağıl nemi, sıcaklık gibi pekçok faktöre bağlıdır (Rustom, 1997).

Küfler ve mikotoksinler, insan sağlığı, gıda ürünün güvenliği ve kalitesi açısından oldukça önemlidirler. *Aspergillus* Section *Flavi* grubu gıda ürünlerinde yaygın olarak gelişebilmeleri ve mikotoksinler içinde en toksik ve kanserojenik grubu oluşturan aflatoksinleri üretmeleri sebebiyle gıda endüstrisi açısından oldukça büyük öneme sahiptir. *A. flavus* siklopiazonik asit gibi başka mikotoksinler de üretmektedir. Bu mikotoksinlerin bir arada bulunması, *A. flavus*'un toksijenik potansiyelini arttırmakta ve daha fazla sağlık problemine ve ekonomik probleme yol açmaktadır. Toksikjenik küflerin gelişme ve toksin üretme koşullarının araştırılması, insan sağlığının ve gıda güvenliğinin sağlanması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, *Aspergillus* Section *Flavi* gelişimine ve aflatoksin üretimine farklı sıcaklık-süre uygulamalarının etkisi incelenmiştir. Böylece, hasat, kurutma, depolama sırasında ortaya çıkan sıcaklık farklılıklarının *Aspergillus* Section *Flavi* gelişimi ve toksin üretimini nasıl şekillendirdiğine yönelik veri elde edilmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 *Aspergillus* Section *Flavi*

Aspergillus Section *Flavi* üyelerinin saptanması, ilgili türlerin morfolojik özellikleri, mikotoksin profilleri ve DNA zincir analizleri baz alınarak yapılmaktadır (Ito ve diğ., 2001). Bu kriterler türlerin identifikasyonunda ve sınıflandırılmasında zaman zaman fikir ayrılıkları ve farklılıklar yaratabilmektedir (Scheidegger ve Payne, 2005). *Aspergillus* Section *Flavi* üyelerinden bazı türlerin sekonder metabolizmaları sırasında aflatoksin üretebilmeleri bu grubun en dikkat çekici özelliğidir. Bu grup içinde sınıflandırılan *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* başlıca aflatoksin üreticileri olarak kabul edilmektedirler (Scheidegger ve Payne, 2005). *A. flavus* türleri aflatoksin B₁ (AFB₁), aflatoksin B₂ (AFB₂) ve siklopiazonik asit (CPA) üretmekte ve mikotoksin üretme özellikleri yönünden büyük farklılıklar göstermektedirler. Bazı suşlar toksin üretmezken, bazı suşlar kuvvetli aflatoksin üreticisidirler (Horn ve Dorner, 1999). Farklı olarak, *A. parasiticus* AFB₁, AFB₂, aflatoksin G₁ (AFG₁) ve aflatoksin G₂ (AFG₂) üretmekte fakat CPA üretmemektedir. Genel olarak *A. parasiticus* yüksek miktarda aflatoksin üretmektedir ve aflatoksin üretmeyen suşlar oldukça nadir görülmektedir (Dorner ve diğ., 1994; Horn ve diğ., 1996; Tran-Dinh ve diğ., 1999). Gabal ve diğ. (1994) , *Aspergillus flavus* suşlarının önemli bir kısmının AFG₁ ürettiğini ve küçük bir kısmının da AFG₂ üretebildiğini ortaya koymuşlardır, ancak yaygın olarak kabul edilen görüş *A. flavus*'un sadece B toksinlerini ürettiğidir (Gabal ve diğ., 1994; Giorni ve diğ., 2007). *A. nomius* ise gıdalar açısından öneme sahip değildir (Pitt ve Hocking, 2009). Çizelge 2.1'de *Aspergillus* Section *Flavi* grubunu oluşturan küfler belirtilmektedir.

Çizelge 2.1 : *Aspergillus* Section *Flavi* üyeleri (Samson, 2001; Varga ve diğ., 2003).

Türler	Ürettikleri Toksinler	Kaynak
<i>Aspergillus avenaceus</i>		
<i>Aspergillus bombycis</i>	AFB ₁	Anon., 2010
<i>Aspergillus caelatus</i>	Kojik asit	Ito ve diğ., 1999
<i>Aspergillus flavus</i>	AFB ₁ , AFB ₂ , CPA	Pitt ve Hocking, 2009
<i>Aspergillus lanosus</i>	Oktaroksin A	Anon., 2010
<i>Aspergillus leporis</i>		
<i>Aspergillus nomius</i>	AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂	Anon., 2010
<i>Aspergillus oryzae</i>	CPA, kojik asit AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂ ,	Anon., 2010
<i>Aspergillus parasiticus</i>	kojik asit	Pitt ve Hocking, 2009
<i>Aspergillus pseudotamarii</i>	AFB ₁ , CPA	Anon., 2010
<i>Aspergillus sojae</i>		
<i>Aspergillus tamarii</i>	AFB ₁ , AFB ₂ , CPA, kojik asit Okratoksin A,	Goto ve diğ., 1996; Ito ve diğ., 1999
<i>Petromyces alliaceus</i>	Okratoksin B	Anon., 2010

2.1.1 *Aspergillus flavus*

Aspergillus flavus doğada, havada ve toprakta yaygın olarak bulunmaktadır (Horn ve diğ., 1996) Günümüzde pek çok gıdada *A. flavus* varlığı araştırılmış ve kuru yemişler, tahıl, baharat, kahve çekirdeği, soya fasulyesi, zeytin, süt, işlem görmüş et ürünleri, peynir, bazı işlem görmüş balık ürünleri ve bazı taze meyve ve sebzeler ve daha pek çok gıdada varlığına rastlanmıştır (Pitt ve Hocking, 2009).

A. flavus için minimum gelişme sıcaklığının 10-12°C, maksimum gelişme sıcaklığının 43-48°C ve optimum gelişme sıcaklığının ise 33°C civarında olduğu, optimum gelişim için gerekli pH değerinin 3.4-10 arasında olduğu belirtilmektedir (Pitt ve Hocking, 2009). *A. flavus*’ un 25°C’de 0.82 su aktivitesinde (a_w), 30°C’de 0.81 a_w ’de, 37°C’de ise 0.80 a_w ’de gelişebildiği bildirilmektedir (Pitt ve Miscamble, 1995).

2.1.2 *Aspergillus parasiticus*

Aspergillus parasiticus doğada, toprakta ve gıdalardan yer fıstığında yaygın olarak bulunmaktadır. Fındık, ceviz, antep fıstığı, mısır, pirinç, soya fasulyesi ve bazı işlem görmüş et ürünlerinde de *A. parasiticus* varlığı saptanmıştır (Pitt ve Hocking, 2009).

A. parasiticus, *A. flavus* gibi 25 ve 37°C’lerde hızla gelişmektedir. 12-42°C arasındaki sıcaklıklarda gelişebildiği, optimum gelişme sıcaklığının 32°C olduğu , *A. parasiticus*’ un *A. flavus* gibi 25°C’de 0.82 a_w ’de, 30°C’de 0.81 a_w ’de, 37°C’de ise

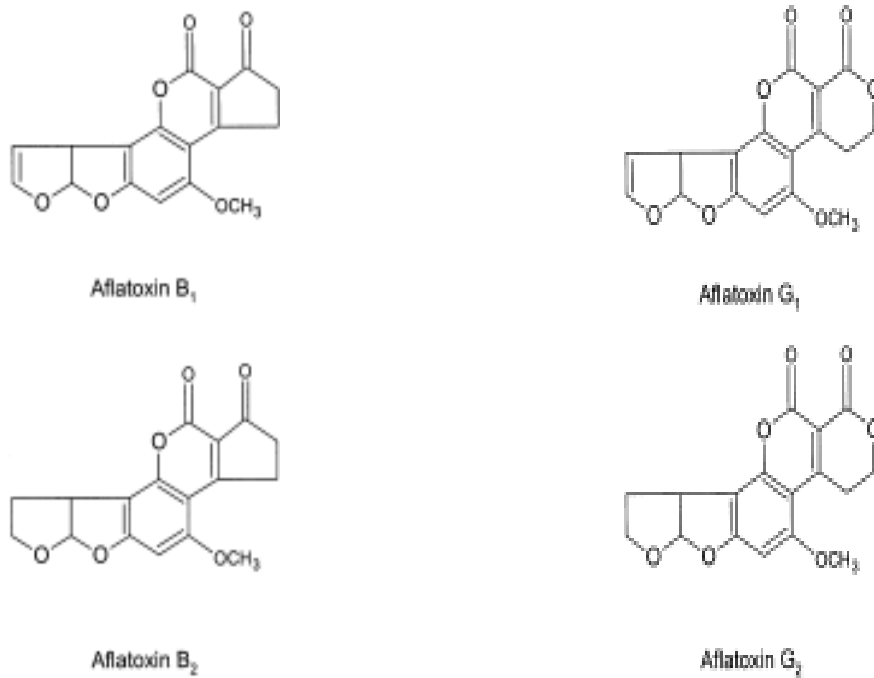
0.80 a_w'de gelişebildiği belirtilmektedir (Pitt ve Miscamble, 1995; Pitt ve Hocking, 2009).

2.2 *Aspergillus Section Flavi* Tarafından Üretilen Toksinler

2.2.1 Aflatoksinler

Aflatoksinler, difuranokumarin (difuranocoumarin) türevleridir. B toksinleri kumarin yapıdaki lakton halkasına eklenmiş siklopentenon halkası, G toksinleri ise ek bir lakton halkası içermektedir (Betina, 1989). Günümüzde 18 farklı aflatoksin (AF) varlığı bilinmektedir ve bunlar içinde aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂ ve M₁ en önemli türevler olarak kabul edilmektedir. Aflatoksinlerin isimlendirilmesi ince tabaka kromatografisinde UV ışığı altında aflatoksin B₁ ve B₂'nin mavi, aflatoksin G₁ ve G₂'nin ise yeşil floresan vermesiyle ilişkilidir, altsimge olarak gösterilen numaralarda 1 major, 2 ise minör bileşikler ifade etmektedir. Aflatoksin M₁ ise 4-hidroksiaflatoksin B₁'dir ve toksik yem ile beslenen memeli hayvanların sütlerinde ve idrarlarında bulunmaktadır (Davis ve Diener, 1987; Pitt ve Hocking, 2009).

Aflatoksin B₁'in molekül ağırlığı 312 birimdir ve ampirik formülü C₁₇H₁₂O₆ olarak belirtilmektedir. 268-269°C'de erimeden parçalanmaktadır, optik olarak aktiftir ve maksimum 223, 265 ve 262 nm'de UV absorpsiyonu göstermektedir (Davis ve Diener, 1987). Şekil 2.1'de aflatoksinlerin kimyasal yapıları verilmiştir.



Şekil 2.1 : Aflatoksinlerin kimyasal yapıları (Hussein ve Brasel, 2001).

Aflatoksinler, *Aspergillus* cinsi küflerden *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* tarafından pek çok gıdada, sıcaklık, bağıl nem ve gıdanın nem içeriği uygun olduğunda üretilmektedirler (Moreno ve Kang, 1999). İlk olarak, 1960 yılında, 100 000 kümes hayvanının *A. flavus* ile kontamine olmuş yemi tüketmeleri sonucu ölmeleri ile ortaya çıkan Turkey X hastalığı sonucunda izole edilmiş ve tanımlanmışlardır (D'Mello ve Macdonald., 1997; Hussein ve Brasel, 2001). Hububat ürünleri, kuru yemişler, baharatlar, incir ve kuru meyveler aflatoksin üretiminin görüldüğü gıdalardır (Iamanaka ve diğ., 2007). Küf gelişimi ve aflatoksin üretimi için optimum koşullar 25-30°C, %88-95 bağıl nem ve 2-3 hafta olarak kaydedilmiştir (Davis ve Diener, 1987). Gıda ve yem ürünlerinde aflatoksin miktarının sıcak ve nemli iklim koşullarına sahip tropikal ve subtropikal bölgelerde daha yüksek olduğu görülmektedir (Rustom, 1997). *A. parasiticus*'un gelişebilmesi için minimum sıcaklık derecesinin 6-8°C, maksimum sıcaklık derecesinin 44-46°C ve optimum sıcaklık derecesinin 25-35°C olduğu belirtilmektedir (Diener ve diğ., 1982). Yüksek toksik, kanserojenik, teratojenik, hepatoksik ve mutajenik karakterleri nedeniyle insan ve hayvan sağlığı üzerinde önemli bir tehdit oluşturmaktadırlar (Pariza, 1996; Chu, 1997). Aflatoksinler mikotoksinler içerisinde en toksijenik metabolitlerdir, AFB₁ *Aspergillus* cinsi tarafından üretilen en kanserojenik toksindir ve Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı tarafından Grup 1 kanserojen olarak sınıflandırılmıştır (IARC, 1993). Aflatoksinlerin sağlık üzerinde belirgin dört etkisi bulunmaktadır, bunlar; akut karaciğer hasarı, siroz, tümör oluşumunu hızlandırmaları ve teratojenik etki yaratmalarıdır. Ayrıca, hepatit B'li hastalarda karaciğer kanser riskinin aflatoksinler ile muamele sonucu 14 kat arttığı ortaya konmuştur (Williams ve diğ., 2004). Kwashiorkor hastalığı ile aflatoksinler arasında önemli bir korelasyon olduğu da belirtilmektedir (Hattem ve diğ., 2005).

Aflatoksinlerin gıdalarda sıklıkla bulunması ve önemli sağlık problemlerine yol açması sebebiyle, gıda ve yemlerde bu toksinlerin inaktivasyonuna yönelik bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler uygulanmaktadır. Fiziksel metodlar ile inaktivasyon, ekstraksiyon, adsorpsiyon, ısıl işlem, ışınlama, UV uygulamasını kapsamaktadır. Kimyasal yöntemlerde, aflatoksinler çeşitli asit, baz, yükseltgen madde, bisülfid ve gazlar ile muamele edilerek daha az toksik ve mutajenik bileşiklere çevrilmektedirler. Pekçok bakteri ve asit üreten küfler aflatoksini inaktive

etmektedir. Bunlar içerisinde *Flavobacterium aurantiacum* bilinen en aktif organizmadır (Rustom, 1997).

Çeşitli ülkelerde gıda ve yemlerde bulunabilecek en yüksek aflatoksin miktarları ile ilgili yasal sınırlamalar mevcuttur. Çizelge 2.2’de gıda maddelerinde bulunabilecek en yüksek aflatoksin seviyeleri verilmiştir.

Çizelge 2.2 : Gıda maddelerindeki maksimum aflatoksin seviyeleri (TGK, 2008/26)

Gıda Maddesi	Maksimum limit (µg/kg)		
	B1	B1+B2+G1+G2	M1
Fındık, antepfıstığı gibi sert kabuklu meyveler, yer fıstığı, yağlı tohumlar, kuru meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar *		10,0	
Yerfıstığı (doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8,0	15,0	
Tahıllar (karabuğday (<i>Fagopyrum</i> sp.) dahil) ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar (doğrudan tüketilen veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	2,0	4,0	
Mısır (doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5,0	10,0	
Çiğ süt, ısıtılmış işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt			0,050
Baharatların aşağıdaki türleri için; Kırmızıbiber (<i>Capsicum</i> spp.)(bunların kurutulmuş meyveleri, kırmızıbiber ve acı kırmızıbiberin bütün ve toz hali dahil) Karabiber (<i>Piper</i> spp.) (bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) Hintceviz/Muskat (<i>Myristica fragrans</i>) Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>) Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i>)	5,0	10,0	
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0,10		
Bebek formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)			0,025
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0,10		0,025
Diğer gıda maddeleri (bulunması muhtemel riskli gıdalar)	5,0	10,0	0,5

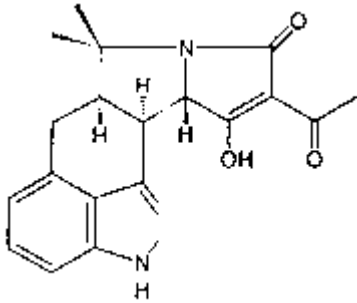
*TGK, 2009/22

2.2.2 Siklopiazonik asit

Siklopiazonik asit (CPA) bir toksik indol tetramik asittir ve ilk olarak Holzapfel tarafından *Penicillium cyclopium*’den izole edilmiştir (Holzapfel, 1968). Daha sonra

yapılan çalışmalarda *P. caseololum*, *P. crustosum*, *P. patulum*, *P. viridicatum*, *A. flavus*, *A. oryzae* ve *A. versicolor* tarafından da CPA üretildiği kaydedilmiştir (Dorner ve diğ. 1983). CPA üreticisi küfler sosis, jambon, frankfurter, peynir, ceviz, mısır, fıstık gibi gıdalardan ve karışık yemlerden izole edilmişlerdir (Davis ve Diener, 1987).

Siklopiazonik asit moleküler ağırlığı 336,39 olup, erime noktası 245°C'dir. Optik olarak aktiftir. Renksiz, kristal bileşik veya grimsi beyaz renkte higroskopik toz halinde bulunmaktadır. Kloroformda, diklorometanda, metanolde, asetonitrilde ve sodyum bikarbonatta çözünabilmektedir. Kuru halde +4 °C'de stabildir (Anon., 2009). Şekil 2.2'de siklopiazonik asitin kimyasal yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2.2 : Siklopiazonik asitin kimyasal yapısı (Anon., 2009).

Siklopiazonik asitin insan sağlığı üzerindeki etkisi net olarak bilinmemektedir, ancak hayvanlarda ortaya çıkan bazı hastalıklardaki etkisinin kuvvetli olduğu gösterilmiştir (Pitt, 2009). CPA sadece yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu toksik özellik göstermektedir. Farelere karın bölgesinden enjekte edildiğinde nörotoksijenik özellik gösterdiği görülmüştür. Toksinin oral yolla verilmesi ile yapılan çalışmalarda ise herhangi bir kasılma belirlenmemiştir. CPA'nın kilo kaybına, ishale, su kaybına, depresyon, hareket azalması, kasılma ve ölüme neden olduğu rapor edilmiştir (Anon., 2009).

Siklopiazonik asidin Turkey X hastalığından, aflatoksinle birlikte sorumlu olduğu sanılmaktadır. Hastalığa neden olan aflatoksinle kontamine yerfıstığında siklopiazonik asidin varlığı da tespit edilmiştir (Dorner, 2002; Norred ve ark., 1988). Siklopiazonik asit ile ilgili olan diğer bir vaka da Hindistan'da *A. flavus* ve *A. tamarii* ile kontamine olmuş darı tüketilmesi sonucu ortaya çıkan "kodua zehirlenmesi" olarak bilinen olaydır (Dorner, 2002; Hayashi ve Yoshizawa, 2005; Anon., 2009). Siklopiazonik asit gıdalarda çok düşük olarak bulunduğundan, insanların toksine

maruz kalma durumunun sınırlı olacağı düşünülerek herhangi bir yasal standart hazırlanmamıştır. Siklopiazonik asitin bazı ürünlerde aflatoksinle birlikte bulunmasından dolayı aflatoksin için belirlenen yasal standartlar ile dolaylı olarak önlenilecek olması da olası diğer bir neden olarak gösterilmektedir. Günlük alınabilecek miktar (acceptable daily intake, ADI) yaklaşık olarak 10 µg/kg/gün veya 700 µg/gün olarak belirtilmiştir (Anon., 2009).

2.2.3 Aflatoksin ve siklopiazonik asitin birlikte bulunması

Gallagher ve diğ. (1978) yaptıkları çalışmada *A. flavus* ile kontamine olmuş mısırlarda, 54 *A. flavus* izolatının 28 adetinin CPA, 18 adetinin aflatoksin ürettiklerini belirlemişler ve mısırdaki CPA varlığına ve aflatoksin ile birlikte bulunduğu işaret etmişlerdir.

Lansden ve Davidson (1983), Amerika Birleşik Devletleri'nin güneydoğusunda 1980 yılında yetiştirilen yerfıstıklarında aflatoksin ve CPA varlığını incelemişler, kabuğu ayrılmış tanelerin 27'sinin 21'inde miktarı 32 ile 6,525 µg/kg (ppb) arasında değişen, olgun tanelerin 21'inin 4'ünde ise miktarı 32 ile 130 µg/kg (ppb) arasında değişen CPA varlığına rastlamışlardır. Kabuğu ayrılmış 27 yerfıstığı örneğinin 26 adedinde ve 21 olgun tanenin 20 adedinde aflatoksin varlığını gözlemlemişlerdir.

Lee ve Hagler (1991), 7 parti (truckload) mısırın mikotoksin kontaminasyonunu inceledikleri çalışmada, analize alınan 7 parti numuneden 4'ünde, konsantrasyonu 25-250 ng/g (ppb) olmak üzere siklopiazonik asit, 7 partinin tamamında konsantrasyonu 3 ng/g-501 ng/g AF B₁ ve AFB₂ varlığı tespit etmişlerdir.

Urano ve ark. (1992a), Georgia'da 1990 yılında yetiştirilen 50 yer fıstığı ve 45 mısır örneğinde CPA ve aflatoksin varlığını incelemişlerdir. Analiz edilen mısır örneklerinden %51'inde miktarı 25 ile 2800 ng/g (ppb) arasında CPA ve %87'sinde miktarı 1 ile 2300 ng/g (ppb) arasında AF tespit edilmiştir. 50 yer fıstığı örneğinin %90'nının 50 ile 2900 ng/g (ppb) arasında CPA, %100'nün 3 ile 22000 ng/g (ppb) AF ile kontamine olduğu bulunmuştur.

Pinto ve diğ. (2001), 50 adet yer fıstığı üzerinde yaptıkları çalışmada, iki örnekte hem aflatoksin hem de CPA varlığı tespit etmişlerdir. Pozitif örneklerin CPA konsantrasyonları 4300 µg/kg ve 493 µg/kg olarak, aflatoksin konsantrasyonları B₁ için 625 µg/kg ve 435 µg/kg; G₁ için 625 ve 83 µg/kg olarak belirlenmiştir.

Vaamonde ve diğ. (2003), yer fıstığı, buğday ve soya fasulyesinden izole ettikleri *Aspergillus* Section *Flavi* izolatlarının aflatoksin B ve G ile CPA üretme davranışlarını incelemişlerdir. *A. flavus*'un tüm substratlarda baskın tür olduğu, yalnızca fıstıkta *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un aynı oranda bulunduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmada *A. nomius*'a rastlanmamıştır. Aflatoksijenik *A. flavus* suşlarının en yoğun olarak fıstıkta bulunduğu (%73), buğdayda bu oranın %13 ve soya fasulyesinde %5 olduğu belirtilmiştir. CPA üreticisi *A. flavus* suşlarının ise tüm izolatlarda oldukça yüksek miktarlarda (fıstıkta % 94, buğdayda % 93 ve soya fasulyesinde %73) bulunduğunu ifade etmişlerdir. Aflatoksin B ve CPA üretebilen suşlar ise yer fıstığında %63, soya fasulyesinde %5 ve buğdayda %13 olarak bulunmuştur. İncelenen 130 izolat içinde aflatoksin B üreten, ancak CPA üretmeyen izolat sayısının oldukça düşük (%2.2) olduğu kaydedilmiştir.

Oliveira ve ark. (2006) Haziran-Aralık 2004'de Brezilya'da ticari olarak satışa sunulan 48 adet süt örneğinde aflatoksin M₁ ve CPA varlığını incelemişlerdir. Örneklerin 37 adedinde 0.011-0.251 µg/l seviyesinde AFM₁ ve 2 örnekte 6.4 ve 9.7 µg/l seviyesinde CPA bulunmuştur.

2.3 Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Mikotoksin oluşumunu etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır. Bu faktörler biyolojik, kimyasal ve fiziksel faktörler olarak ayrılabilirler (D'Mello ve diğ., 1997).

Biyolojik faktörler, toksijenik fungal türler ve substratın birbirlerine olan etkilerine bağlı olan faktörlerdir. Küfün türü, suşu, substratın küfe karşı hassasiyetini ve toksijenik özelliklerinin stabilitesini etkilemektedir (Hussein ve Brasel, 2001). Ayrıca, tarım ürününün veya gıdanın çeşidi, kimyasal kompozisyonu, ürünün nem içeriği ve olgunluk durumu da bu faktörlere dahil edilebilmektedir (Tunail, 2000). Kimyasal faktörler, fungusit ve/veya gübre kullanımını içermektedir. Kuraklık, sıcaklık artışı ve bağıl nemdeki değişiklik gibi stres etkisi yaratan etkenler ve ayrıca mevsim normallerin dışındaki şartlar küf kolonizasyonunu ve metabolizmalarını ve dolayısıyla da mikotoksin üretimini etkileyebilmektedir (Hussein ve Brasel, 2001).

Fiziksel faktörler, örneğin; süre, sıcaklık, bağıl nem, atmosferik oksijen, diğer modifiye atmosfer gazları, ışık, pH, hasat, işleme ve depolama koşulları ile böcek

istilası gibi küf kolonizasyonu ve mikotoksin üretimine sebep olan çevresel faktörlerdir (Tunail, 2000; Hussein ve Brasel, 2001).

Küf gelişimi ve mikotoksin üretimi çevresel faktörlere bağlıdır ve genel olarak mikotoksin üretiminde çevresel faktörlerin etkisi, gelişim üzerindeki etkilerinden daha fazla ve daha kısıtlayıcıdır (Frisvad ve Samson, 1991).

2.4 *Aspergillus Section Flavi* Gelişimine Ve Toksin Üretimine Ortam Koşullarının Etkisi

Aspergillus Section Flavi'nin gelişimi ve toksin üretimine sıcaklık ve su aktivitesi, substratın, besin içeriği, pH, kültür ortamı, çevredeki gazlar ve konsantrasyonu, ışık gibi ortam koşullarının etkisi pek çok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Aşağıda bu konudaki çalışmalar ayrıntılı olarak verilmiştir.

2.4.1 Sıcaklık ve su aktivitesi

Mikroorganizmaların su gereksinimi, genel olarak geliştikleri ortamın sahip olduğu su aktivitesi (a_w) değeri üzerinden ifade edilmektedir. Su aktivitesi; bir ortamdaki mikrobiyal gelişme ve aktivite için gerekli olan kullanılabilir suyun bir göstergesidir ve ortamdaki kullanılabilir su, hem küf gelişimi hem de toksin üretimi için gereklidir (Temiz, 1999; Klich, 2007). Bu değer standart koşullar altında gıdanın (veya daha genel bir ifadeyle gelişme ortamının) buhar basıncının (P) aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncına (P_o) oranıdır. Su aktivitesi aşağıdaki formül ile ifade edilir.

$$a_w = P/P_o$$

Saf suyun buhar basıncı, gıda yüzeyinden uzaklaşan su miktarına bağlıdır. Buharlaşarak havaya karışan su ise bağıl nem olarak ifade edilmektedir. Bağıl nem ile su aktivitesi arasında aşağıda belirtildiği şekilde bir ilişki vardır;

$$\text{Bağıl nem} = 100 \times a_w$$

Her mikroorganizma veya mikroorganizma grubunun gelişebildiği bir minimum ve optimum a_w değeri vardır. Su aktivite değeri optimum gelişme sınırının altına düştükçe mikroorganizmaların lag fazı (uyum fazı) kademeli olarak uzamaya başlamakta ve bu da üreme, spor çimlenmesi ve hücre maddeleri sentezi olaylarında gecikmelere neden olmaktadır (Temiz, 1999). Düşük a_w değerlerinde bazı durumlarda çimlenme görülebilir ancak küf gelişimi görülmez, örneğin 0.75 a_w 'de

A. flavus konidyaları çimlenmekte ancak küf gelişimi daha ileri aşamaya gitmemektedir. Çimlenme için gerekli lag fazı genel olarak a_w değerindeki azalma ile birlikte artmaktadır. Yüksek a_w değerlerinde pek çok küf sporunun birkaç saat ile birkaç gün arasında değişen sürelerde hızla çimlendiği, ancak düşük a_w değerlerinde çimlenmenin haftalar, hatta aylar sürebileceği belirtilmektedir. Çimlenme borusundaki uzama yüksek su aktivitesi değerlerinde oldukça hızlıdır, a_w düştükçe uzama hızı da düşmektedir. Sabit a_w 'de sıcaklık değeri optimum olduğunda çimlenme borusunun uzaması maksimum seviyededir (Lacey et al., 1991). Yapılan çalışmalar genel olarak aflatoksin üretiminin yüksek su aktivitesi değerlerinde daha fazla olduğunu ortaya koymaktadır (Klich, 2007). YES (yeast extract sucrose) besiyerinde NaCl miktarının %1 seviyesinden %12'ye artırılmasının aflatoksin üretimini ve küf gelişimini azalttığı gösterilmiştir (Shahin ve Aziz, 1997).

Sıcaklık mikrobiyal gelişmeyi etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Her mikroorganizma veya mikroorganizma grubunun, gelişebildiği minimum, optimum ve maksimum sıcaklık değeri bulunmaktadır. Ancak bu sıcaklıkların her biri mikroorganizma/mikroorganizma grubu için sabit bir değer değildir ve genellikle belli bir sıcaklık aralığı olarak verilir. Bu durum mikroorganizmalardaki bireysel farklılıklar ve gelişme sıcaklığının diğer çevre faktörlerinden etkilenmesinden kaynaklanmaktadır (Temiz, 1999).

Pamuk tohumu, kabuklu fıstık ve pirinçte iki *A. flavus* ve iki *A. parasiticus* suşunun aflatoksin üretme aralıklarının 10-40°C arasında incelendiği bir çalışmada, optimum aflatoksin üretim aralığı 20-35°C olarak belirlenmiş, suşların 10 ve 40°C'de ise çok düşük miktarlarda aflatoksin ürettikleri belirtilmiştir (Schroeder ve Hein, 1967).

Aspergillus Section *Flavi* üyelerinden pirinçte aflatoksin üreten üç suşun, 25, 30 ve 34°C'de ürettikleri aflatoksin miktarı incelenmiş ve aflatoksin üretiminin tüm suşlar için 34°C'de diğer sıcaklık değerlerine göre daha az olduğu belirtilmiştir (Hara ve diğ., 1973).

Shih ve Marth (1974), agarlı besiyerinde geliştirilen *A. parasiticus* NRRL 2999 suşunun maksimum aflatoksin üretiminin 25°C'de gerçekleştiğini, maksimum küf gelişiminin ise 35°C olduğunu belirtmişlerdir. Aynı suş ile ezilmiş ve bütün haldeki mısır tanelerinde 15, 20, 30 ve 40°C'de yapılan bir diğer çalışmada, 30°C'de AFB₁

üretiminin en yüksek seviyede olduğu, bunu sırasıyla 40°C ve 20°C'nin izlediği belirtilmiştir (Durakovic ve diğ., 1987).

Su aktivitesi ve sıcaklık arasında kuvvetli bir etkileşim bulunmaktadır (Durakovic ve diğ., 1987). *A. flavus* ve *A. parasiticus*' un 25°C'de 0.82 a_w'de, 30°C'de 0.81 a_w'de, 37 °C'de ise 0.80 a_w'de gelişebildiği bildirilmektedir (Pitt ve Miscamble, 1995).

Ribeiro ve diğ. (2006), arpa köklerinde *A. flavus*'un AFB₁ üretimi üzerine su aktivitesi, sıcaklık ve inkübasyon süresinin etkisini 0.80, 0.90 ve 0.95 su aktivitesi değerlerinde, 25 ve 30°C'de, 7, 14 ve 21. günlerde incelemişlerdir. Yapılan çalışmada, en yüksek AFB₁ seviyesine 0.95 su aktivitesi ve 25°C'de 21 gün inkübe edilen örneklerde rastlanmıştır. Aynı sıcaklıkta su aktivitesi değeri 0.80'e düştüğünde en yüksek AFB₁ üretiminin 14 günlük inkübasyon sonucunda elde edildiği bulunmuştur. 30°C'de su aktivite değerlerindeki artış AFB₁ oluşum miktarını azaltmıştır. Bu sonuçların aksine, arpada aynı değişkenlerin *A. flavus*'un AFB₁ üretimi üzerine etkisini inceleyen Ramakrishna ve diğ. (1996), 0.95 su aktivitesinde 30°C'de AFB₁ üretiminin 25°C'den daha fazla olduğunu, 0.90 a_w de üretilen AFB₁ miktarının 25 ve 30°C'lerde farklılık göstermediğini ve 7, 14 ve 21 günlük inkübasyon sürelerinin AFB₁ oluşumu üzerinde önemli bir etki teşkil etmediklerini ortaya koymuşlardır.

Su aktivitesi, sıcaklık ve inkübasyon süresinin *A. flavus* tarafından oluşturulan CPA ve toplam AF miktarı üzerine etkisi 0.996, 0.95, 0.90 ve 0.85 su aktivitelerinde, 37, 30, 25 ve 20°C'lerde, 20, 15, 10 ve 5 gün inkübasyon sürelerinde, yeast extract sucrose agar (YES) ve Czapek yeast autolysate agar (CYA) besiyerlerinde incelenmiştir. Bu çalışmada, AF üretimi için optimum sıcaklığın 30°C ve CPA için 25°C olduğu belirtilmiştir. Tüm su aktivitesi değerlerinde, CPA üretimi 37°C'de en düşük seviyede iken, bunu 20 ve 30°C sıcaklıklar izlemiştir. Her iki toksin için maksimum miktar 0,996 su aktivitesi ve 15 gün inkübasyon süresi sonucunda elde edilmiştir (Gqaleni ve diğ.; 1997).

Giorni ve diğ. (2007), sıcaklığın ve su aktivitesinin *Aspergillus* Section *Flavi* gelişimi ve aflatoksin üretimi üzerindeki etkisini incelemişler, bu amaçla 15, 25 ve 30°C sıcaklıklarda ve 0.83, 0.94 ve 0.995 su aktivitesinde Czapek Dox Agar besiyerinde çalışmışlardır. 15°C'de küf gelişimin en düşük düzeyde olduğu 25° ve 30°C'lerde ise küf gelişiminin benzer düzeyde olduğu kaydedilmiştir. Çalışmada 38 suş ile çalışılmış, 25°C'de aflatoksin B₁ üreten suş sayısının diğer sıcaklıklardan daha

fazla olduğu 29 suşun AFB₁ ürettiği belirtilmiştir. 15°C’de üretilen aflatoksin miktarı 0-423 ng/g iken, bu miktar 25°C’de 0-2406 ng/g ve 30°C’de 0-505ng/g olarak kaydedilmiştir. Dört *A. flavus* suşunun 15°C’de AFG₁ ve AFG₂ ürettiği, 25°C’de altı *A. flavus* suşunun sadece AFG₁ ürettiği ve incelenen suşlardan hiçbirinin 30°C’de AFG₁ veya AFG₂ üretmediği görölmüştür. 0.83 su aktivitesinde gelişimin diğer iki su aktivitesi değerinden oldukça farklı ve düşük olduğu görölmüştür, aflatoksin üretiminin 0.995 su aktivitesinde optimum ve 0.83 su aktivitesinde minimum olduğu görölmüştür. 20 suşun hiçbir su aktivitesinde AFB₁ üretmediği, 0.83 su aktivitesinde 0-5 ng/g , 0,94 su aktivitesinde 0-1423 ng/g ve 0,995 su ativitesinde 0-11039 ng/g AFB₁ üretildiği belirtilmiştir. AFG₁ ve AFG₂ üretimine hiçbir su aktivitesi değerinde rastlanmamıştır.

2.4.2 Besin içeriği

Besinsel faktörler aflatoksin üretiminin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar (Klich, 2007).

Karbonhidrat kaynağının aflatoksin üretiminde önemli etkisi bulunduğu ortaya konmuştur (Klich, 2007). Davis ve diğer. (1967) yaptıkları çalışmada, *A. parasiticus*’un karbon kaynağı olarak glikoz ve sukrozu kullandığında en yüksek seviyede aflatoksin ürettiğini, bu sırayı aflatoksin oluşturma miktarlarına göre azalan sırayla fruktoz, rafinoz, mannitol ve galaktozun takip ettiğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada, laktozun tek başına *A. parasiticus* gelişimi için yeterli olmadığı da gösterilmiştir.

Azot kaynağının aflatoksin üretiminde büyük etkisi bulunmaktadır. *A. flavus* 61V suşunun farklı azot kaynaklarını kullanarak AFB₁ üretimi incelenmiş, kasamino asitlerin en yüksek aflatoksin üretimine neden olduğu, bunu sodyum glutamat, glisin, amonyum nitrat, üre, amonyum klorür ve sodyum nitratın takip ettiği belirtilmiştir (Thapar, 1988). Payne ve Hagler (1983) dört farklı aminoasiti azot kaynağı olarak kullanan *A. flavus* ve *A. parasiticus*’un prolin ve asparajin aminoasitlerinde triptofan ve metionine göre daha fazla aflatoksin ürettiklerini belirlemişlerdir. *A. parasiticus* ATCC 36537 ile yapılan bir çalışmada nitratın aflatoksin üretimini azalttığı belirtilmiştir (Niehaus ve Jiang, 1989). Kafeinin *A. parasiticus* NRRL 2999 küfünün karbonhidrat kullanımını azaltarak aflatoksin oluşumunu inhibe ettiği belirtilmiştir (Buchanan et al. 1983).

Aziz ve Moussa (1997), sentetik besiyerinde iz elementlerin AFB₁ üretimine olan etkilerini incelemişler, demir, bakır ve çinko elementlerinin *A. flavus* tarafından üretilen AFB₁ miktarını arttırdıklarını belirlemişlerdir. Bu sonuçlar Davis ve diğ. (1967) buldukları sonuçlar ile benzerlik göstermektedir, ancak Aziz ve Moussa (1997) dan farklı olarak Davis ve diğ. (1967) yaptıkları çalışmada demirin misel gelişimini azalttığını ortaya koymuşlardır. *A. parasiticus*'un magnezyum ve çinko mineralleri yokluğunda aflatoksin üretmediği, ayrıca demir ve molibden yokluğunda aflatoksin seviyelerinin oldukça düştüğü kaydedilmiştir. Aynı çalışmada bakır, bor ve manganezin ise aflatoksin üretiminde çok az etki gösterdikleri ifade edilmiştir (Davis ve diğ., 1967). Marsh ve diğ. (1975) tarafından yapılan bir başka çalışmada 1-25 µg/ml çinkonun besiyerine eklenmesinin *A. parasiticus*'un aflatoksin üretimini arttırdığı göstermiştir. Ancak *A. flavus*'un gıdalara aşılmasında bu ilişki *A. parasiticus*-çinko ilişkisi kadar açık değildir (Obidoa ve Ndubuisi, 1981).

2.4.3 pH

Buchanan ve Ayres (1975), ortamın ilk pH değerinin *A. parasiticus* NRRL 2999 suşunun ürettiği aflatoksin üzerinde büyük bir etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, başlangıç pH değeri 5-7 arasında olan ortamlarda gelişen *A. parasiticus* suşunun daha fazla toksin ürettiği gözlemlenmiştir. Maksimum gelişimin başlangıç pH değeri 5 olan besiyerinde olduğu, maksimum toksin üretiminin ise başlangıç pH seviyeleri 6 ve 7 olan besiyerlerinde olduğu tespit edilmiştir. Başlangıç pH değerinin 6'nın altında olmasının B toksinlerinin üretimini, 6'nın üzerinde olmasının ise G toksinlerinin üretimini arttırdığı tespit edilmiştir. Keller ve diğ. (1997), aflatoksin biyosentezinden sorumlu genlerin ortamın pH'sından etkilendiğini, 4-6 arasındaki asidik pH değerlerinde bu etkinin daha fazla olduğunu ortaya koymuşlardır.

Aziz ve Moussa (1997), ilk pH değerinin üretilen mikotoksin miktarı üzerinde belirgin bir etkisi olduğunu ortaya koymuşlardır. 4.0 ve 8.0 aralığındaki pH değerlerinde YES besiyerinde 25 °C'de 10 gün inkübe edilen *A. flavus*' un misel kuru ağırlığı ve AFB₁ üretimi incelenmiştir. Maksimum AFB₁ üretiminin pH 5,5 değerinde olduğu, bunu pH 6,0 da üretilen miktarın izlediği görülmüştür.

2.4.4 Kültür ortamı

Huynh ve Lloyd (1984), iki *A. parasiticus* ve bir *A. flavus* izolatını 14 gün boyunca bir adet yeast ekstrakt sukroz (YES) besiyerinde, ve be  adet Czapek's bazlı besiyerinde inkübe etmişler ve YES besiyerindeki aflatoksin oluşumunun diğer besiyerlerinden daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Gqaleni ve diğ. (1997) tarafından yapılan çalışma da, Huynh ve Lloyd tarafından elde edilen sonucu desteklemektedir. Gqaleni ve di . (1997) yaptıkları çalışmada, *A. flavus*'un YES besiyerinde Czapek's yeast ekstrakt besiyerine göre daha fazla aflatoksin olu turdu unu gözlemlemişlerdir. Gqaleni ve diğ. (1996) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise, YES agar ve YES sıvı besiyerlerinde geliştirilen *A. flavus*'un katı besiyerinde 15 günde 2.5  g/g aflatoksin, sıvı besiyerinde ise 150  g/g aflatoksin ürettiğini belirlenmiştir.

Depo tahıllarından ve t ts lenmi  et ürünlerinden izole edilen 96 *A. flavus* izolatının mikolojik brot ve malt ekstrakt agar besiyerlerinde AF ve CPA  retme kabiliyetleri incelenmiş, izolatlardan hiçbirinin hem CPA hem de AF üretmediği, sadece 5 izolatın 0.5- 30 mg/kg CPA ve 9 izolatın 0.1- 14.8 mg/kg AFB₁ ürettiği g r lm  t r. CPA  reticisi 3 su un mısırdan, 1 su un bu daydan ve 1 suçun sosisten izole edildiği, AF  retici 3 su un mısır, 6 su un ise bu daydan izole edildiği kaydedilmiştir (Cvetnic ve Pepeljnak, 1998).

2.4.5 Çevredeki gazlar ve konsantrasyonu

Ortamdaki oksijen ve karbondioksit miktarı ve özellikle substrattaki çözünmüş oksijen miktarı k f gelişimi ve mikotoksin üretimi üzerinde etkilidir. CO₂ konsantrasyonunun %15 üzerinde olması genel olarak *Aspergillus* gelişimini inhibe etmekte, ancak düşük konsantrasyonlarda CO₂ gelişim üzerinde teşvik edici rol oynamaktadır. *A. parasiticus* düşük O₂ ve yüksek CO₂ kombinasyonunu içeren atmosferik koşullarda aflatoksin üretimini durdurmaktadır. Ortamdaki CO₂ konsantrasyonu %3' n üzerinde olduğunda aflatoksin üretiminin gerçekleşebilmesi için en az %1.5 O₂'e ihtiyaç olduğu ifade edilmektedir (Frisvad and Samson, 1991).

2.4.6 Işıık

Işııkın aflatoksin üretimi üzerindeki etkisi değışkenlik göstermektedir. Bunun nedeninin, ortam koşullarının farklılığı ve suşlardan kaynaklanan farklılık olduğu düşünölmektedir (Klich, 2007).

Chouraisia ve Roy (1991), tohumlara ekilen *A. flavus* izolatlarının karanlıkta inkübe edildiğinde daha yüksek seviyelerde aflatoksin ürettiklerini belirlemişlerdir. Fakat, farklı *A. flavus* izolatu ile yapılan bir diğér çalışmada aydınlıkta gelişen izolatların karanlıkta gelişenlerden daha yüksek seviyede aflatoksin ürettikleri belirlenmiştir. Ayrıca aynı çalışmada yakın UV ışığına maruz kalan izolatu beyaz ışııkta gelişene göre daha fazla aflatoksin ürettiğı gözlenmiştir. 11 günlük inkübasyon periyodu sonunda ışııkta gelişen *A. flavus* kültürlerindeki AFB₁ üretimi 620 µg/ 50 ml YES besiyeri ve karanlıkta gelişenlerde 150 µg/ 50 ml YES olarak kaydedilmiştir. Misel kuru ağırlığının da ışııkta gelişen kültürde karanlıkta geliştirilenlerden daha fazla olduğu bulunmuştur (Aziz and Moussa, 1997). *A. parasiticus* izolatu ile yapılan bir başka çalışmada ışığın aflatoksin oluşumunu inhibe ettiğı belirtilmiş (Bennett ve diğ., 1971), ancak Bennett ve diğ (1978) yaptığı bir diğér çalışmada ise ışığın aflatoksin oluşumunu inhibe etmediğini ortaya koymuşlardır.

2.4.7 Mikrobiyal rekabet

Mikroorganizmaların *A. flavus*'un aflatoksin üretimi üzerine etkisini belirlemek üzere bazı araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmaların pek çoğunda, aflatoksinin kısmi inhibasyonu görölmüştür veya AFB₁ veya G₁ daha az toksik olan bileşenlere çevrilmiştir (Klich, 2007). *Lactobacillus casei* ve *Streptococcus lactis*'in belirli bir dereceye kadar *A. flavus* ve *A. parasiticus* gelişimi üzerinde inhibe edici etkisi olduğu gösterilmiştir (Frisvad ve Samson, 1991). Hasattan önce aflatoksin kontaminasyonunun engellenmesi için, toksijenik olmayan *A. flavus* ve *A. parasiticus* suşlarının yer fıstığı yetiştirilen toprağı muameleleri sonucunda, yer fıstıklarında aflatoksin kontaminasyonunda %74.3 ve %99.9 aralığında düşüş görölmüştür (Dorner ve Cole, 2002).

2.4.8 Kimyasal maddeler

Pek çok kimyasal bileşimin aflatoksin oluşumu üzerine etkisi olduğu ortaya konmuştur. Fenolik bileşiklerin *A. flavus* ve *A. parasiticus* tarafından üretilen

aflatoksin miktarını azalttığı bilinmektedir (Aziz ve diğ., 1998). Yüzey aktif maddelerin *A. flavus* tarafından üretilen aflatoksin miktarını azalttığı gösterilmiştir (Rodriguez ve Mahoney, 1994). Antioksidan butil hidroksi anizol ve propilparabenin aflatoksin üretimini tamamen ortadan kaldırdığı belirtilmiştir (Nesci ve diğ., 2003). Bazı insektisit ve klobetazon gibi fungusitlerin de aynı etkide bulundukları gösterilmiştir (D'Mello ve diğ., 1998). Pek çok baharat ve şifalı bitki de antifungal etkiye sahiptir. Tarçın esansiyel yağındaki sinnamik aldehitin tarçındaki başlıca antimikrobiyal madde olduğu ifade edilmektedir (Beuchat, 2007). Tarçının *A. flavus* ve *A. parasiticus* tarafından üretilen aflatoksin miktarını önemli derecede azalttığını ortaya koyan pek çok çalışma mevcuttur (Bullerman et al., 1977; Sinha ve diğ., 1993; Lopez-Malo ve diğ., 2007). Karanfil esansiyel yağının başlıca bileşeni olan eugenol ve eugenole benzer bir yapıya sahip olan vanilya çekirdeğinin başlıca bileşeni olan vanillin de antimiyotik etkiye sahiptir (Beuchat, 2007). Kekik, oregano, savory, adaçayı ve pek çok başka şifalı bitkinin esansiyel yağında bulunan timol de patojenik küfler üzerinde inhibe edici etkiye sahiptir (Boyraz and Özcan, 2006).

2.5 Aflatoksin Tayin Yöntemleri

Aflatoksin tayini için pek çok yöntem ve metot geliştirilmiştir. İnce Tabaka Kromatografisi (TLC-Thin Layer Chromatography), Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC-High Performance Liquid Chromatograph) ve ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) rutin analizlerde kullanılan başlıca metotlardır (Stroka ve Anklam, 2002).

Aflatoksinlerin kromatografik analizleri miktar belirleme aşamasından önce örnekleme, örneğin hazırlanması, ekstraksiyon, saflaştırma/ayırma ve konsantre etme basamaklarını içermektedir (Jarvis ve diğ., 1982). Aflatoksinler, hafif polar çözenlerde çözünebildiğinden ekstraksiyon aşaması aseton, kloroform veya metanol gibi organik çözücüler kullanılarak yapılmaktadır (Bullerman., 1987). Diğer yandan, bu çözeltiler ile birlikte suyun kullanılması organik çözenin örneğe temasını arttırarak aflatoksin ekstraksiyonunu arttırmaktadır (Ikins., 1991).

Tayin yöntemleri arasında TLC kullanılan en eski yöntem olup, hızlı sonuç veren ve ucuz bir yöntem olması sebebiyle her zaman aflatoksin analizlerinde önemli bir araçtır. Son yıllarda, katı faz ekstraksiyon diskleri kullanılarak yapılan saflaştırma/ayırma uygulamaları ile TLC metodlarının performansı ve uygulama

kolaylığı artmıştır. Miktarın densitometrik olarak belirlendiği ve saflaştırmanın fenil bağlı diskler, immunoaffinite kolonlar, Florisil® diskler ve multifonksiyonel kolonlar ile yapıldığı TLC uygulamalarında geri kazanım miktarının %75 üzerine çıktığı belirtilmektedir. Daha ileri saflaştırma prosedürlerinin kullanımı Yüksek Performans İnce Tabaka Kromatografisi (HP-TLC) gibi daha kesin sonuçlar veren kromatografilerin gelişmesine olanak vermiştir. Girişim yapan maddeler içeren ekstraktlarda genel olarak iki boyutlu (two-dimensional 2-D) TLC kullanılmaktadır (Gilbert ve Vargas, 2005). TLC metodu HPLC metoduna göre daha ucuz ve daha basittir. Ancak çok düşük miktarlarda güvenilir olmaması (2ng/g'ın altında), kullanılan kimyasalların ekolojik dengeye zararlı olması ve HPLC'ye göre analizin uzun zamanda yapılması dezavantajlarıdır (Stroka ve diğ., 2000).

HPLC metodunda saflaştırma basamağı genel olarak katı faz ekstraksiyon (solid phase extraction-SPE) disklerinin kullanımı ve immüno afinite kolon (IAK) kullanımı olmak üzere iki farklı yaklaşımla yapılmaktadır. SPE uygulaması için yaygın olarak silika, florisil veya C₁₈ kartuşlar tek veya birlikte kullanılmaktadırlar. Antikor-bazlı IAK tekniği analiz zamanını kısaltması, aynı anda birden fazla örneğin analizlenmesini sağlaması, yüksek selektiviteye sahip olması gibi avantajları ile birlikte yüksek güvenilirlikte sonuçların elde edilmesi açısından önemlidir. Temel olarak bu teknik aflatoksinlere spesifik antikorlar içeren immüno afinite kolondan ekstraktın geçirilerek saflaştırılması prensibine dayanmaktadır. Öncelikle kolon, 10 ml PBS nin 2-3 ml/dakika hızla kolondan geçirilmesi ile şartlandırılmaktadır. Aflatoksinler metanol çözeltisinin kolondan geçirilmesi ile antikorlardan ayrılmakta, elde edilen metanol çözeltisi HPLC'ye enjekte edilmektedir (Miraglia ve Brera, 2000).

Sıvı kromatografisinde iki temel prensip uygulanmaktadır. Bunlardan biri adsorpsiyon kromatografisi, diğeri ise dağılma kromatografisidir. Günümüzde ters-faz kolonlarının pek çok gıdaya uygulanabilmesi, adsorpsiyon kromatografisinden uzaklaşmaya sebep olmuştur. Ters faz dağılma kromatografisinde, temel olarak hareketli faz sabit fazdan daha polardır ve hareketli faz olarak genel olarak metanol, asetonitril, su ve nadir olarak aseton kombinasyonları kullanılmaktadır. Sabit faz olarak ise, oktadesil ve oktil gibi kimyasal gruplar ile kimyasal olarak bağlanmış silika kullanılmaktadır.

Aflatoksinlerin tespiti UV ışığı altında floresans vermelerinden dolayı yaygın olarak spektrofotometrik olarak yapılmaktadır (Miraglia ve Brera, 2000).

Aflatoksin B₁ ve G₁ in floresans sinyali düşük olduğundan, verdikleri floresansı kuvvetlendirmek için HPLC metodunda kolon öncesi veya kolon sonrası türevlendirme uygulanmaktadır (Miraglia ve Brera, 2000).

Kolon öncesi türevlendirmede, süzme işleminden sonra süzüntüye trifloroasetik asit (TFA) çözeltisi eklenir. TFA çözeltisi AFB₁ ve AFG₁'i hemiasetal formlarına (AFB_{2a} ve AFG_{2a}) dönüştürür (Miraglia ve Brera, 2000).

İyot çözeltisi ile kolon sonrası türevlendirme yönteminde, 2 g iyodun 400 ml distile suda çözülmesi ile taze olarak hazırlanan iyot çözeltisi HPLC cihazında ikinci bir pompa ile pompalanır. Reaksiyon, 60°C'de teflon kolonlarda (0.5 mm x 3000 mm) gerçekleştirilir. Genel olarak hareketli fazın hızı 0.8 ml/dk iyot çözeltisinin akış hızı 0.7 ml/dk'dir (Miraglia ve Brera, 2000).

Piridinyum bromid perbromat (PBPB) çözeltisi ile yapılan kolon sonrası türevlendirmede, hazırlanan PBPB çözeltisi (HPLC saflıkta suda 0.05 mg/ml) akış hızı 0.3 ml/dk, hareketli fazın akış hızı da 1 ml/dk olacak şekilde pompalanır. Bu metotta kullanılan bromlaşma ajanı AFB₁ ve G₁'in floresansını kuvvetlendirerek, metodun hassasiyetini arttırmaktadır (Miraglia ve Brera, 2000).

Kolon sonrası yapılan türevlendirme yöntemlerinden bir diğeri ise, elektrokimyasal olarak oluşturulan brom ile AFB₁ ve AFG₁'in floresansının yükseltildiği KOBRA-CELL kullanımı ile yapılan türevlendirme yöntemidir. Bu yöntemde, mobil fazda bulunan potasyum bromürdeki bromür iyonu elektrik akımı ile broma dönüştürülerek aflatoksinlerin türevlendirmesi sağlanır. Brom konsantrasyonu uygulanan akım ile kontrol edilmektedir (Miraglia ve Brera, 2000).

Kromatografik yöntemlerin pek çok avantajlarının yanında, laboratuvar bazlı yöntemler oluşu ve ekipmanın kullanımındaki zorluklar nedeniyle, immunolojik yöntemler, var olan ve hızla gelişen kromatografik yöntemlere alternatif olarak önemlidir(Maragos., 2005; Li ve diğ., 2009).

Tüm immunolojik yöntemler radioaktif izotoplar, enzimler, floresan bileşikler ve kolloidal altın veya hassas optik veya elektronik bileşikler gibi işaretlenmiş belirleyicilere bağlıdır. Radioimmunoassaylerin çevreye zararlı olması ve kullanıcı açısından radyoaktif izotop maddeler nedeni ile tehlike arz etmesi sebebiyle, zirai

ürünlerin tespitinde yerini enzim immunoassaylere (EIAs) ve diğer işaretleme ajanlarının kullanıldığı immunoassaylere bırakmıştır. Immunolojik yöntemler homojen ve heterojen olmak üzere iki kategoride ve üç farklı şekilde uygulanabilmektedir. Bunlar, indirekt yarışmalı (kompetitif), direkt yarışmalı ve yarışmasız (nonkompetitif) immunolojik yöntemlerdir (Li ve diğ., 2009). ELISA, her aşamada bağlanmayan reaktantların uzaklaştırılması için yıkamanın yapıldığı heterojen immunolojik test metodlarından biridir. Direkt yarışmalı ELISA’da katı yüzeye bağlanmış antikorlar için, serbest antijenler ve enzim bağlı antijenler yarışmaktadır. Bağlanmamış reaktantların yıkama ile uzaklaştırılmasından sonra substrat eklenmektedir ve substratın eklenmesiyle oluşan renk değişimi test edilen örnekteki antijen miktarı ile indirekt olarak ilgilidir. Indirekt yarışmalı ELISA’da, antikor çözelti içinde serbest bulunmaktadır, yarışma serbest antijenler ile katı yüzeye bağlanmış antijenler arasında olmaktadır. İnkübasyon süresi sonrası, bağlanmamış reaktantlar yıkama ile uzaklaştırılmakta ve ardından enzim bağlı antikor eklenmekte ve inkübe edilmekte ve inkübasyon aşaması sonrasında yıkama işlemi yapılmakta ve bu aşamadan sonra substrat eklenmektedir. Oluşan renk örnekte bulunan antijen miktarı ile indirekt olarak bağlantılıdır. Sandwich ELISA da, biri katı yüzeye bağlı diğeri ise enzim bağlanmış iki antikor içermektedir. Antijen bu iki antikor arasına tutunur ve renk değişimi örnekte bulunan antijen miktarı ile direkt olarak ilişkilidir (Dixon, 1998).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 *Aspergillus Section Flavi* izolatları

Çalışmada incirden izole edilen ve toksin üretme özellikleri yönünden farklılık gösteren üç *A. flavus* (6Z2, 4104Z1, 51D4) ve bir *A. parasiticus* (52D1) izolatu ile çalışılmıştır. *A. flavus* 6Z2 aflatoksin B₁, B₂ ve siklopiazonik asit, *A. flavus* 4104Z1 düşük miktarlarda aflatoksin B₁ ve düşük miktarlarda siklopiazonik asit, *A. flavus* 51D4 ise siklopiazonik asit üreticisi izolatlarıdır. *A. parasiticus* 52D1 izolatu ise aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ üretmektedir. Küf izolatları yatık malt ekstrakt agar (MEA) besiyerinde 4°C’de muhafaza edilmiştir.

3.1.2 Besiyeri

Aspergillus Section Flavi gelişimi ve toksin üretiminin incelenmesi için Yeast Ekstrakt Sukroz (YES) Agar besiyeri kullanılmıştır.

YES Agar besiyerinin bileşimi / Litre (Atlas, 2006)

Sukroz	150.0 g
Agar	20.0 g
Yeast Ekstrakt	20.0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
Eser Metal Solüsyonu	1 ml

Eser Metal Solüsyonu bileşimi/ 100 ml(Atlas, 2006)

ZnSO ₄ .7H ₂ O	1 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.5 g

Besiyeri, 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiş, soğutulmuş ve 9 cm’lik steril Petri kutularına 15 ml dökülmüştür.

3.1.3 Kullanılan çözeltiler

3.1.3.1 Aflatoksin standart çözeltisi

0.3 µg/ml G₂, 1 µg/ml G₁, 0.3 µg/ml B₂, 1 µg/ml B₁ içeren metanol içinde çözünmüş 0,5 ml aflatoksin standardı alınarak 5 ml'lik balon jojede metanolle çizgisine kadar tamamlanmıştır. Aynı işlem bir kez daha tekrar edilmiş ve balon jøjelerdeki standart çözeltiler birleştirilerek, 30 ng/ml G₂, 100 ng/ml G₁, 30 ng/ml B₂ ve 100 ng/ml B₁ içeren aflatoksin standart çözeltisi elde edilmiştir.

3.1.3.2 HPLC kalibrasyon çözeltisi

Aflatoksin standart çözeltisinden 20, 50, 100, 180, 360, 540 ve 720 µl miktarlarda alınarak HPLC kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan HPLC kalibrasyon çözeltileri ve içerdikleri aflatoksin miktarı Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 : HPLC kalibrasyon çözeltileri ve içerdikleri AF miktarları

Aflatoksin miktarı (ppb)				Aflatoksin standart çözeltisi (µl)	Metanol (µl)	Saf su (ml)
B ₁	B ₂	G ₁	G ₂			
0.40	0.12	0.40	0.12	20	1980	3
1.0	0.30	1.0	0.30	50	1950	3
2.0	0.60	2.0	0.60	100	1900	3
3.60	1.08	3.60	1.08	180	1820	3
7.20	2.16	7.20	2.16	360	1640	3
10.80	3.24	10.80	3.24	540	1460	3
14.40	4.32	14.40	4.32	720	1280	3

3.1.3.3 Mobil faz

Mobil faz, su/asetonitril/metanol (6+2+3, v/v/v), 110 µl %65'lik nitrik asit, 132 mg potasyum bromür (KBr) ile hazırlanmış, filtre edilmiş ultrasonik banyoda 5 dakika bekletilerek ultrasonik ses dalgaları ile hava kabarcıkları giderilmiştir.

3.2 Metot

3.2.1 *Aspergillus Section Flavi* gelişiminin belirlenmesi

Küf izolatları yatık MEA besiyerinde 25°C’de 5 gün inkübe edilerek yoğun spor oluşturan izolatlar elde edilmiştir. İnkübasyon sonunda, tween 80 çözeltisi kullanılarak izolatlardan 10⁶ lık spor süspansiyonları hazırlanmış ve bu spor süspansiyonlarından 1,5 µl alınarak, 9 cm’lik Petri kutularına 15 ml olarak dökülen YES Agar besiyerine tek nokta ekim yapılmıştır. YES Agar besiyerine tek nokta ekim yapılan izolatlar farklı sürelerde (1, 2, 3, 4 saat), farklı sıcaklık derecelerine (30, 35, 40, 45°C) maruz bırakılmış ve daha sonra 25°C’lik etüve alınarak 7 gün boyunca inkübe edilmişlerdir. 7 günlük süre boyunca 24 saat aralıklarla, küf gelişimi koloni çapı (mm) ölçülerek belirlenmiştir. Koloni çapı, birbirini dik kesen uçlar alınarak her iki yönde ölçülmüş ve ortalama çap değerleri belirlenmiştir. Analiz altı tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Küf gelişiminin incelenmesinin ardından, örnekler ekstraksiyon ve aflatoksin tespiti için -18°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.2 Aflatoksin miktarının belirlenmesi

Yeast Ekstrakt Sukroz Agar besiyerinde farklı sürelerde farklı sıcaklıklara maruz bırakılan ve 7 gün inkübe edilen *Aspergillus Section Flavi* üyelerinin aflatoksin oluşturma özellikleri, Stroka ve diğ. (2000) tarafından belirtilen kolon sonrası türevlendirme ile immunoafinite kolon sıvı kromatografisi yöntemine göre incelenmiştir.

3.2.2.1 Ekstraksiyon

Farklı küf izolatları ile inoküle edilen ve farklı sürelerde farklı sıcaklıklara maruz bırakılan YES agar besiyerlerinin tüm içeriği stomacher poşetine alınarak, üzerine 200 ml metanol-su (8:2; v/v) ilave edilmiş ve stomacher cihazında yüksek devirde 6 dakika çalkalanmıştır. Elde edilen karışım whatman no:4 (20-25 µm) filtre kağıdından süzölmüştür.

10 ml filtrat alınarak 60 ml PBS (phosphate buffer saline, pH 7.4) ile karıştırılmış, ve daha önce oda sıcaklığına getirilmiş ve 10 ml PBS geçirilerek şartlandırılmış immünoafinite kolona, kolondaki PBS miktarı en az 0.5 ml kaldığında eklenmiştir. Karışım, 2-3 ml/dakika hızda kolondan geçirilmiştir. İstenmeyen maddelerin

uzaklaştırılması için, karışımın ardından kolona 15 ml saf su ilave edilerek, kolondan geçirilmiş ve son olarak kolona enjektörle hava verilerek tüm süzüntünün kolondan atılması sağlanmıştır.

İmmünoaffinite kolon cam tüpe alınarak üzerine 0.5 ml metanol eklenmiş ve yerçekimi etkisi ile metanolün kolondan geçmesi beklenmiştir. Ardından 1 dakika beklenerek 0.75 ml metanol daha ilave edilmiş ve bu miktarın da kolondan geçmesi sağlanmıştır. İmmünoaffinite kolonda kalan metanol de şırınga ile hava verilerek tüpe alınmış, metanol 35-40°C'deki su banyosunda, azot gazı altında uçurulmuştur. Aflatoksinleri içeren tüpler -18°C'de, alüminyum folyo ile sarılarak muhafaza edilmiştir.

3.2.2.2 HPLC ile aflatoksin analizi

Aflatoksinlerin tespiti KOBRA-CELL ile kolon sonrası türevlendirme ile yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazında, ters faz kolon kullanılarak floresans dedektör ile belirlenmiştir. Floresans dedektörün eksitasyon dalga boyu 360 nm, emisyon dalga boyu 420 nm olarak ayarlanmıştır. KOBRA- CELL cihazı HPLC cihazına monte edilmiş ve 100 µA akım olacak şekilde çalıştırılmıştır. Daha önce azot gazı altında metanolün uçurulduğu aflatoksinleri içeren tüpler alınmış, analiz için bu tüplere 1250 µl metanol ve 1750 µl saf su ilave edilerek vortekste karıştırılmıştır. Ekstraktlardan 100 µl alınarak mobil faz akış hızı 1.00 ml/dakika olarak ayarlanan HPLC cihazına enjekte edilmiş, elde edilen pikler standart pikleri ile karşılaştırılarak aflatoksin miktarı belirlenmiş ve aşağıda belirtilen formüle göre örneklerdeki aflatoksin miktarları hesaplanmıştır.

$$\text{Aflatoksin miktarı (ng/g)} = \frac{C_{\text{smp}} \times \text{Solvent} \times \text{Elüsyon}}{W_t \times \text{Filtrat Miktarı}}$$

C_{smp} ; HPLC analizi ile elde edilen aflatoksin miktarı (ng/ml)

Solvent; Ekstraksiyonda kullanılan solvent miktarı (ml)

Elüsyon; İmmünoaffinite kolondan sonra tüpte toplanan son hacim (ml)

W_t ; Analizle alınan örneğin miktarı (g)

Filtrat miktarı; İmmünoaffinite kolona verilen filtrat miktarı (ml)

3.3 İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler SPSS 16.0 yazılımı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Anova ile varyans analizi yapılmış, önemli çıkan varyasyon kaynaklarına ait ortalamalar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanarak karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

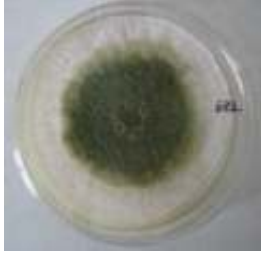
4.1. Farklı Süre-Sıcaklık Uygulamalarının *Aspergillus Section Flavi* Gelişimine Etkisi

Farklı süre-sıcaklık uygulamalarına maruz bırakılan *Aspergillus Section Flavi* üyesi 4 farklı küf izolatına ait çap değerleri Çizelge A.1’de sunulmuştur. Çap değerleri milimetre olarak 7 gün boyunca ölçülmüş ve farklı süre-sıcaklık uygulamalarının *Aspergillus Section Flavi* gelişimine olan etkisi ortalama çap değerleri baz alınarak istatistiksel olarak %99 güven aralığında değerlendirilmiştir. 7. günde küf izolatlarının besiyeri yüzeyini tamamen kaplayacak şekilde geliştikleri görülmüş ve küf gelişiminin ölçülemeyecek kadar çok olması sebebiyle, 7. günde elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmemiştir.

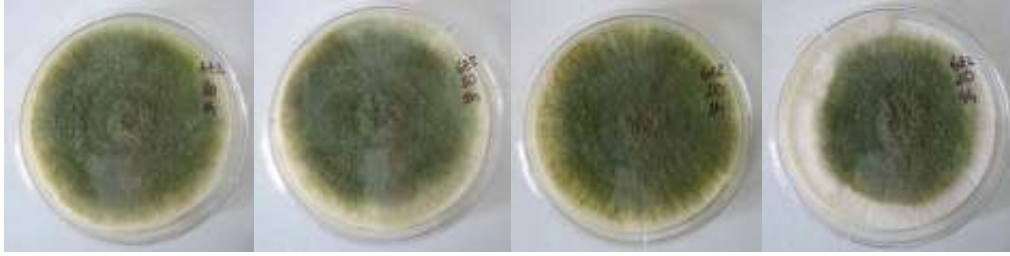
Tüm süre-sıcaklık uygulamalarında ilk iki gün, izolatlar arası farklılığın *Aspergillus Section Flavi* gelişiminde istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir. 3. gün, 40°C ve 45°C’de 1, 2, 3 ve 4 saat bekletilen *Aspergillus flavus* 51D4 gelişiminin, diğer izolatlardan daha düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir.

25°C’de, *Aspergillus Section Flavi* gelişiminde izolatlar arası farklılık, gelişimin takip edildiği 4. günden itibaren istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. 25°C sıcaklıkta, 4. 5. ve 6. günlerde *A. flavus* 6Z2 izolatının gelişiminin diğer izolatlardan daha yoğun olduğu belirlenmiştir. 4. ve 5. günlerde diğer 3 izolatın gelişimi arasında 25°C sıcaklıkta farklılık görülmez iken, 6. günde *Aspergillus parasiticus* 52D1 izolatının *A. flavus* 6Z2 izolatından daha düşük ancak diğer iki izolattan daha yüksek düzeyde gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. 4. günde 25°C sıcaklıkta *A. parasiticus* 52D1, *A. flavus* 51D4 ve *A. flavus* 4104Z1 izolatlarının gelişiminin istatistiksel olarak farklılık yaratmadığı saptanmıştır, ancak diğer süre-sıcaklık uygulamalarındaki gelişim incelendiğinde 30 ve 35°C sıcaklıklarda *A. parasiticus* 52D1 izolatının gelişiminin bu iki *A. flavus* izolatından daha yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. 30°C sıcaklıklarda *A. parasiticus* 52D1 gelişimi, *A. flavus* 6Z2 gelişiminden daha düşük iken, 35°C sıcaklıklarda bu iki izolatın gelişimlerinin

istatistiksel olarak farklılık göstermediği tespit edilmiştir. Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *A. flavus* ve *A. parasiticus* izolatlarının gelişimi Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4'te gösterilmektedir.



25°C

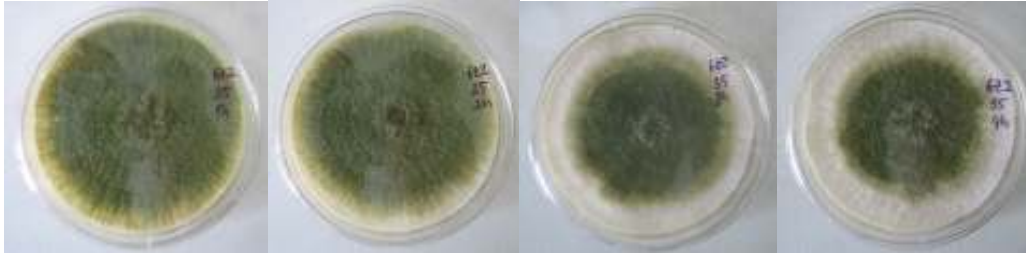


30°C-1 saat

30°C-2 saat

30°C-3 saat

30°C-4 saat

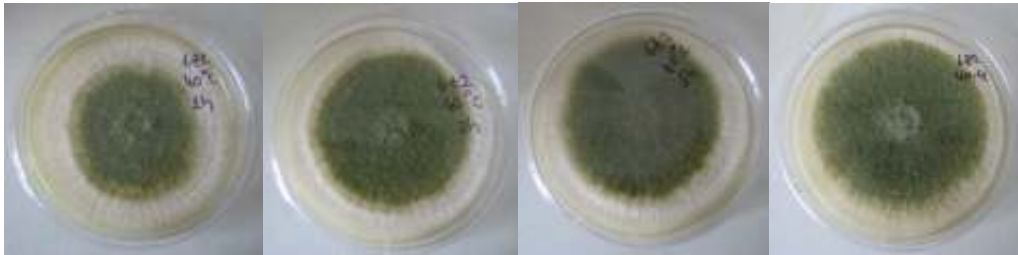


35°C-1 saat

35°C-2 saat

35°C-3 saat

35°C-4 saat

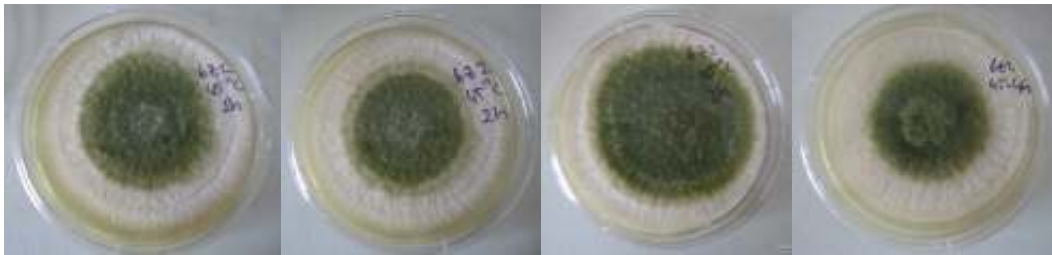


40°C-1 saat

40°C-2 saat

40°C-3 saat

40°C-4 saat



45°C-1 saat

45°C-2 saat

45°C-3 saat

45°C-4 saat

Şekil 4.1 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *A. flavus* 6Z2 gelişimi (7.gün)

5. günde, *Aspergillus* Section *Flavi* gelişiminde izolatlar arası farklılığın önemli olduğu, 25°C ve tüm süre-sıcaklık uygulamalarında *A. flavus* 6Z2 gelişiminin diğer izolatlardan daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. 6. günde, 25°C’de *A. flavus* 6Z2 izolatının gelişiminin diğer izolatlardan daha fazla olduğu, bunu *A. parasiticus* 52D1 izolatının izlediği belirlenmiştir. 30, 35 ve 40°C’de 1, 2, 3 ve 4 saat uygulamalarında *A. flavus* 6Z2 ve *A. parasiticus* 52D1 gelişiminin farklılık göstermediği ve gelişimin 4104Z1 ve 51D4 izolatlarından daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ancak 45°C’de, *A. flavus* 6Z2 izolatının gelişiminin *A. flavus* 51D4 ve *A. flavus* 4104Z1 izolatlarından fazla *A. parasiticus* 52D1 gelişiminin ise bu izolatlardan daha az olduğu saptanmıştır.

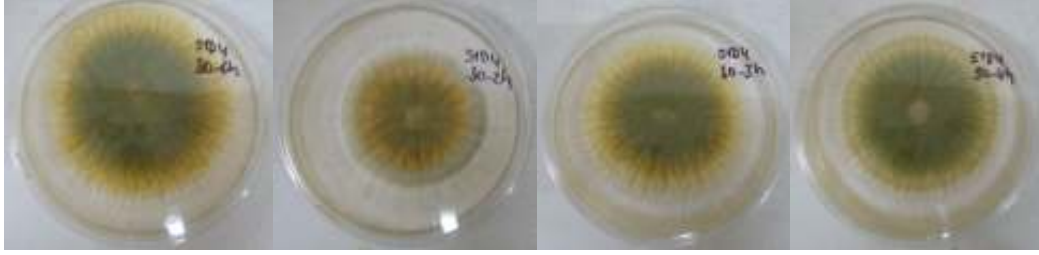
Farklı sıcaklıklarda *Aspergillus* Section *Flavi* izolatlarının gelişim grafikleri Şekil 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8’de verilmiştir. Farklı süre-sıcaklık uygulamalarının etkisi inkübasyon süresince değerlendirildiğinde, inkübasyonun 1. ve 2. günlerinde *Aspergillus flavus* gelişiminin farklı süre-sıcaklık uygulamalarından etkilenmediği tespit edilmiştir. 1. ve 2. günlerde tüm süre-sıcaklık uygulamalarındaki *A. flavus* gelişimi ile 25°C’deki gelişim arasında istatistiksel olarak bir farklılık tespit edilmemiştir. Gelişimin takip edildiği 6 gün boyunca 30°C ve 35°C’deki *A. flavus* izolatlarının gelişiminin 25°C’deki gelişiminden farklılık göstermediği belirlenmiştir. İnkübasyonun 3. günü ve sonrasında sıcaklığın 40 ve 45°C’ye yükselmesi ile birlikte gelişimin kontrol grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir.

40°C’de farklı sürelerde bekletilen *A. flavus* 6Z2 gelişiminin 45°C’de farklı sürelerle maruz bırakılan izolat gelişiminden daha yüksek düzeyde olduğu tespit edilirken, *A. flavus* 51D4 izolatında inkübasyonun 3. ve 4. günlerinde, *A. flavus* 4104Z1 izolatında inkübasyonun 3. gününde 40°C ve 45°C’deki gelişim arasında istatistiksel olarak farklılık tespit edilmemiştir. Diğer günlerde 40°C’deki gelişimin 45°C’deki gelişimden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. *Aspergillus flavus* gelişiminin, inkübasyonun 3. gününden itibaren sıcaklık değişimi ile birlikte farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Sabit sıcaklıkta farklı süre uygulamalarının *A. flavus* gelişimi üzerindeki etkisi incelendiğinde, inkübasyonun 4., 5., ve 6. günlerinde 1 saat süreyle 40°C’ye maruz bırakılan *A. flavus* 6Z2 gelişimin, bu sıcaklığa 2, 3 ve 4 saat süreyle maruz bırakılanlardan daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca inkübasyonun 6. gününde 1 ve 2 saat 45°C’de bekletilen *A. flavus* 6Z2 gelişiminin 3 ve 4 saat 45°C’de bekletilen *A. flavus* 6Z2 gelişiminden daha yüksek olduğu

belirlenmiştir. Diğer *A. flavus* izolatlarında sabit sıcaklıkta farklı süre uygulamalarının gelişim üzerinde farklılık yaratmadığı belirlenmiştir.



25°C



30°C-1 saat

30°C-2 saat

30°C-3 saat

30°C-4 saat



35°C-1 saat

35°C-2 saat

35°C-3 saat

35°C-4 saat

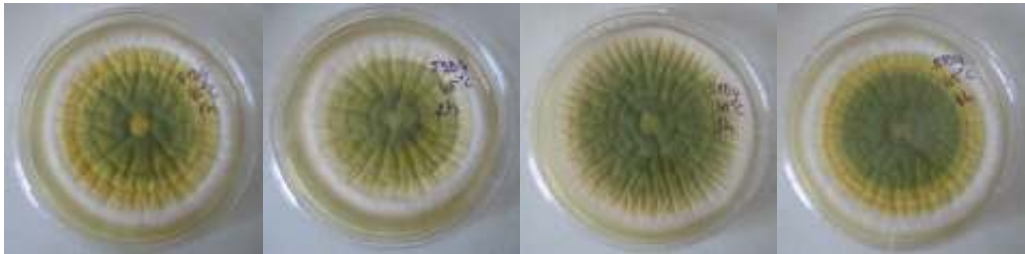


40°C-1 saat

40°C-2 saat

40°C-3 saat

40°C-4 saat



45°C-1 saat

45°C-2 saat

45°C-3 saat

45°C-4 saat

Şekil 4.2 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *A. flavus* 51D4 gelişimi (7.gün)



25°C

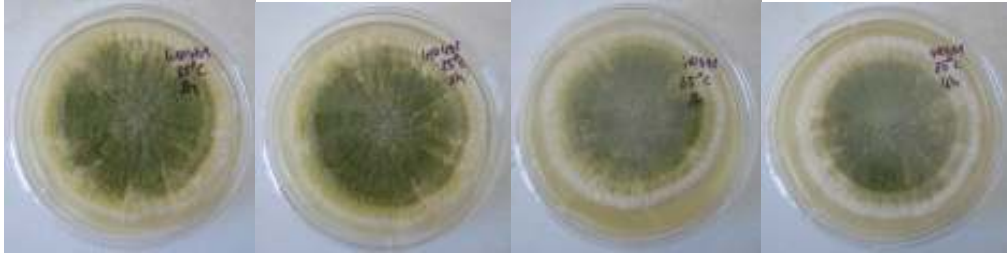


30°C-1 saat

30°C-2 saat

30°C-3 saat

30°C-4 saat

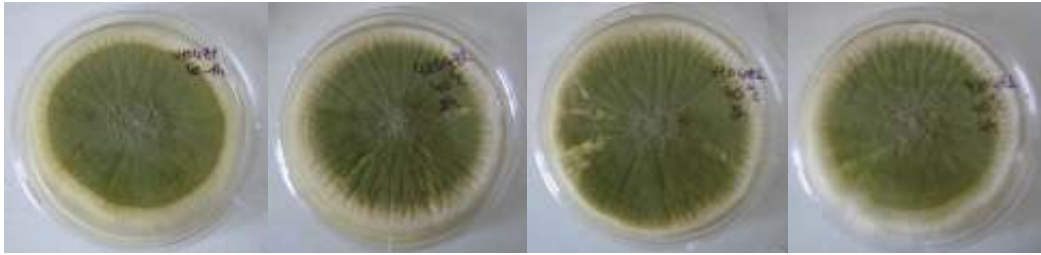


35°C-1 saat

35°C-2 saat

35°C-3 saat

35°C-4 saat

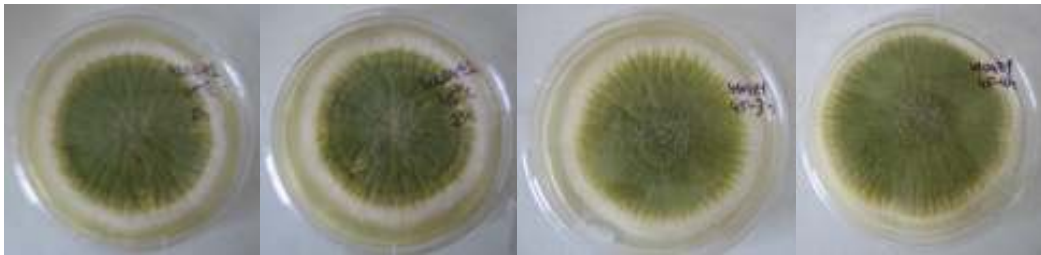


40°C-1 saat

40°C-2 saat

40°C-3 saat

40°C-4 saat



45°C-1 saat

45°C-2 saat

45°C-3 saat

45°C-4 saat

Şekil 4.3 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *A. flavus* 4104Z1 gelişimi (7.gün)

A. parasiticus 52D1 küfünde, inkübasyonun 1. gününde 25°C ve diğer tüm süre-sıcaklık uygulamalarındaki gelişimin istatistiksel olarak farklılık göstermediği belirlenmiştir. 2. günde 45°C’de 1, 2, 3 ve 4 saat bekletilen izolat gelişiminin 25°C ve diğer süre-sıcaklık uygulamalarından daha düşük düzeyde olduğu saptanmıştır. İnkübasyonun 3.günüden itibaren 40°C ve 45°C’de farklı sürelerde bekletilen izolat gelişiminin kontrol grubundan daha düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir. 6.günde tüm süre-sıcaklık uygulamalarına maruz bırakılan *A. parasiticus* 52D1 gelişiminin 25 °C’ deki gelişim ile farklılık gösterdiği, 30°C ve 35°C’de farklı sürede bekletilen örneklerdeki gelişimin 25°C’den daha fazla olduğu, 40 ve 45°C’lerdeki gelişimin ise daha düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir. 6. günde 30 ve 35°C sıcaklıklarda farklı sürelerle maruz bırakılan *A. parasiticus* 52D1 gelişiminin bu sıcaklıklarda istatistiksel olarak farklılık göstermediği, 40°C’de farklı sürelerle maruz bırakılan küf gelişiminin bu sıcaklıklardan daha düşük düzeyde ancak 45°C’de farklı sürelerle maruz bırakılan küf gelişiminden daha fazla olduğu belirlenmiştir. İnkübasyonun 3, 4 ve 5. günlerinde 40 ve 45°C’de farklı sürelerde bekletilen *A. parasiticus* izolatının gelişiminde farklılık tespit edilmemiştir.

Sabit sıcaklıkta farklı süre uygulamalarının *A. parasiticus* gelişimine olan etkisi incelendiğinde, 6 günlük inkübasyon süresince tüm günlerde 30, 35 ve 45°C’deki farklı süre uygulamalarının küf gelişiminde farklılığa sebep olmadığı belirlenmiştir. Sadece 6. günde 40°C’de farklı süre uygulamasının küf gelişimi üzerinde farklılık yarattığı saptanmış, 40°C’de 3 ve 4 saatlik uygulamalarda, küf gelişimin 1 ve 2 saatlik uygulamalardan daha yoğun olduğu belirlenmiştir. Farklı sıcaklık uygulamalarında *Aspergillus* Section *Flavi* lag faz süreleri Çizelge 4.1’de belirtilmektedir.

Çizelge 4.1 : Farklı sıcaklık uygulamalarında *Aspergillus* Section *Flavi* lag faz süreleri (dakika)

	25°C	30°C	35°C	40°C	45°C
<i>A. flavus</i> 6Z2	343	260	293	406	640
<i>A. flavus</i> 4104Z1	180	219	196	382	465
<i>A. flavus</i> 51D4	180	148	136	377	439
<i>A. parasiticus</i> 52D1	226	248	221	373	469



25°C



30°C-1 saat



30°C-2 saat



30°C-3 saat



30°C-4 saat



35°C-1 saat



35°C-2 saat



35°C-3 saat



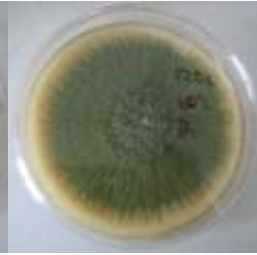
35°C-4 saat



40°C-1 saat



40°C-2 saat



40°C-3 saat



40°C-4 saat



45°C-1 saat



45°C-2 saat

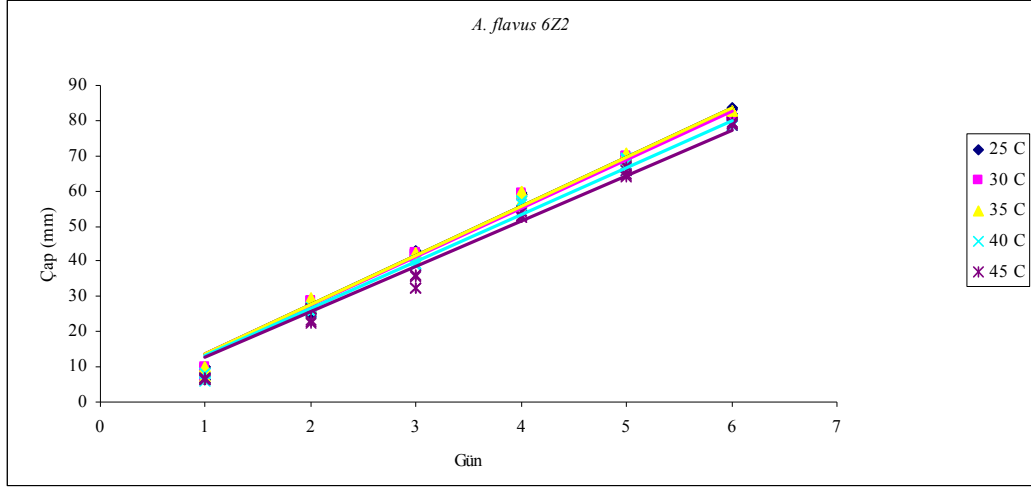


45°C-3 saat

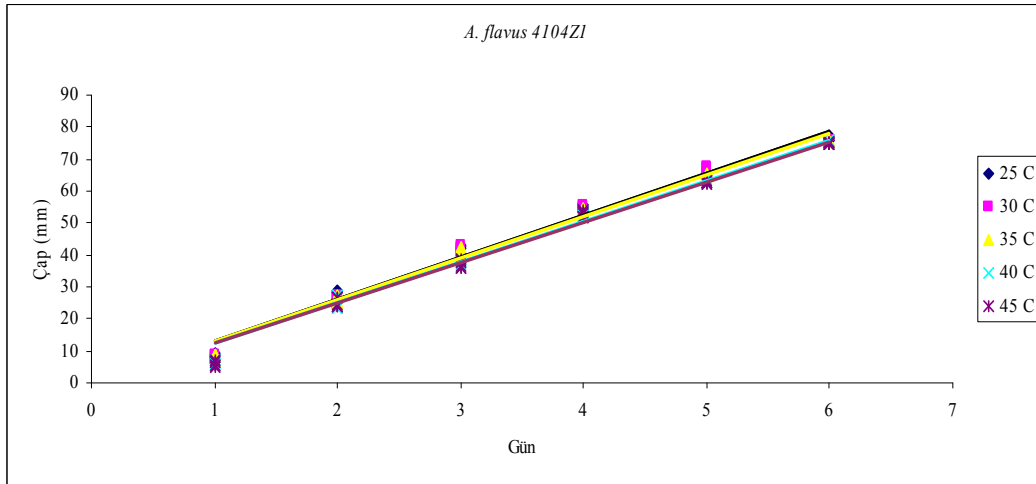


45°C-4 saat

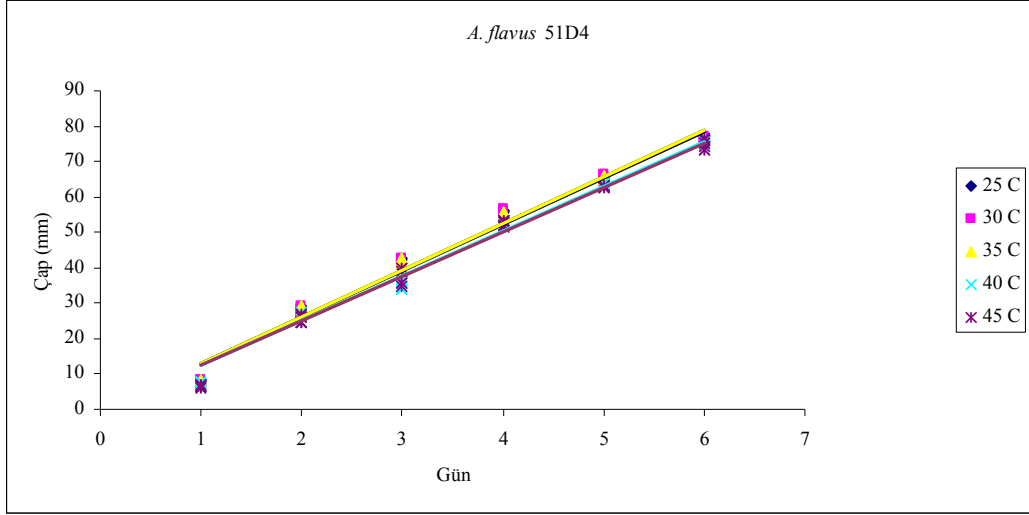
Şekil 4.4 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *A. parasiticus* 52D1 gelişimi (7.gün)



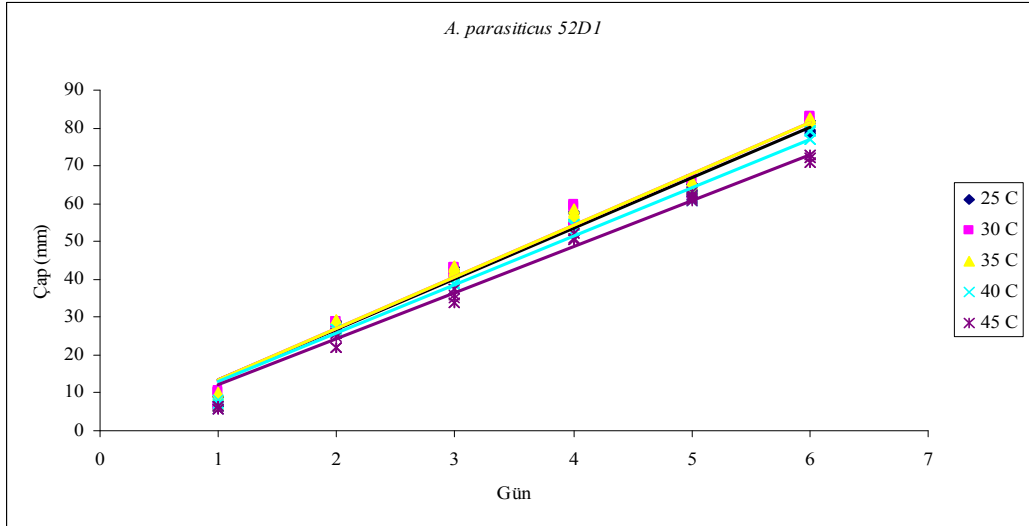
Şekil 4.5 : Sıcaklığın *A. flavus* 6Z2 gelişimine etkisi



Şekil 4.6 : Sıcaklığın *A. flavus* 4104Z1 gelişimine etkisi



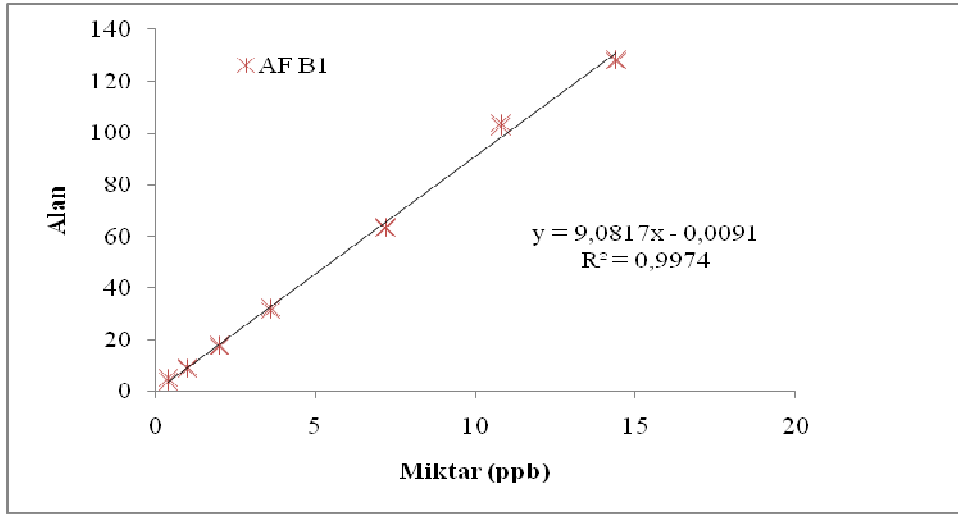
Şekil 4.7 : Sıcaklığın *A. flavus* 51D4 gelişimine etkisi



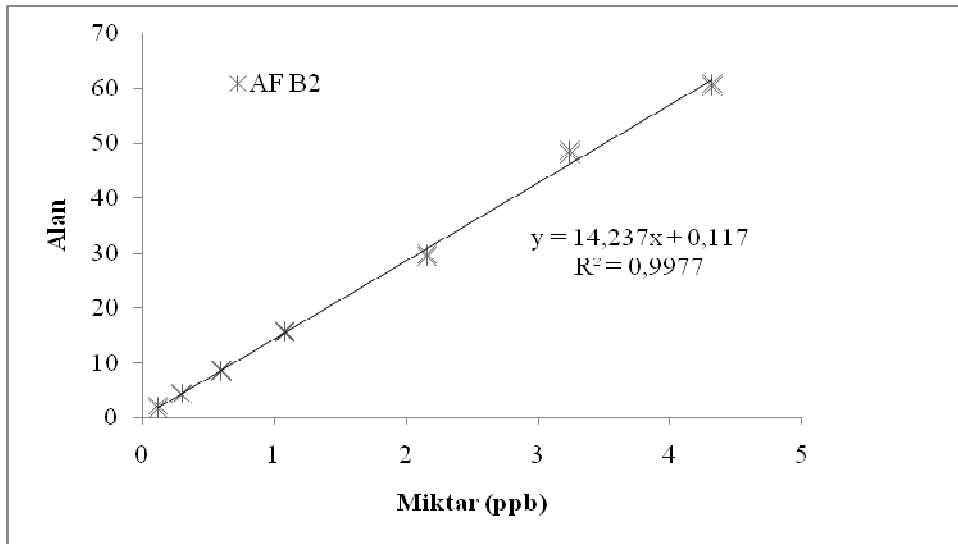
Şekil 4.8: Sıcaklığın *A. parasiticus* 52D1 gelişimine etkisi

4.2. Farklı Süre-Sıcaklık Uygulamalarının *Aspergillus Section Flavi* Toksin Üretimine Etkisi

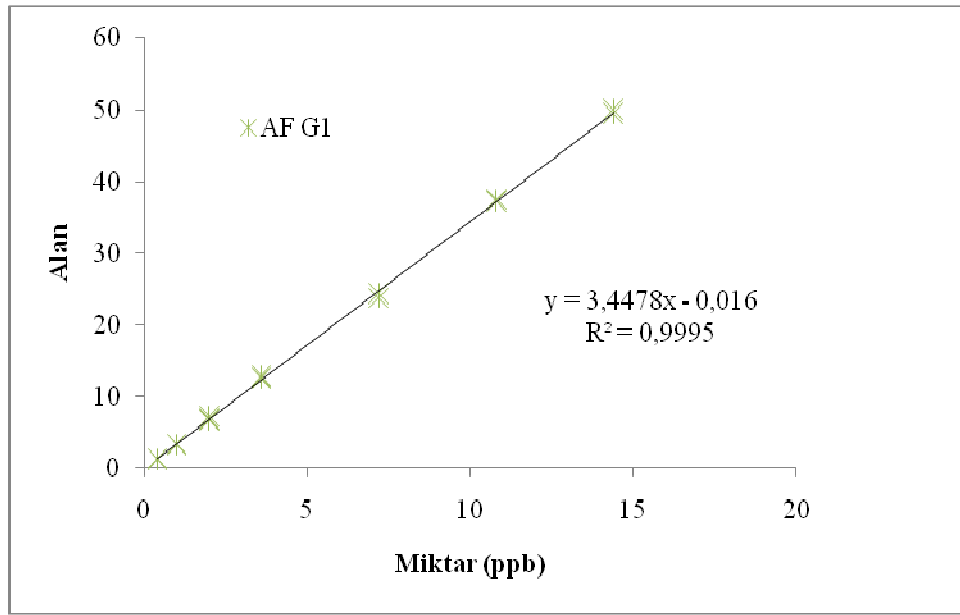
Aspergillus Section Flavi tarafından üretilen aflatoksinlerin tespiti KOBRA-CELL ile kolon sonrası türevlendirme ile yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazında, ters faz kolon kullanılarak floresans dedektör ile belirlenmiştir. Analizler için oluşturulan aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ kalibrasyon grafikleri Şekil 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12’de gösterilmiştir.



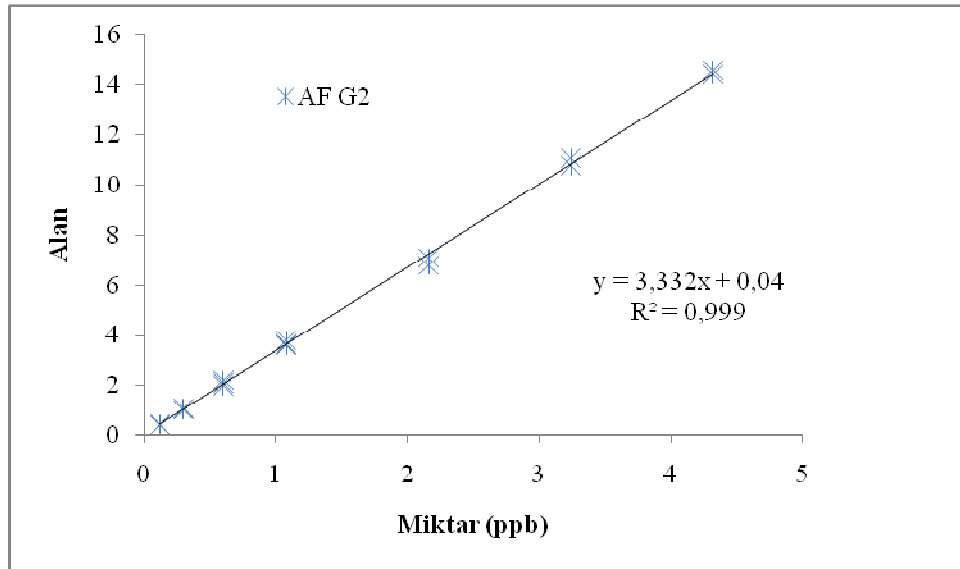
Şekil 4.9 : Aflatoksin B₁'in Kalibrasyon Grafiği



Şekil 4.10 : Aflatoksin B₂'nin Kalibrasyon Grafiği



Şekil 4.11 : Aflatoksin G₁'in Kalibrasyon Grafiği



Şekil 4.12 : Aflatoksin G₂'nin Kalibrasyon Grafiği

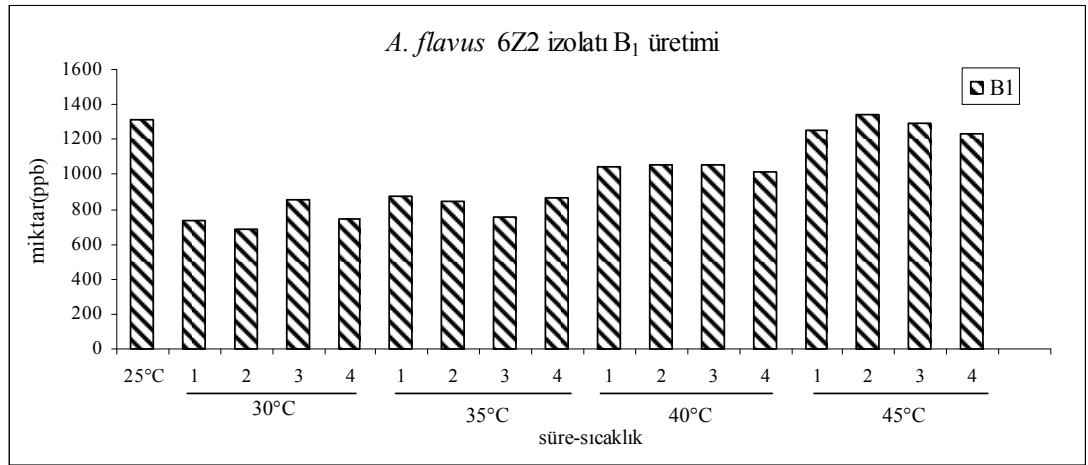
4.2.1 Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *Aspergillus flavus* 6Z2 izolatının toksin üretimi

Aspergillus flavus 6Z2 küfünün farklı süre-sıcaklık kombinasyonlarında ürettiği aflatoksin miktarlarına ait HPLC bulguları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2 : *A. flavus* 6Z2 toksin miktarları

	B ₁ (ng/g)	Ortalama B ₁ (ng/g)	B ₂ (ng/g)	Ortalama B ₂ (ng/g)	Toplam AF(ng/g)	Ortalama Toplam AF (ng/g)
25°C	1230,06	1310,39	1,8	1,55	1231,86	1311,94
	1390,72		1,29		1392,01	
30°C- 1 saat	688,17	730,49	4,39	3,77	692,56	734,26
	772,81		3,15		775,96	
30°C- 2 saat	667,47	686,59	4,3	4,35	671,77	690,94
	705,71		4,39		710,1	
30°C- 3 saat	867,99	854,47	4,39	3,55	872,38	858,01
	840,94		2,7		843,64	
30°C- 4 saat	728,09	748,05	5,5	4,59	733,59	752,64
	768		3,68		771,68	
35°C- 1 saat	986,57	871,76	5,68	4,63	992,25	876,39
	756,95		3,57		760,52	
35°C- 2 saat	935,65	844,67	5,78	4,56	941,43	849,23
	753,69		3,34		757,03	
35°C- 3 saat	769,26	754,28	4,09	3,49	773,35	757,77
	739,3		2,88		742,18	
35°C- 4 saat	773,45	860,90	5,82	4,56	779,27	865,45
	948,34		3,29		951,63	
40°C- 1 saat	1019,26	1042,95	5,9	5,98	1025,16	1048,93
	1066,64		6,05		1072,69	
40°C- 2 saat	1000	1052,30	4,41	5,56	1004,41	1057,86
	1104,6		6,7		1111,3	
40°C- 3 saat	1060,49	1053,05	3,36	4,61	1063,85	1057,65
	1045,6		5,85		1051,45	
40°C- 4 saat	1025,39	1017,78	3,54	3,79	1028,93	1021,56
	1010,16		4,03		1014,19	
45°C- 1 saat	1250,95	1255,74	0,68	0,91	1251,63	1256,64
	1260,52		1,13		1261,65	
45°C- 2 saat	1331,84	1339,52	0,78	0,81	1332,62	1340,33
	1347,2		0,83		1348,03	
45°C- 3 saat	1264,32	1290,16	0,56	0,79	1264,88	1290,94
	1315,99		1,01		1317	
45°C- 4 saat	1300,11	1234,85	0,64	0,87	1300,75	1235,71
	1169,58		1,09		1170,67	

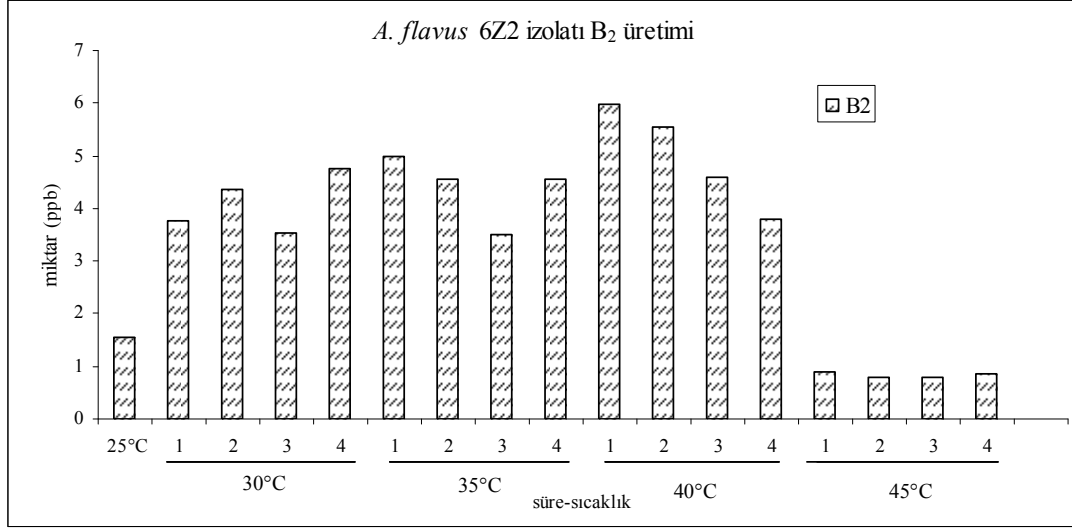
Farklı süre-sıcaklık uygulamalarının bu küf izolatının toksin üretimine olan etkisini incelemek için elde edilen veriler istatistiksel olarak %99 güven aralığında değerlendirilmiştir. 25°C’de 7 gün inkübe edilen kontrol grubu ile 30, 35 ve 40°C’lerde farklı sürelerle maruz bırakılan *A. flavus* 6Z2 izolatının ürettiği aflatoksin B₁ miktarındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olduğu, ancak 45°C’de farklı sürelerde bekletilen *A. flavus* 6Z2 aflatoksin B₁ üretiminin kontrol grubu ile farklılık göstermediği belirlenmiştir. Farklı sürelerde 30, 35 ve 40°C’lere maruz bırakılan izolatta aflatoksin B₁ miktarının 25°C ve 45°C’den daha düşük olduğu belirlenmiştir. 30, 35°C’lerde üretilen aflatoksin B₁ miktarının istatistiksel olarak birbirlerinden farklı olmadığı, sıcaklığın 40°C’ye çıkmasının aflatoksin B₁ miktarında 30 ve 35°C sıcaklıklara göre artışa sebep olduğu tespit edilmiştir. Sabit sıcaklıkta, toksin üretiminde sürenin bir etkisi olmadığı belirlenmiş, her sıcaklık derecesinde 1, 2, 3 ve 4 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının aflatoksin B₁ üretiminde istatistiksel olarak bir farklılık tespit edilmemiştir. Şekil 4.13 incelendiğinde, *A. flavus* 6Z2 izolatının toksin üretiminin süre-sıcaklık uygulamalarında sıcaklığın yükselmesi ile birlikte artış gösterdiği görülmektedir.



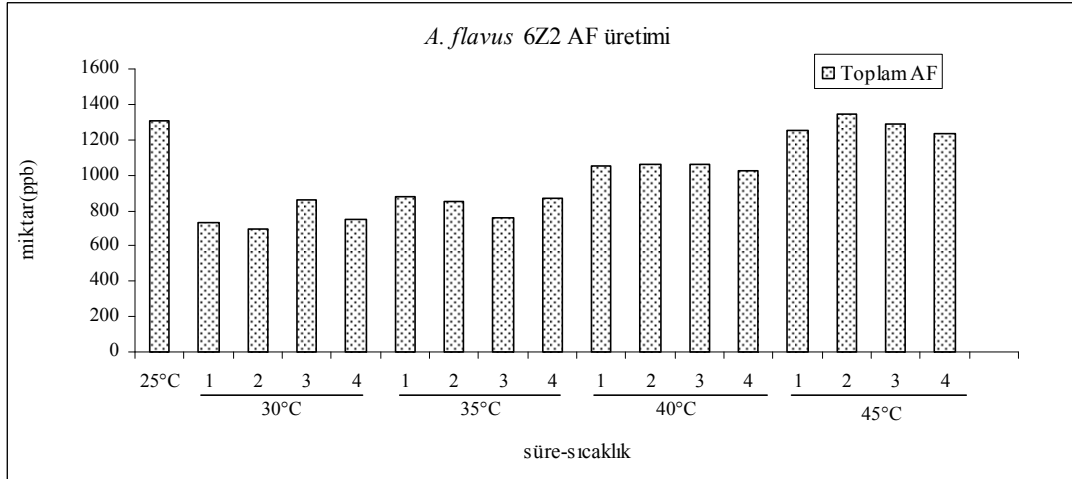
Şekil 4.13 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *A. flavus* 6Z2 küfünün aflatoksin B₁ üretimi

A. flavus 6Z2 izolatının aflatoksin B₂ üretimine süre-sıcaklığın etkisi incelendiğinde, 30, 35 ve 40°C tüm süre uygulamalarında toksin miktarının 25°C’den daha yüksek ve 45°C’deki tüm süre uygulamalarında 25°C’den daha düşük düzeyde olduğu görülmektedir, ancak istatistiksel olarak sadece 40°C’de 1 ve 2 saat bekletilen örneklerdeki toksin üretiminin 25°C’den daha fazla olduğu, diğer uygulamaların kontrolden farklı düzeyde toksin üretimine sebep olmadığı belirlenmiştir. 30 ve

35°C’lerdeki toksin miktarının istatistiksel olarak birbirlerinden farklılık göstermediği, ayrıca tüm sıcaklıklarda farklı süre uygulamalarının toksin üretimine bir etkisi olmadığı belirlenmiştir. Şekil 4.14 incelendiğinde, 30, 35 ve 40°C’lerde farklı süre uygulamalarına maruz bırakılan izolatın aflatoksin B₂ üretiminin kontrolden daha yüksek, 45°C’deki toksin miktarının ise kontrolden daha düşük düzeyde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.14 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *A. flavus* 6Z2 küfünün aflatoksin B₂ üretimi



Şekil 4.15 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *A. flavus* 6Z2 küfünün toplam aflatoksin üretimi

A. flavus 6Z2 izolatının ürettiği toplam aflatoksin miktarındaki değişim, aflatoksin B₁ miktarındaki değişim ile benzerlik taşımaktadır. 30, 35 ve 40°C’lere maruz bırakılan *A. flavus* 6Z2 izolatının ürettiği toplam aflatoksin miktarının 25 ve 45 °C’ den daha düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir. Şekil 4.15 incelendiğinde, 30, 35, 40 ve

45°C’lerde süre-sıcaklık uygulamalarına maruz bırakılan *A. flavus* 6Z2’nin toplam aflatoksin miktarının sıcaklığın artması ile birlikte artış gösterdiği, 45°C’de farklı sürelerde bekletilen *A. flavus* 6Z2 üzolatının ürettiği toksin miktarının kontrol ile aynı düzeye eriştiği görülmektedir.

4.2.2 Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *Aspergillus flavus* 4104Z1 izolatının toksin üretimi

Aspergillus flavus 4104Z1 küfünün farklı süre-sıcaklık kombinasyonlarında ürettiği aflatoksin miktarlarına ait HPLC bulguları Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3 : *A. flavus* 4104Z1 toksin miktarları

	B ₁ (ng/g)	B ₁ (ng/g)	Ortalama B ₁ (ng/g)
25°C	1,4	2,65	2,025
30°C- 1 saat	1,18	0	0,59
30°C- 2 saat	0	0	0
30°C- 3 saat	0,05	0	0,025
30°C- 4 saat	0	0	0
35°C- 1 saat	0	0	0
35°C- 2 saat	0,02	0	0,01
35°C- 3 saat	0,01	0	0,005
35°C- 4 saat	0,08	0	0,04
40°C- 1 saat	0	0	0
40°C- 2 saat	0	0	0
40°C- 3 saat	0	0	0
40°C- 4 saat	0	0	0
45°C- 1 saat	0	0	0
45°C- 2 saat	0	0	0
45°C- 3 saat	0,03	0	0,015
45°C- 4 saat	0	0	0

A. flavus 4104Z1 izolatının 25°C’de ortalama 2,025 ng/g (ppb) ve 30°C’de 1 saat bekletildiğinde ortalama 0,659 ng/g (ppb) aflatoksin B₁ ürettiği tespit edilmiştir. Kontrol örneği dışında, farklı sürelerde farklı sıcaklıklara bırakılan *A. flavus* 4104Z1 suşunun toksin üretiminin sıcaklığın artması ile birlikte ortadan kalktığı veya süre-

sıcaklık uygulamasının çok çok düşük düzeylerde aflatoksin üretimine sebep olduğu belirlenmiştir.

4.2.3 Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *Aspergillus parasiticus* 52D1 izolatının toksin üretimi

A. parasiticus 52D1 küfünün HPLC metodu kullanılarak yapılan aflatoksin analizine ait bulguları Çizelge 4.4'te ve Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.4 : *A. parasiticus* 52D1 toksin miktarları

	B ₁ (ng/g)	B ₂ (ng/g)	G ₁ (ng/g)	G ₂ (ng/g)	toplam AF (ng/g)
25°C	1214,93	4,87	714,89	1,79	1936,48
	1156,35	4,57	634,89	1,95	1797,76
30°C- 1 saat	1312,15	4,45	635,12	1,46	1953,18
	1178,75	4,15	713,6	1,86	1898,36
30°C- 2 saat	1398,03	4,19	778,37	2,43	2183,02
	1178,25	4,29	881,93	2,03	2066,50
30°C- 3 saat	1331,16	6,00	691,48	2,06	2030,70
	1124,79	5,14	630,66	2,6	1763,19
30°C- 4 saat	1328,72	6,07	765,76	2,6	2103,15
	1245,84	5,01	881,07	2,05	2133,97
35°C- 1 saat	1259,97	5,32	727,47	2,54	1995,30
	1427,96	5,63	644,75	2,08	2080,42
35°C- 2 saat	1264,08	5,15	884,64	2,21	2156,08
	1087,54	5,15	727,12	2,19	1822,00
35°C- 3 saat	1133,66	5,45	861,73	2,51	2003,35
	992,38	5,03	825,45	2,19	1825,05
35°C- 4 saat	1166,06	6,61	841,12	2,88	2016,67
	1025,46	5,96	766,51	2,17	1800,10
40°C- 1 saat	1147,62	4,78	944,21	1,73	2098,34
	944,21	4,61	929,64	1,68	1880,14
40°C- 2 saat	1161,98	2,42	1058,99	1,10	2224,49
	1073	2,81	863,27	1,32	1940,40
40°C- 3 saat	1108,97	2,02	981,74	1,06	2093,79
	1180	2,15	854,32	1,29	2037,76
40°C- 4 saat	1102,56	2,19	997,16	1,02	2102,93
	976,91	2,01	862,15	1,06	1842,13
45°C- 1 saat	830,52	1,31	1016,47	1,06	1849,36
	778,67	1,65	931,87	1,43	1713,62
45°C- 2 saat	812,84	1,11	1017,98	1,54	1833,47
	779	1,26	861,73	1,53	1643,52
45°C- 3 saat	820,52	1,08	931,82	2,20	1755,62
	720,52	0,94	941,73	2,41	1665,60
45°C- 4 saat	860,58	1,52	1018,27	1,37	1881,74
	790,55	0,79	908,36	1,82	1701,52

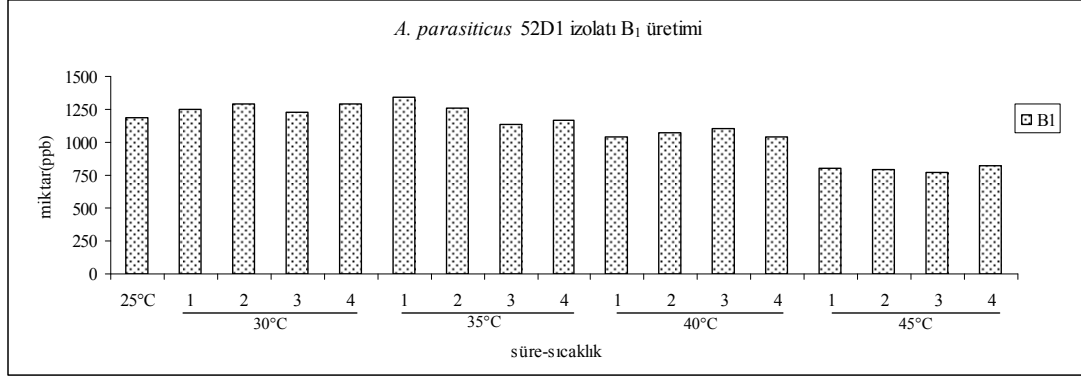
Çizelge 4.5 : *A. parasiticus* 52D1 ortalama toksin miktarları

	Ortalama B ₁ (ng/g)	Ortalama B ₂ (ng/g)	Ortalama G ₁ (ng/g)	Ortalama G ₂ (ng/g)	Ortalama toplam AF (ng/g)
25°C	1185,64	4,72	674,89	1,87	1867,12
30°C- 1 saat	1245,45	4,3	674,36	1,66	1925,77
30°C- 2 saat	1288,14	4,24	830,15	2,23	2124,76
30°C- 3 saat	1227,98	5,57	661,07	2,33	1896,95
30°C- 4 saat	1287,28	5,54	823,415	2,325	2118,56
35°C- 1 saat	1343,97	5,475	686,11	2,31	2037,86
35°C- 2 saat	1175,81	5,15	805,88	2,2	1989,04
35°C- 3 saat	1063,02	5,24	843,59	2,35	1914,2
35°C- 4 saat	1095,76	6,285	803,815	2,525	1908,39
40°C- 1 saat	1045,92	4,695	936,925	1,705	1989,24
40°C- 2 saat	1117,49	2,615	961,13	1,21	2082,45
40°C- 3 saat	1144,49	2,085	918,03	1,175	2065,78
40°C- 4 saat	1039,74	2,1	929,655	1,04	1972,53
45°C- 1 saat	804,595	1,48	974,17	1,245	1781,49
45°C- 2 saat	795,92	1,185	939,855	1,535	1738,5
45°C- 3 saat	770,52	1,01	936,775	2,305	1710,61
45°C- 4 saat	825,565	1,155	963,315	1,595	1791,63

Farklı süre-sıcaklık uygulamalarının bu küf izolatının toksin üretimine olan etkisi değerlendirildiğinde, *A. parasiticus* 52D1'in 25°C'de ürettiği aflatoksin B₁ miktarı ile 30, 35 ve 40°C'lik uygulamalara maruz bırakılan *A. parasiticus* 52D1'in ürettiği aflatoksin B₁ miktarlarında istatistiksel olarak fark olmadığı, ancak 45°C'de farklı sürelerle tabi tutulan *A. parasiticus* 52D1'in ürettiği aflatoksin B₁ miktarının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Sabit sıcaklıkta farklı süre uygulamasının o sıcaklıktaki toksin miktarlarında değişikliğe sebep olmadığı belirlenmiştir.

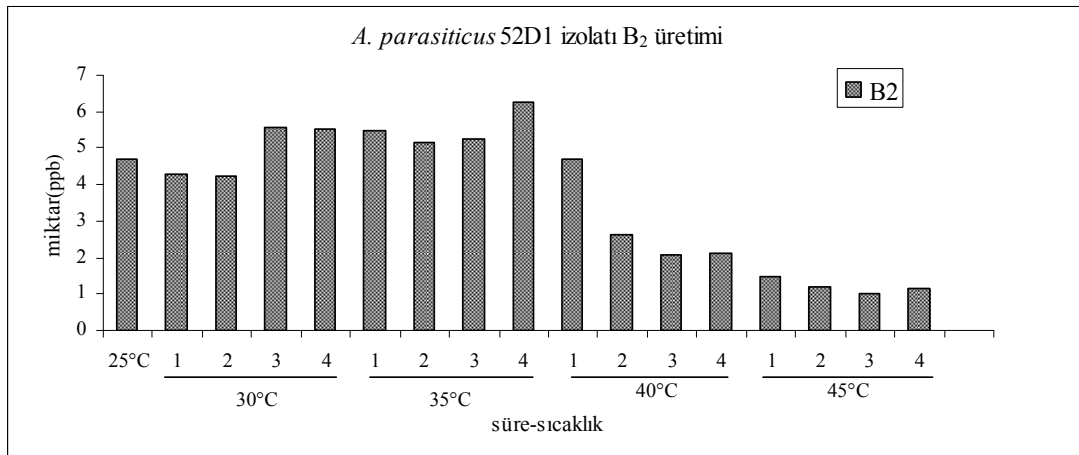
Aflatoksin B₂ üretimine süre-sıcaklığın etkisi incelendiğinde, 35°C'de 4 saat bekletilen izolatın toksin üretiminin kontrole göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. 40°C'de 1 saat bekletilen izolatın toksin üretiminde 25°C'de üretilen toksin miktarından farklılık görülmez iken, 2, 3 ve 4 saat 40°C ile 45°C'de tüm süre uygulamalarındaki aflatoksin B₂ üretiminin 25°C'den daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir. 30 ve 40°C sıcaklıklarda uygulanan farklı sürelerin üretilen aflatoksin B₂ miktarında farklılığa sebep olduğu tespit edilmiştir. 30°C'de 1 ve 2 saat

bekletilen izolatların toksin üretiminin 30°C’de 3 ve 4 saat bekletilen izolatlardan daha düşük olduğu bulunmuştur. 40°C’de ise 1 saat bekletilen izolatın toksin miktarının bu sıcaklıktaki diğer süre uygulamalarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

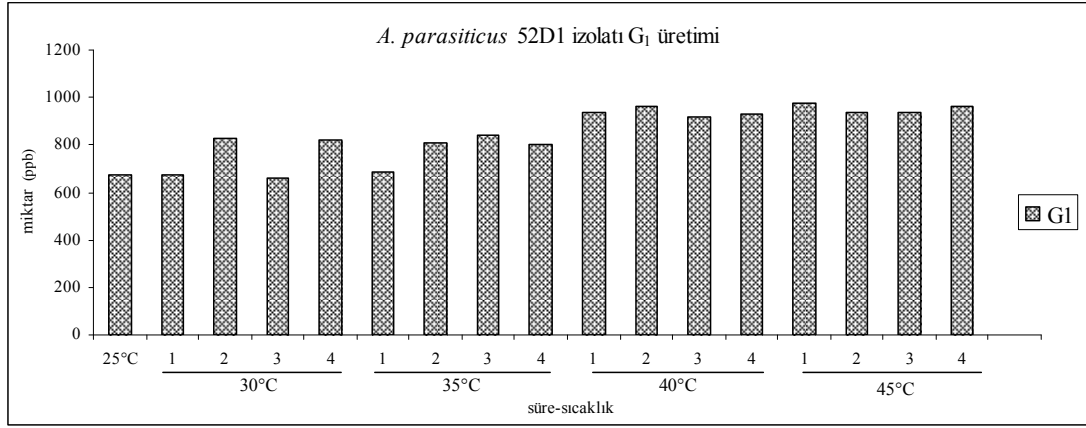


Şekil 4.16 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *A. parasiticus* 52D1 küfünün aflatoksin B₁ üretimi

Aflatoksin G₁ üretimine süre ve sıcaklığın etkisi incelendiğinde, 25°C’deki toksin miktarı ile 30 ve 35°C’lerde farklı sürelerle maruz bırakılan *A. parasiticus*’un toksin üretiminin istatistiksel olarak farklılık göstermediği belirlenmiş, 40 ve 45°C’de toksin üretiminin kontrolden daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Sabit sıcaklıkta farklı süre uygulamasına maruz bırakılan izolatın toksin üretiminde süre uygulamaları ile farklılık gözlenmemiştir. Şekil 4.18 incelendiğinde, süre-sıcaklık uygulamalarında sıcaklık artışının aflatoksin G₁ üretiminde artışa sebep olduğu görülmektedir ancak bu artış 30 ve 35°C’lerde istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.



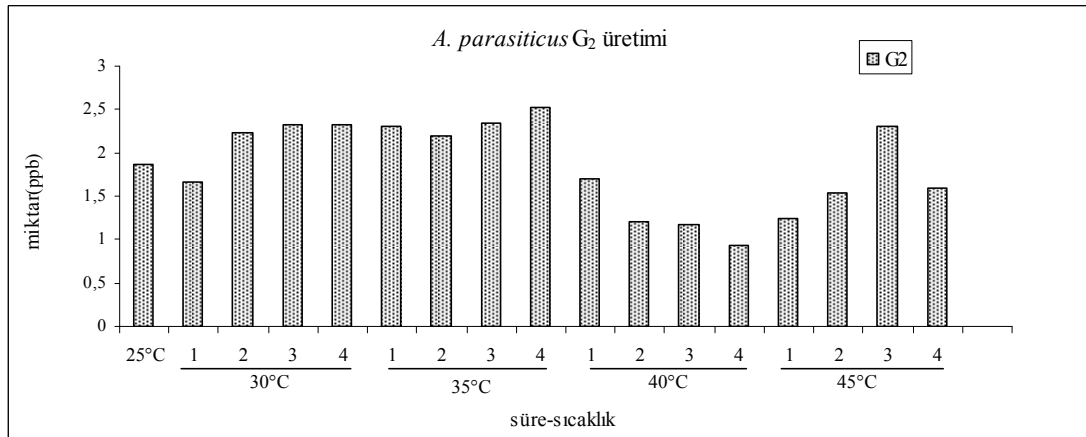
Şekil 4.17 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *A. parasiticus* 52D1 küfünün aflatoksin B₂ üretimi



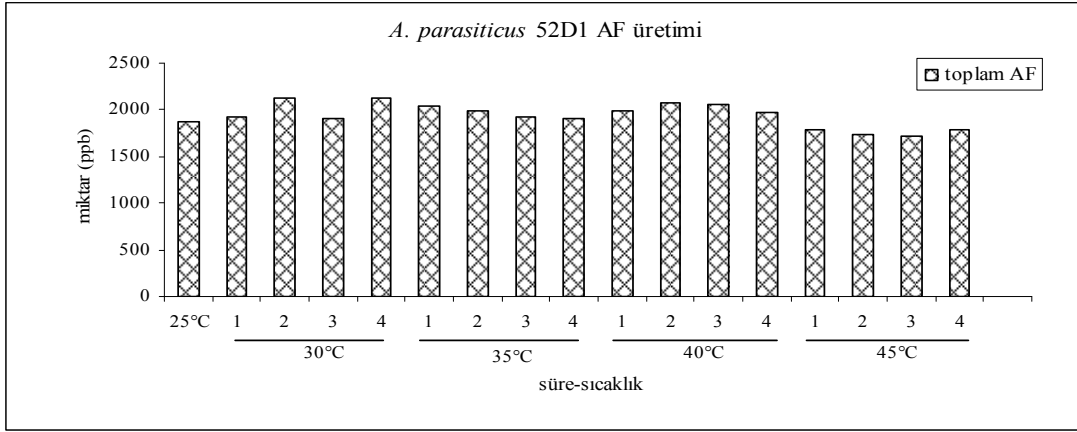
Şekil 4.18 : Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *A. parasiticus* 52D1 küfünün aflatoxin G₁ üretimi

Aflatoxin G₂ üretimine süre ve sıcaklığın etkisi incelendiğinde, 25°C’de üretilen toksin miktarı ile farklı süre-sıcaklık uygulamalarına maruz bırakılan *A. parasiticus* 52D1 izolatları tarafından üretilen toksin miktarlarındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Ancak Şekil 4.19 incelendiğinde, 40°C’de farklı sürelerde bekletilen *A. parasiticus* 52D1 aflatoxin G₂ üretiminin kontrolden daha düşük düzeyde olduğu görülmektedir.

A. parasiticus 52D1 küfünün toplam toksin miktarı üzerinde farklı süre-sıcaklık uygulamalarının bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. 25°C’de üretilen toplam aflatoxin miktarı diğer tüm süre-sıcaklık uygulamalarındaki toplam aflatoxin miktarı ile istatistiksel açıdan bir fark teşkil etmemektedir.



Şekil 4.19: Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *A. parasiticus* 52D1 küfünün aflatoxin G₂ üretimi



Şekil 4.20: Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *A. parasiticus* 52D1 küfünün toplam aflatoksin üretimi

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

A. flavus ve *A. parasiticus* küfleri gıdalarda bozulmaya yol açan küfler içinde en yaygın görülen türlerdir. Bu küfler, gıdalarda sıklıkla bulunmaları nedeniyle gıda ürünlerinde önemli kalite kayıplarına ve ekonomik kayıplara, aflatoksinleri üretmeleri sebebiyle de önemli sağlık sorunlarına neden olmaktadır.

Aflatoksinler, hasattan önce veya hasattan sonra depolama sırasında oluşmaktadır. Küf gelişimi ve toksin oluşumu için gıdanın su aktivitesi ve sıcaklık başlıca belirleyici faktörlerdir. Gıda ürünlerinin hasat, kurutma ve depolama sırasında maruz kaldıkları sıcaklık değerleri ile bu ürünlerdeki *A. flavus* ve *A. parasiticus* gelişimi ve aflatoksinlerin üretimi yakından ilişkilidir. Bu amaçla, bu çalışmada gıdaların hasat, kurutma ve depolama sırasında maruz kaldıkları farklı sıcaklık değerleri ve bu sıcaklıklara maruz kalma sürelerinin *Aspergillus* Section *Flavi* gelişimi ve aflatoksin üretimi üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Yapılan çalışmada, inkübasyon süresi boyunca 30 ve 35°C’de farklı sürelerde bekletilen *A. flavus* izolatlarının gelişimi ile süre-sıcaklık uygulamasına maruz bırakılmayan 25°C’de inkübe edilen *A. flavus* izolatlarının gelişimindeki farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir. 1, 2, 3 ve 4 saat 40 ve 45°C’lik uygulamaların *A. flavus* izolatlarının gelişiminde inkübasyonun 3. günü ve sonrasında azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Genel olarak, 45°C’de gerçekleştirilen uygulamalar sonucunda *A. flavus* izolatlarındaki gelişimin en düşük düzeyde olduğu belirlenmiş, ancak *A. flavus* 51D4 gelişiminin 3. ve 4. günlerinde ve *A. flavus* 4104Z1 gelişiminin 3. gününde, 40 ve 45°C’lik uygulamaların küf gelişiminde aynı etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir.

A. parasiticus gelişiminde kısa süreli yüksek sıcaklık uygulamalarının daha farklı bir sonuca sebep olduğu görülmüştür. İnkübasyonun 2. gününde 45°C’de 1, 2, 3 ve 4 saat bekletilen *A. parasiticus* gelişme hızının 25°C’den daha düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir. Takip eden günlerde 40 ve 45°C’lik uygulamaların *A. parasiticus* gelişiminde kontrol grubuna göre azalmaya sebep olduğu saptanmıştır. *A. parasiticus* inkübasyonunun ilk 5 gününde 25°C’deki gelişim ile 30 ve 35°C’lik uygulamalara

maruz bırakılan izolat gelişiminin istatistiksel açıdan farklılık göstermediği ancak inkübasyonun 6. gününde 30 ve 35°C'lik uygulamaların küf gelişimini arttırdığı belirlenmiştir.

Genel olarak sabit sıcaklıkta küf gelişiminin farklı süre uygulamalarından etkilenmediği belirlenmiştir. Ancak, *A. flavus* 6Z2 gelişiminde 4, 5 ve 6. günlerde 1 saat 40°C'lik uygulamanın, 2, 3 ve 4 saatlik uygulamalardan daha düşük düzeyde gelişime neden olduğu, yine aynı küf izolatının gelişiminin 6. gününde 45°C'de 1 ve 2 saat uygulamaların 3 ve 4 saatten daha yüksek düzeyde küf gelişimine sebep olduğu belirlenmiştir. *A. parasiticus* 52D1 izolatında da, 6. günde 40°C'de 1 ve 2 saat bekletilen izolattaki gelişimin, aynı sıcaklıkta 3 ve 4 saat bekletilen izolat gelişiminden daha düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Aspergillus Section *Flavi* toksin üretimine süre-sıcaklığın etkisi incelendiğinde, bu grup içindeki izolatların süre-sıcaklık kombinasyonlarında farklı toksin üretme davranışları gösterdiği saptanmıştır.

25°C'de 7 gün inkübe edilen *Aspergillus* Section *Flavi* üyelerinin AFB₁ üretiminin maksimum düzeyde olduğu belirlenmiştir. Bazı süre-sıcaklık uygulamalarında, izolata ve uygulanan sıcaklığa bağlı olarak 25°C'de üretilen toksin miktarı ile aynı seviyelerde AFB₁ üretimi saptanmış, ancak hiçbir izolatta süre-sıcaklık uygulamasının AFB₁ üretiminde artışa sebep olmadığı tespit edilmiştir. *A. flavus* 6Z2 izolatında 30, 35 ve 40°C'lik uygulamaların, *A. flavus* 4104Z1 izolatında 30, 35, 40 ve 45°C'lik uygulamaların, *A. parasiticus* izolatında ise 45 °C'lik uygulamaların AFB₁ miktarında azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Her iki *A. flavus* izolatında 30, 35 ve 40°C'de yapılan inkübasyonun AFB₁ üretiminde azalmaya sebep olduğu görülmüştür, ancak düşük düzeyde AFB₁ üreten *A. flavus* 4104Z1 izolatında farklı olarak, 45°C'de farklı sürelerde yapılan inkübasyonun da toksin miktarında azalmaya sebep olduğu görülmüştür. *A. flavus* 4104Z1 küfünün ürettiği toksin miktarının 25°C'de çok düşük düzeyde (2,025 ng/g) olması sebebiyle farklı süre-sıcaklık uygulamaları ile toksin oluşumu ortadan kalkmıştır.

A. parasiticus 52D1 izolatının AFG₁ üretiminin, süre-sıcaklık uygulamaları ile artış gösterdiği belirlenmiştir, ancak bu artış 30 ve 35°C'lik uygulamalar için istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. 40 ve 45°C'lik uygulamaların AFG₁ oluşumunu arttırdığı tespit edilmiştir.

AFB₁ konsantrasyonunun süre-sıcaklık uygulamaları ile azalması, karaciğer kanserinin en önemli kaynağı olan bu toksinin, gıdalarda konsantrasyonunun azaltılmasına yönelik ı ışık tutmaktadır. AFG₁ aflatoksinler içerisinde AFB₁'den sonra ikinci toksik mikotoksindir. AFG₁ konsantrasyonunun 40 ve 45°C'lik uygulamalarda artış göstermesi, 30 ve 35°C'lik uygulamaların gıda ürünlerindeki bu toksinlerin neden olduğu toksik etkinin azaltılmasına yönelik 1, 2, 3 ve 4 saatlik uygulama sürelerinde daha uygun sıcaklık dereceleri olduğunu ortaya koymaktadır.

Şekil 4.14 ve Şekil 4.17 incelendiğinde, *A. flavus* 6Z2 küfünün AFB₂ üretiminin 30, 35 ve 40°C'lik uygulamalarda artış gösterdiği, 45°C'lik uygulamaların ise AFB₂ miktarında azalmaya sebep olduğu görülmektedir. *A. parasiticus* 52D1 küfünde ise 2, 3 saat 30°C ve 35°C'lik uygulamaların AFB₂ üretimini arttırdığı, 40 ve 45°C'lik uygulamaların ise AFB₂ miktarında azalmaya sebep olduğu görülmektedir. Ancak elde edilen veriler, istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, 40°C'de 1 ve 2 saatlik inkübasyonun *A. flavus* 6Z2 küfünün ürettiği AFB₂ miktarında artışa, 35°C'de 4 saatlik inkübasyonun ise *A. parasiticus* 52D1 küfünün ürettiği AFB₂ miktarında artışa sebep olduğu belirlenmiştir. *A. parasiticus* 52D1 küfünde 2, 3 ve 4 saatlik 40°C ve 45°C'deki uygulamaların toksin miktarında azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir.

A. parasiticus 52D1 izolatının AFG₂ üretiminde ve toplam aflatoksin miktarında süre-sıcaklık uygulamalarının istatistiksel açıdan bir farklılığa sebep olmadığı belirlenmiştir.

Bu çalışma ile, hasat, kurutma ve depolama sırasında görülen farklı sıcaklık dereceleri ve bu sıcaklıklara maruz kalma sürelerinin *A. flavus* ve *A. parasiticus* gelişimi ve aflatoksin üretme davranışlarına olan etkileri ortaya konmaya çalışılmıştır. Elde edilen veriler, aflatoksin üretiminde sıcaklığın önemini bir kez daha ortaya koymakta, aflatoksin konsantrasyonların azaltılmasına yönelik önlemlerin alınması için ışık tutmaktadır.

KAYNAKLAR

- Atlas, M.R.**, 2006. *Handbook of microbiological media for the examination of food*. Second edition, p.400, CRC Press, Taylor and Francis Group, Florida.
- Aziz, N.H. and Moussa, L.A.A.**, 1997. Influence of white light, near UV irradiation and other environmental conditions on the production of aflatoxin B₁ by *Aspergillus flavus* and ochratoxin A by *Aspergillus ochraceus*. *Nahrung/Food*. Vol. **41**, pp. 150-154.
- Aziz, N.H., Farag, S.E., Mousa, L.A.A. and Abo-Zaid, M.A.**, 1998. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios*. Vol. **93**, pp. 43-54.
- Bennett, J.W., Lee, L.S. and Vinnett, C.**, 1971. The correlation of aflatoxin and norsolorinic acid production. *Journal of American Oil Chemists' Societ.* Vol. **48**, pp. 368-370.
- Bennett, J.W., Fernholz, F.A. and Lee, L.S.**, 1978. Effect of light on aflatoxins, anthraquinones, and sclerotia in *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. *Mycologia*. Vol. **70**, pp. 104-116.
- Betina, V.**, 1989. *Mycotoxins, Chemical, Biological and Environmental Aspects*, pp. 437, Elsevier, ISBN 0-444-98885-8, Amsterdam- Oxford- New York- Tokyo.
- Beuchat, L.R.**, 2007. Control of Foodborne Pathogens and Spoilage Microorganisms by Naturally Occurring Antimicrobials. In: *Food Contamination*, Second Edition, pp. 319-336, Eds. Wilson, C.L., CRC Press, Taylor and Francis Group, Florida.
- Boyras, N. and Özcan, M.**, 2006. Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savory (*Satureja hortensis* L.) growing wild in Turkey. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. **107**, pp. 238-242.
- Buchanan, R.L. and Ayres, J.C.**, 1975. Effect of initial pH on aflatoxin production. *Applied Microbiology*. Vol. **30**, pp. 1050- 1051.
- Buchanan, R.L., Hoover, D.G. and Jones, S.B.**, 1983. Caffeine inhibition of aflatoxin production: mode of action. *Applied Environmental Microbiology*. Vol. **46**, pp. 1193-1200.
- Bullerman, L.B.**, 1987. Methods for Detecting Mycotoxins in Foods and Beverages. In: *Food and Beverage Mycology*, 2nd ed., pp. 571, Ed. Beuchat, L.R., AVI, New York.
- Bullerman, L.B., Lieu, F.Y. and Seier, S.A.** 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. *Journal of Food Science*. Vol. **42**, pp. 1107-1116.

- Chouraisia, H.K. and Roy, A.K.,** 1991. Effect of temperature, relative humidity and light on aflatoxin B₁ production in neem and *Datura* seeds. *International Journal of Pharmacology*. Vol. **3**, pp. 197-202.
- Chu, F.S.,** 1997. Mode of action of mycotoxins and related compounds. *Advances in Applied Microbiology*. Vol. **40**, pp. 352-357.
- Cvetnic, Z. and Pepeljnjak, S.,** 1998. Production of cyclopiazonic acid by aflatoxigenic and non-aflatoxigenic strains of *Aspergillus flavus*. *Nahrung/ Food*. Vol. **42(5)**, pp. 321-323.
- Davis, N.D., Diener, U.L. and Agnihotri, V.P.,** 1967. Production of aflatoxins B₁ and G₁ in chemically defined medium. *Mycopathology and Mycology Applications*. Vol. **31**, pp. 251-256.
- Davis, N.D. and Diener, U.L.,** 1987. Mycotoxins. In: *Food and Beverage Mycology*, second edition, pp. 517-524, Eds. Beuchat, L.R., AVI, New York.
- Diener, U.L., Pettit, R.E. and Cole, R.J.,** 1982. Aflatoxins and other mycotoxins in peanuts. In: *Peanut Science and Technology*, pp. 486-519, Eds. Pattee, H.E., Young, C.T., American Peanut Research and Education Society, Yoakum, TX.
- Dixon, D.E.,** 1998. Immunoassays. In: *Food Analysis*, 2nd Edition, pp. 331-345, Ed. Nielsen, S.S., Aspen Publication.
- D'Mello, J.P.F. and Macdonald, A.M.C.,** 1997: Mycotoxins. *Animal Feed Science Technology*. Vol. **69**, pp. 155-166.
- D'Mello, J. P. F., Porter, J. K., Macdonald, A.M.C., Placinta, C.M.,** 1997. *Fusarium* mycotoxins. In: Handbook of Plant and Fungal Toxicants, pp. 287-301, Ed. J.P.F. D'Mello, CRC Press, Boca Raton, FL.
- D'Mello, J.P.F., Macdonald, A.M.C., Postel, D., Dijksma, W.T.P., Dujardin, A., Placinta, C.M.,** 1998. Pesticide use and mycotoxin production in *Fusarium* and *Aspergillus* phytopathogens. *European Journal of Plant Pathology*. Vol. **104**, pp. 741- 751.
- Dorner, J.W., Cole, R.J., Lomax, L.G., Gosser, H.S., and Diener, U.L.,** 1983. Cyclopiazonic acid production by *Aspergillus flavus* and its effect on broiler chickens. *Applied Environmental Microbiology*. Vol. **46**, pp. 698-703.
- Dorner, J.W., Cole, R.J., and Diener, U.L.,** 1994. The relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* with reference to production of aflatoxins and cyclopiazonic acid. *Mycopathologia*. Vol. **87(1)**, pp. 13-15.
- Dorner, J.W. and Cole, R.J.,** 2002. Effect of application of nontoxigenic strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* on subsequent aflatoxin contamination of peanuts in storage. *Journal of Stored Product Research*. Vol. **38**, pp. 329-339.
- Durakovic, S., Durakovic Z., Durakovic, A., Beritic, T., Pospisil, O., Delas, F.,** 1987. Effect of temperature and moisture on growth and aflatoxin formation by fungi cultured on corn. *Periodicum Biologorum*. Vol. **89**, pp. 44-52.

- Frisvad, J.C. and Samson, R.A.**, 1991. Filamentous Fungi in Foods and Feeds: Ecology, Spoilage and Mycotoxin Production. In: *Handbook of Applied Mycology. Foods and Feeds*, pp. 31-66, Eds. Arora, D. K., Mukerji, K.G., Marth, E.H., Marcel Dekker, New York.
- Gabal, M.A., Hegazi, S.A., Hassanin, N.**, 1994. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* field isolates. *Veterinary and Human Toxicology*. Vol. **36**, pp. 519-521.
- Gallagher, R.T., Richard, J.L., Stahr, H.M. and Cole, R.J.**, 1978. Cyclopiazonic acid production by aflatoxigenic and nonaflatoxigenic strains of *Aspergillus flavus*. *Mycopathologia*. Vol. **66**, pp. 31-36.
- Gilbert, J. and Vargas, A.E.**, 2005. Advances in Sampling and Analysis for Aflatoxins in Food and Animal Feed. In: *Aflatoxin and Food Safety*, pp. 237-268, Ed. Abbas, H. K., CRC Press.
- Giorni, P., Magan, N., Pietri, A., Bertuzzi, T., Battilani, P.**, 2007. Studies on *Aspergillus* section *Flavi* isolated from maize in northern Italy. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. **113**, pp. 330-338.
- Gqaleni, N., Smith, J.E., Lacey, J.**, 1996. Co-production of aflatoxins and cyclopiazonic acid in isolates of *Aspergillus flavus*. *Food Additives and Contaminants*. Vol. **13**, pp. 667-685.
- Gqaleni, N., Smith, J.E., Lacey, J., Gettinby, G.**, 1997. Effects of temperature and water activity, and incubation time on production of aflatoxins and cyclopiazonic acid by an isolate of *Aspergillus flavus* in surface agar culture. *Applied Environmental Microbiology*. Vol. **63**, pp. 1048-1053.
- Goto, T., Wicklow, D. T. and Ito, Y.**, 1996. Aflatoxin and CPA production by a Sclerotium-Producing *Aspergillus tamaris* Strains. *Environmental Microbiology*. Vol. **62(11)**, pp. 4036-4038.
- Hara, S., Murakami, H., Ohba, T., Sugama, S.**, 1973. Studies on the mycological characters of aflatoxin-producing strains belonging to the *A. flavus* group. Production of moldy rice containing aflatoxin from a rice and saki brewing with the moldy rice. *Report of the Research Institute of Brewing*. Vol. **145**, pp. 13-18.
- Hatem, N.L., Hassab, H.M.A., El-Deeb, S.A., Ahmed, R.L.E.** 2005. Prevalence of aflatoxins in blood and urine of Egyptian infants with protein-energy malnutrition. *Food and Nutrition Bulletin*. Vol. **26**, pp. 49-56.
- Holzappel, C.W.**, 1968: The isolation and structure of cyclopiazonic acid, a toxic metabolite of *Penicillium cyclopium*. *Westling Tetrahedron*. Vol. **24**, pp. 2101-2119.
- Horn, B.W., Greene, R.L., Sobolev, V.S., Dorner, J.W., Powell, J.H. and Layton, R.C.**, 1996. Association of morphology and mycotoxin production with vegetative compatibility groups in *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* and *A. tamaris*. *Mycologia*. Vol. **88(4)**, pp. 574-587.
- Horn, B.W. and Dorner, J.W.**, 1999: Regional differences in production of aflatoxin B₁ and cyclopiazonic acid by soil isolates of *Aspergillus flavus* along a transect within the United States. *Applied Environmental Microbiology*. Vol. **65**, pp. 1444-1449.

- Hussein, S. H. and Brasel, J. M.,** 2001. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*. Vol. **167**, pp. 101-134.
- Huynh, V.L. and Lloyd, A.B.,** 1984. Synthesis and degradation of aflatoxins by *Aspergillus parasiticus*. Synthesis of aflatoxin B₁ by young mycelium and its subsequent degradation in aging mycelium. *Australian Journal of Biological Sciences*. Vol. **37**, pp. 37-43.
- Iamanaka, B.T., Menezes, H.C., Vincente, E., Leite, R.S.F. and Taniwaki, M.H.,** 2007. Aflatoxigenic fungi and aflatoxins occurrence in sultanas and dried figs commercialized in Brazil. *Food Control*. Vol. **18**, pp 454-457.
- Ikins, W.G.,** 1991. Modern Methods of Analyzing Mycotoxins in Foods. In: *Instrumental Methods for Quality Assurance in Foods*, pp.117, Eds. Fung, D.Y.C., Mathews, R.F., Qulity Pres, New York,
- International Agency for Research on Cancer- IARC.,** 1993. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. In *IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, Vol. **56**, pp 489-521.
- Ito, Y., Peterson, S. W. and Goto, T.,** 1999. Properties of *Aspergillus tamaraii*, *A. caelatus* and related species from acidic tea soils in Japan. *Mycopathologia*. Vol. **144** , pp. 169-175.
- Ito, Y., Peterson, S. W., Wicklow, D. T. and Goto, T.,** 2001. *Aspergillus pseudotamaraii*, a new aflatoxin producing species in *Aspergillus* Section *Flavi*. *Mycological Research*. Vol. **105 (2)**, pp. 233-239.
- Jarvis, B., Chapman, W.B., Williams, A.P., Norton, D.M., Tolule.,** 1982. Methods for the detection and identification of selected mycotoxins. In: *Isolation and Identification Methods for Food Poisoning Organisms*, pp. 367-392, Ed. Corry, J.E.L., Academic Pres, London,
- Keller, N.P., Nesbitt, C., Sarr, B., Phillips, T.D., Burow, G.B.,** 1997. pH regulation of sterigmatocystin and aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus* spp. *Phyopathology*. Vol. **87**, pp. 643-648.
- Klich, M.A.,** 2007. Environmental and developmental factors influencing aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Mycoscience*. Vol. **48**, pp. 71-80.
- Lacey, J., Ramakrishna, N., Hamer, A., Magan, N., Marfleet, I.C.,** 1991. Grain Fungi. In: *Handbook of Applied Mycology Foods and Feeds*, pp. 120-177, Eds. Arora, D.K., Mukerji, K.G., Marth, E.H., Marcel Dekker, New York.
- Lansden, J.A. and Davidson, J.I.,** 1983: Occurrence of cyclopiazonic acid in peanuts. *Applied Environmental Microbiology*. Vol. **45**, pp. 766-769.
- Lee, Y.J. and Hagler, W.M.,** 1991: Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by *Aspergillus flavus* isolated from contaminated maize. *Journal of Food Science*. Vol. **56**, pp. 871-872.
- Li, P., Zhang, Q., Zhang, W.,** 2009. Immunoassays for aflatoxins. *Trends in Analytical Chemistry*. Vol. **28 (9)**, pp. 1115-1126.

- Lopez-Malo, A., Barreto-Valdivieso, J., Palou, E., Martin, F.S.,** 2007. *Aspergillus flavus* growth response to cinnamon extract and sodium benzoate mixtures. *Food Control*. Vol. **18**, pp. 1358-1362.
- Maragos, C.M.,** 2005. Recent Developments in Immunochemical Methods. In: *Aflatoxin and Food Safety*, pp.269-290, Ed Abbas, H.K., CRC Press.
- Marsh, P.B., Simpson, M.E., Trucksess, M.W.,** 1975. Effects of trace metals on the production of aflatoxins by *Aspergillus parasiticus*. *Applied Microbiology*. Vol. **30**, pp. 52-57.
- Miraglia, M. And Brera, C.,** 2000. Determination of Mycotoxins in Grains and Related Products. In: *Food Analysis by HPLC*, Ed. L.M.L. Nollet, Marcel Dekker, INC, New York, pp. 502-504.
- Moreno, O.J. and Kang, M.S.,** 1999. Aflatoxins in maize: the problem and genetic solutions. *Plant Breeding*. Vol. **118**, pp. 1-16.
- Nesci, A., Rodriguez, M., Etcheverry, M.,** 2003. Control of *Aspergillus* growth and aflatoxin production using antioxidants at different conditions of water activity and pH. *Journal of Applied Microbiology*. Vol. **95**, pp. 279-287
- Niehaus, W.G. and Jiang, W.,** 1989. Nitrate induces enzymes of mannitol cycle and suppresses versicolorin synthesis in *Aspergillus parasiticus*. *Mycopathologia*. Vol. 107, pp. 131-137.
- Obidoa, O., Ndubuisi, I.E.,** 1981. The role of zinc in the aflatoxigenix potential of *Aspergillus flavus* NRRL 3251 on foodstuffs. *Mycopathologia*. Vol. **74**, pp. 3-6.
- Oliveira, C.A., Rosmaninho, J., and Rosim, R.,** 2006: Aflatoxin M₁ and cyclopiazonic acid in fluid milk traded in Sao Paulo, Brazil. *Food Additives and Contaminants*. Vol. **23**, pp. 196-201.
- Pariza, W.M.,** 1996. Toxic substances. In: *Food Chemistry*. 3rd edition, pp. 825-841, Ed. Fennema, O.R, Marcel Dekker, New York.
- Payne, G.A. and Hagler, W.M.,** 1983. Effect of spesific aminoacids on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus* in defined media. *Applied Enviromental Microbiology*. Vol. **46**, pp. 805-812.
- Pinto, V.F., Patriarca, A., Locani, O., and Vaamonde, G.,** 2001. Natural occurance of aflatoxin and cyclopiazonic acid in peanuts grown in Argentina. *Food Additives and Contaminants*. Vol. **18**, pp. 1017-1020.
- Pitt, J.I. and Miscamble, B.F.** 1995. Water relations of *Aspergillus flavus* and closely related species. *Journal of Food Protection*. Vol. **58**, pp. 86-90.
- Pitt, J.I. and Hocking A.D.,** 2009. *Fungi and Food Spoilage*. Third Edition, pp. 307, Springer Science + Business Media, LLC, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA.
- Ramakrishna, N., Lacey, J., Smith, J.E.,** 1996. *Aspergillus flavus* colonization and aflatoxin B₁ formation in barley grain during interaction with other fungi. *Mycopathologia*. Vol. **136**, pp. 53-63.

- Ribeiro, J.M.M., Cavaglieri, L.R., Fraga, M.E., Direito, G.M., Dalcero, A.M., Rosa, C.A.R.,** 2006. Influence of water activity, temperature and time on mycotoxins production on barley rootlets. *Letters in Applied Microbiology*. Vol. **42**, pp. 179-184.
- Rodriguez, S.B., Mahoney, N.E.,** 1994. Inhibition of aflatoxin production by surfactants. *Applied Environmental Microbiology*. Vol. 60, pp. 106-110.
- Rustom, I. Y. S.,** 1997. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry*. Vol. **59(1)**, pp. 57-67.
- Samson, R. A.,** 2001. Current fungal taxonomy and mycotoxins. In *Mycotoxins and Phycotoxins in Perspective at the Turn of the Millennium*, pp. 343-350, Eds. W.J. de Koe, R.A. Samson, H.P. van Egmond, J. Gilbert, M.Sabino, Wageningen, The Netherlands.
- Scheidegger, K. A. and Payne, G. A.,** 2005. Unlocking the Secrets Behind Secondary Metabolism: A Review of *Aspergillus flavus* from Pathogenicity to Functional Genomics. In: *Aflatoxin and Food Safety*, pp.137-165, Ed. Abbas, H.K., Taylor& Francis Group, LLC.
- Schroeder, H.W., Hein, H.,** 1967. Aflatoxins: production of toxins in vitro in relation to temperature. *Applied Microbiology*. Vol. **15**, pp. 441-445.
- Shahin, A.A.M. and Aziz, N.H.,** 1997. Influence of gamma rays and sodium chloride on aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *Microbios*. Vol. **90**, pp. 163-175.
- Shih, C.N. and Marth, E.H.,** 1974. Some cultural conditions that control biosynthesis of lipid and aflatoxin by *Aspergillus parasiticus*. *Applied Microbiolgy*. Vol. **27**, pp. 452-456.
- Sinha, K.K., Sinha, A.K., Prasad, G.,** 1993. The effect of clove and cinnamon oils on growth of and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *Letters in Applied Microbiology*. Vol. **16**, pp. 114-117.
- Stroka, J., Anklam, E., Jörissen, U., Gilbert, J.,** 2002. Immunoaffinity Column Cleanup with Liquid Chromatography Using Post-Column Bromination for Determination of Aflatoxins in Peanut Butter, Pistachio Paste, Fig Paste and Paprika Powder: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*. Vol. **83(2)**, pp. 320-340.
- Stroka, J. and Anklam, E.,** 2002. New strategies for the screening and determination of aflatoxins and detection of aflatoxin-producing moulds in food and feed. *Trends in Analytical Chemistry*. Vol. **21(2)**, pp. 90-95.
- Temiz, A.,** 1999. Gıdalarda Mikrobiyal Gelişmeyi Etkileyen Faktörler. In: *Gıda Mikrobiyolojisi, İkinci Baskı*, pp. 53-80, Eds. Ünlütürk, A., Turantaş, F., Mengi Tan Basımevi, Çınarlı-İzmir.
- Thapar, G.S.,** 1988. Metabolic behaviour of aflatoxin producing and non-toxigenic strain of *Aspergillus flavus* to different sources of nitrogen and glucose. *Mycopathologia*. Vol. **102**, pp. 9-12.

- Tran-Dinh, N., Pitt, J.I., and Carter, D.A., 1999:** Molecular genotype analysis of natural toxigenic and nontoxigenic isolates of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. *Mycological Research*. Vol. **103**, pp. 1485-1490.
- Tunail, N., 2000.** Mikrobiyal enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- Türk Gıda Kodeksi, 2008/26-** Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ.
- Türk Gıda Kodeksi, 2009/22-** Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ.
- Urano, T., Trucksess, M.W., Beaver, R.W., Wilson, D.M., Dorner, J.W. and Dowell, F.E., 1992,** Co-occurrence of cyclopiazonic acid and aflatoxins in corn and peanuts. *Journal of AOAC International*. Vol. **75**, pp. 838-841.
- Url-1** <<http://www.mycotoxins.org>>, alındığı tarih 17.12.2009.
- Url-2** <<http://www.aspergillus.org.uk>>, alındığı tarih 29.04.2010.
- Varga, J., Rigo, K., Toth, B., Teren, J., Kozakiewicz, Z., 2003.** Evolutionary relationships among *Aspergillus* species producing economically important mycotoxins. *Food Technology and Biotechnology*. Vol. **41(1)**, pp. 29-36.
- Vaamonde, G., Patriarca, A., Pinto, V.F., Comerio, R., Degrossi, C., 2003.** Variability of aflatoxin and cyclopiazonic acid production by *Aspergillus* section *Flavi* from different substrates in Argentina. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. **88**, pp. 79-84.
- Williams, J.H., Phillips, T.D., Jolly, P.E., Stiles, J.K., Jolly, C.M., Aggarwal, D. 2004.** Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *American Journal of Clinical Nutrition*. Vol. **80**, pp. 1106-1122.

EKLER

EK A: Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *Aspergillus Section Flavi* grubu küflerin çap ölçüm değerleri (mm)

EK B: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Metodu Sonuç Kromatogramları

EK C: İstatistiksel Analiz Sonuçları

EK A: Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *Aspergillus Section Flavi* grubu küflerin çap ölçüm değerleri (mm)

Çizelge A.1: Farklı süre-sıcaklık uygulamalarında *Aspergillus Section Flavi* grubu küflerin çap ölçüm değerleri (mm)

25°C		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	8	6	7	6	7	10	10	9	10	10	10
	2.gün	26	25	25	25	25	25	29	28	29	28	28	29
	3.gün	43	43	42	43	42	43	41	41	41	41	41	41
	4.gün	58	60	59	58	60	59	59	59	59	59	59	59
	5.gün	69	69	69	70	70	70	69	70	69	70	69	70
	6.gün	80	82	82	82	82	82	83	83	83	84	83	84
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
4104Z1	1.gün	7	7	7	6	7	7	9	8	8	9	9	10
	2.gün	25	25	26	25	25	26	29	29	28	29	28	29
	3.gün	42	42	44	42	43	42	41	40	41	40	41	40
	4.gün	55	55	56	55	54	55	55	54	54	55	53	55
	5.gün	65	65	64	65	65	65	66	65	66	66	67	65
	6.gün	78	77	77	77	76	77	76	76	76	76	76	76
	7.gün	81	83	82	82	82	82	82	82	82	82	82	82
52D1	1.gün	6	7	7	6	7	7	9	9	9	9	9	9
	2.gün	26	27	27	27	26	27	28	29	29	29	28	29
	3.gün	41	43	43	43	42	43	43	42	43	42	42	43
	4.gün	54	54	55	54	54	55	57	58	57	58	58	58
	5.gün	63	64	63	64	63	63	65	65	65	65	65	65
	6.gün	79	80	79	78	79	79	82	82	82	81	82	81
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
51D4	1.gün	7	6	7	7	7	7	8	9	8	9	8	9
	2.gün	25	26	26	27	26	26	28	29	29	28	29	29
	3.gün	43	42	42	43	42	42	40	41	40	40	40	40
	4.gün	56	56	57	55	56	55	54	54	53	53	53	54
	5.gün	64	65	66	65	65	65	65	65	65	66	65	66
	6.gün	78	77	77	78	76	78	76	75	76	75	76	76
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85

45°C		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
4 saat		D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	6	6	7	7	7	7	7	7	7	7	6
	2.gün	23	23	24	23	22	23	26	27	27	26	27	26
	3.gün	32	33	32	33	32	33	35	37	35	36	35	37
	4.gün	53	52	53	52	54	54	52	54	53	53	54	55
	5.gün	65	67	66	67	67	67	65	65	64	64	64	65
	6.gün	79	78	79	80	78	80	79	80	79	79	78	80
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
4104Z1	1.gün	6	5	6	5	5	5	6	7	6	7	7	7
	2.gün	25	23	25	23	25	23	27	26	27	26	24	25
	3.gün	37	35	36	36	36	37	37	38	39	39	37	39
	4.gün	52	52	52	52	52	52	53	54	52	54	54	54
	5.gün	62	62	63	63	63	63	64	63	63	63	63	62
	6.gün	75	76	75	75	75	76	75	76	74	75	75	75
	7.gün	83	83	83	83	85	85	85	83	83	83	82	83
52D1	1.gün	5	6	6	5	6	5	7	6	7	6	6	7
	2.gün	23	21	22	22	22	22	26	25	25	26	25	25
	3.gün	35	35	33	35	33	35	37	38	36	36	37	38
	4.gün	51	50	51	50	51	50	50	52	52	52	52	52
	5.gün	62	61	60	61	61	61	62	63	63	63	62	62
	6.gün	73	73	73	73	72	72	71	71	72	72	71	71
	7.gün	80	79	81	80	80	80	78	80	78	80	79	80
51D4	1.gün	6	7	6	7	7	7	7	6	6	6	7	7
	2.gün	25	24	24	25	24	25	27	26	27	27	26	26
	3.gün	35	35	35	36	35	36	39	39	40	40	40	40
	4.gün	51	52	52	52	52	52	53	54	53	54	53	53
	5.gün	63	63	63	62	63	63	63	63	63	63	63	62
	6.gün	74	74	73	74	73	74	76	77	75	75	76	76
	7.gün	82	83	82	82	82	83	83	85	83	85	85	85

45°C		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
3 saat													
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	7	6	6	6	7	7	7	7	7	8	8
	2.gün	23	23	22	23	22	23	26	27	27	27	27	26
	3.gün	39	40	39	38	40	40	37	38	35	36	38	36
	4.gün	56	56	57	57	57	56	55	56	53	53	55	54
	5.gün	66	67	66	67	67	67	66	67	66	67	68	67
	6.gün	80	80	79	80	81	79	78	77	78	78	79	79
	7.gün	85	85	85	85	85	85	83	85	83	83	83	83
4104Z1	1.gün	7	6	7	7	7	6	6	7	8	7	6	7
	2.gün	25	23	25	23	25	23	27	26	26	26	26	25
	3.gün	35	35	37	37	35	37	39	38	39	39	39	39
	4.gün	52	54	53	52	52	54	54	54	52	52	54	54
	5.gün	63	62	63	63	62	62	62	63	63	63	63	63
	6.gün	76	75	75	75	77	76	76	75	74	75	75	75
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	83
52D1	1.gün	6	7	6	6	6	7	8	7	7	6	8	7
	2.gün	24	24	22	24	22	24	27	27	27	26	27	27
	3.gün	36	37	37	37	36	37	38	38	38	38	39	39
	4.gün	51	50	51	50	51	51	53	53	52	53	53	54
	5.gün	62	61	62	61	62	61	64	64	63	63	63	64
	6.gün	72	72	73	73	72	72	72	74	72	74	73	74
	7.gün	82	82	80	82	80	82	80	80	80	80	80	80
51D4	1.gün	6	7	6	7	7	7	7	6	6	6	7	7
	2.gün	24	24	25	25	24	25	26	26	27	27	26	27
	3.gün	36	35	36	35	36	35	38	38	39	40	38	40
	4.gün	51	51	51	51	51	51	53	54	54	54	53	54
	5.gün	62	62	62	63	62	63	62	63	62	63	62	64
	6.gün	74	73	74	73	73	74	74	75	74	75	75	75
	7.gün	83	84	83	84	83	84	82	81	81	81	82	82

45°C		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
2 saat		D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	7	7	7	7	6	7	8	6	6	7	8
	2.gün	24	24	24	25	25	23	25	27	26	27	25	26
	3.gün	38	37	38	37	38	39	37	37	36	38	36	37
	4.gün	53	52	55	53	53	53	52	53	53	53	53	54
	5.gün	67	67	65	66	66	67	66	65	66	67	66	67
	6.gün	76	76	77	76	75	77	77	77	76	77	76	77
	7.gün	80	81	82	82	81	82	80	80	80	81	80	81
4104Z1	1.gün	7	6	7	6	7	6	8	8	8	7	8	7
	2.gün	26	25	26	25	26	25	27	27	27	27	27	27
	3.gün	37	37	37	37	37	37	37	38	39	39	38	39
	4.gün	50	49	50	50	50	50	52	53	52	53	52	54
	5.gün	63	63	62	63	62	62	62	63	63	62	62	63
	6.gün	75	74	75	75	76	74	76	75	76	75	75	76
	7.gün	81	80	80	80	81	81	80	80	80	80	80	80
52D1	1.gün	5	6	6	6	6	7	8	8	8	8	8	7
	2.gün	25	24	24	24	24	24	26	27	27	26	26	27
	3.gün	39	37	38	37	38	37	40	39	40	39	39	38
	4.gün	52	50	51	49	49	49	53	52	52	53	52	52
	5.gün	62	61	60	61	61	61	64	64	63	64	63	64
	6.gün	73	72	74	72	72	71	71	73	72	71	73	74
	7.gün	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
51D4	1.gün	7	7	7	7	7	7	8	6	6	8	7	7
	2.gün	24	25	24	25	24	25	26	26	27	26	27	27
	3.gün	34	35	35	35	34	35	36	37	37	37	37	37
	4.gün	50	49	50	51	50	50	52	54	54	54	53	54
	5.gün	62	62	63	62	62	63	64	63	63	63	63	63
	6.gün	73	73	74	72	72	73	74	74	73	74	75	75
	7.gün	79	80	79	79	79	80	79	80	80	80	78	80

45°C 1 saat		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	8	7	8	7	8	7	8	8	6	8	6	8
	2.gün	23	23	24	24	24	24	26	27	26	27	27	26
	3.gün	36	38	36	38	38	38	36	37	37	38	37	37
	4.gün	52	53	52	53	52	53	53	54	54	53	53	54
	5.gün	65	66	66	66	66	66	66	67	66	67	66	67
	6.gün	75	76	76	77	76	76	75	76	77	77	75	77
	7.gün	81	82	81	82	81	82	80	82	82	81	82	82
4104Z1	1.gün	8	7	8	7	8	7	6	8	7	8	8	8
	2.gün	24	24	24	23	24	24	27	27	26	27	26	26
	3.gün	38	38	37	37	38	36	39	39	38	39	38	39
	4.gün	54	52	53	54	53	53	53	54	55	55	54	54
	5.gün	62	62	64	62	64	62	63	62	63	63	63	64
	6.gün	75	75	76	75	75	75	75	75	76	75	75	74
	7.gün	81	82	80	82	80	82	82	83	83	83	81	82
52D1	1.gün	6	6	6	6	6	6	7	8	7	8	8	8
	2.gün	24	24	24	25	24	24	26	27	27	26	27	26
	3.gün	37	38	37	38	37	38	38	38	39	39	39	40
	4.gün	52	51	52	51	52	51	51	52	52	52	51	52
	5.gün	62	62	60	60	61	61	63	63	63	63	63	63
	6.gün	72	72	73	72	73	73	74	74	74	73	74	73
	7.gün	80	80	81	81	80	80	82	81	82	81	81	81
51D4	1.gün	8	7	8	7	8	7	8	7	6	6	7	8
	2.gün	24	25	24	25	24	25	26	26	27	26	27	27
	3.gün	35	35	35	35	35	35	37	37	37	37	38	38
	4.gün	51	52	51	52	51	52	54	54	54	54	54	54
	5.gün	65	64	65	64	65	64	64	64	64	63	63	63
	6.gün	75	75	74	75	76	75	75	74	74	74	75	75
	7.gün	83	82	83	83	83	82	83	83	83	84	83	84

40°C		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
4 saat													
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	7	6	6	7	6	8	8	7	7	8	8
	2.gün	26	25	26	25	26	25	26	27	26	27	27	27
	3.gün	40	39	40	38	40	38	40	40	39	40	39	40
	4.gün	56	58	56	58	58	56	56	68	56	56	56	56
	5.gün	70	69	69	69	69	69	67	68	66	66	65	67
	6.gün	78	79	79	78	78	79	78	79	78	79	78	79
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
4104Z1	1.gün	5	7	5	7	7	7	7	7	7	7	7	7
	2.gün	24	23	24	23	24	23	27	28	27	27	28	27
	3.gün	37	38	37	38	37	37	38	38	38	39	39	39
	4.gün	53	52	53	52	53	53	53	54	53	53	53	53
	5.gün	62	62	64	64	63	63	63	63	63	63	64	63
	6.gün	76	76	76	76	76	75	75	75	75	75	75	75
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
52D1	1.gün	7	6	5	6	6	7	7	8	8	8	7	7
	2.gün	26	26	26	26	26	26	27	27	27	27	27	27
	3.gün	37	38	39	38	39	38	38	39	38	39	39	39
	4.gün	55	54	55	54	53	55	54	54	53	53	53	53
	5.gün	61	61	63	63	62	62	60	61	62	61	63	62
	6.gün	79	80	79	79	80	79	77	77	77	77	77	77
	7.gün	85	85	83	83	85	85	85	85	85	85	85	85
51D4	1.gün	7	6	6	6	6	7	8	7	8	8	7	8
	2.gün	25	24	25	24	25	24	26	26	26	27	27	28
	3.gün	35	34	35	35	34	34	36	36	35	36	36	36
	4.gün	51	53	51	52	51	53	54	53	53	53	54	53
	5.gün	64	64	63	64	63	64	63	63	64	63	64	64
	6.gün	75	74	75	75	75	75	75	76	76	76	76	77
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85

40°C		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
3 saat													
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	7	7	6	7	6	8	8	7	7	8	8
	2.gün	26	25	26	25	26	25	27	27	28	27	27	28
	3.gün	40	40	40	38	40	38	40	40	39	39	40	40
	4.gün	58	56	57	58	57	57	56	58	56	56	56	56
	5.gün	69	69	69	69	70	69	66	66	67	67	66	65
	6.gün	77	79	77	77	77	79	77	78	77	78	77	77
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
4104Z1	1.gün	7	7	7	6	7	7	8	8	7	9	8	9
	2.gün	24	23	24	23	24	25	27	27	27	27	26	27
	3.gün	37	38	39	37	38	37	40	40	39	39	39	39
	4.gün	52	52	52	52	54	53	53	54	53	53	52	54
	5.gün	63	63	63	63	63	63	64	64	64	64	64	63
	6.gün	74	74	74	74	74	75	75	75	74	74	74	74
	7.gün	85	85	85	85	85	85	83	85	83	85	85	85
52D1	1.gün	7	6	7	6	7	6	7	8	8	8	8	8
	2.gün	26	25	25	25	25	25	27	27	27	28	27	27
	3.gün	39	38	40	39	38	39	40	40	40	40	39	39
	4.gün	52	52	52	53	52	52	52	53	54	52	53	52
	5.gün	62	61	60	61	61	61	62	62	63	63	62	63
	6.gün	78	79	78	79	79	79	77	76	77	77	76	77
	7.gün	84	83	82	83	83	83	82	82	82	82	82	83
51D4	1.gün	6	6	7	7	7	7	8	8	8	9	8	8
	2.gün	25	25	26	26	26	26	27	28	27	28	27	27
	3.gün	36	38	38	38	37	38	37	37	38	38	36	38
	4.gün	52	51	51	53	51	53	53	53	53	53	53	53
	5.gün	64	65	64	65	65	65	64	64	63	64	63	64
	6.gün	75	75	75	75	75	74	74	74	74	74	75	74
	7.gün	83	83	82	83	83	83	82	81	82	82	83	82

40°C		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
2 saat		D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	7	7	6	7	6	7	8	7	8	7	9
	2.gün	24	24	24	24	24	24	27	28	28	28	28	28
	3.gün	38	38	39	40	38	38	40	40	39	39	40	40
	4.gün	57	55	56	57	56	56	59	58	58	59	59	57
	5.gün	69	69	70	70	69	68	65	67	66	67	65	67
	6.gün	79	77	77	77	77	79	77	78	77	78	78	78
	7.gün	85	85	85	85	85	85	83	83	82	83	82	83
4104Z1	1.gün	7	6	7	6	7	6	7	8	7	8	8	8
	2.gün	24	25	24	25	26	25	27	27	25	25	27	27
	3.gün	37	37	39	38	38	37	38	38	39	39	37	39
	4.gün	52	52	51	52	52	51	55	54	54	54	54	54
	5.gün	63	64	63	64	62	63	63	63	63	64	63	63
	6.gün	75	75	75	76	75	76	76	75	76	75	75	75
	7.gün	82	85	82	82	83	83	83	83	82	83	82	82
52D1	1.gün	5	6	6	6	6	6	7	7	8	8	7	8
	2.gün	25	26	26	26	26	26	26	26	26	26	27	27
	3.gün	39	38	39	37	39	37	39	39	40	40	39	40
	4.gün	53	53	52	52	53	53	52	52	52	52	53	53
	5.gün	62	62	62	61	63	63	60	61	62	63	62	61
	6.gün	77	76	76	77	77	75	76	76	74	76	76	76
	7.gün	81	82	81	81	81	81	82	82	82	82	81	82
51D4	1.gün	6	7	6	6	6	7	8	7	8	8	7	8
	2.gün	25	24	24	23	24	24	27	27	27	26	27	27
	3.gün	34	36	36	35	35	34	37	38	36	36	37	38
	4.gün	51	51	51	51	51	51	54	53	53	53	54	54
	5.gün	65	65	65	65	67	66	67	68	68	68	67	68
	6.gün	75	74	75	74	75	74	75	74	75	74	75	74
	7.gün	82	82	82	82	83	82	83	83	83	83	82	82

40°C 1 saat		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	7	6	6	6	7	7	8	7	7	8	8
	2.gün	23	25	24	24	24	25	27	27	26	27	27	27
	3.gün	38	38	39	39	39	38	39	40	39	40	39	39
	4.gün	53	52	54	54	54	54	55	57	55	56	54	54
	5.gün	67	68	67	66	67	68	65	67	66	66	66	66
	6.gün	76	76	77	76	75	76	75	77	75	75	76	77
	7.gün	83	82	83	82	83	82	83	83	82	83	83	83
4104Z1	1.gün	6	6	5	6	6	6	7	8	7	7	7	8
	2.gün	24	24	24	23	25	25	26	27	26	25	25	26
	3.gün	37	37	38	38	37	37	38	38	38	38	37	37
	4.gün	51	50	50	50	50	51	53	53	52	53	53	53
	5.gün	62	62	62	62	62	62	64	64	64	64	63	63
	6.gün	74	75	75	74	74	75	74	75	74	75	74	74
	7.gün	80	80	81	78	80	81	82	82	82	82	82	82
52D1	1.gün	6	6	5	6	5	6	7	8	8	8	7	8
	2.gün	25	26	26	26	26	27	26	27	26	27	26	26
	3.gün	38	37	37	37	37	38	39	39	39	39	39	40
	4.gün	52	52	51	52	53	53	52	52	52	52	52	52
	5.gün	63	63	62	61	60	61	62	63	62	62	63	62
	6.gün	75	76	76	75	77	75	76	76	74	76	76	76
	7.gün	81	80	80	79	80	81	81	81	80	80	82	82
51D4	1.gün	7	6	6	7	7	7	8	9	8	8	8	9
	2.gün	25	25	25	25	25	25	25	27	25	26	25	27
	3.gün	35	37	36	36	35	35	36	36	36	36	37	37
	4.gün	51	52	51	51	51	51	53	53	53	53	53	54
	5.gün	65	64	64	64	63	63	64	64	63	63	64	63
	6.gün	75	74	74	74	74	74	74	75	76	75	74	75
	7.gün	80	80	80	80	80	80	81	81	80	81	80	81

35°C 4 saat		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	7	7	8	7	7	10	10	9	10	10	10
	2.gün	26	27	28	28	27	27	29	29	28	29	29	30
	3.gün	42	42	41	42	42	42	41	42	41	41	42	43
	4.gün	57	57	57	57	57	56	60	60	59	60	60	60
	5.gün	69	69	71	68	70	70	69	69	68	69	71	71
	6.gün	82	83	82	83	82	83	82	83	82	83	82	83
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
4104Z1	1.gün	6	7	6	7	6	7	9	9	9	9	8	9
	2.gün	25	25	25	25	25	26	27	28	28	27	27	28
	3.gün	42	43	41	42	42	42	42	42	42	41	40	41
	4.gün	54	54	54	53	54	54	54	55	54	55	55	54
	5.gün	65	66	65	65	65	66	64	65	65	65	64	65
	6.gün	76	75	76	76	76	76	75	76	76	76	76	76
	7.gün	80	80	80	81	80	80	81	81	80	80	80	81
52D1	1.gün	6	7	6	7	6	8	9	11	9	10	9	10
	2.gün	27	27	28	27	27	27	30	29	30	29	29	30
	3.gün	41	42	42	42	43	43	43	44	43	43	43	42
	4.gün	56	57	56	57	57	56	57	58	58	58	58	59
	5.gün	65	63	64	64	64	64	65	65	66	66	66	66
	6.gün	82	82	82	82	83	82	82	83	82	82	82	81
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
51D4	1.gün	7	7	7	7	7	7	8	9	8	9	8	8
	2.gün	27	26	27	26	26	26	29	29	29	29	28	29
	3.gün	41	42	42	42	42	42	42	41	42	43	42	43
	4.gün	55	56	55	56	56	55	55	55	55	55	56	55
	5.gün	66	66	65	67	65	67	67	65	65	65	65	65
	6.gün	76	77	76	77	76	76	76	77	75	76	76	76
	7.gün	81	81	81	82	81	82	81	82	82	80	81	82

35°C		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
3 saat													
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	7	7	7	8	7	10	11	10	11	10	11
	2.gün	27	27	26	27	27	28	29	30	28	30	29	30
	3.gün	42	43	42	43	42	41	41	42	41	42	41	42
	4.gün	60	59	59	60	59	60	60	60	59	60	60	60
	5.gün	70	68	69	69	70	70	70	70	70	70	70	71
	6.gün	83	83	82	83	82	83	82	82	82	83	82	83
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
4104Z1	1.gün	7	7	8	7	7	7	8	9	9	9	9	9
	2.gün	25	26	24	26	25	26	28	29	28	27	29	27
	3.gün	42	43	41	42	42	42	42	42	42	41	40	41
	4.gün	54	56	56	55	56	56	56	56	55	55	55	56
	5.gün	67	68	67	67	67	68	65	65	66	65	65	65
	6.gün	76	75	76	76	76	76	75	76	76	76	76	76
	7.gün	80	81	80	81	80	80	80	81	80	80	80	81
52D1	1.gün	6	7	6	6	7	7	10	10	9	11	9	10
	2.gün	26	26	27	28	26	28	29	30	29	28	29	28
	3.gün	42	42	42	42	43	43	42	43	43	42	43	43
	4.gün	56	57	56	57	56	57	59	59	58	59	58	58
	5.gün	65	66	65	65	65	65	65	65	65	65	65	66
	6.gün	81	81	81	81	81	81	82	83	82	81	82	82
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
51D4	1.gün	6	7	6	7	6	7	8	9	8	8	8	9
	2.gün	26	26	26	27	26	27	29	29	29	29	29	29
	3.gün	40	41	40	41	40	41	42	43	42	43	42	43
	4.gün	54	55	54	55	54	55	55	55	55	56	55	56
	5.gün	64	65	64	65	66	66	65	65	65	65	65	65
	6.gün	75	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76	76
	7.gün	78	79	79	80	79	80	80	78	81	78	78	80

35°C 2 saat		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	7	7	7	7	7	10	10	10	9	9	10
	2.gün	27	27	27	28	27	28	29	30	29	30	29	29
	3.gün	42	42	42	42	41	42	41	42	42	42	41	41
	4.gün	59	59	59	59	59	60	60	60	60	62	61	62
	5.gün	70	70	70	70	70	70	69	69	69	69	69	70
	6.gün	83	82	82	83	82	83	82	82	83	83	82	83
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
4104Z1	1.gün	6	7	6	6	7	7	9	9	9	9	8	9
	2.gün	24	25	26	25	26	25	29	29	29	29	28	29
	3.gün	42	43	41	42	42	43	42	42	42	42	41	42
	4.gün	54	56	54	55	54	54	54	54	54	54	55	55
	5.gün	67	68	67	67	67	68	65	66	65	65	65	65
	6.gün	76	77	76	76	76	76	75	76	76	76	76	76
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
52D1	1.gün	6	7	6	7	6	7	9	11	9	11	10	9
	2.gün	27	29	28	28	28	29	29	30	29	30	29	30
	3.gün	42	43	43	42	43	43	43	44	42	44	43	44
	4.gün	56	57	56	57	56	57	60	59	59	60	59	60
	5.gün	64	65	65	65	65	65	66	66	65	65	65	66
	6.gün	82	82	82	83	82	83	82	83	82	84	83	84
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
51D4	1.gün	6	7	6	7	6	7	8	9	8	9	8	9
	2.gün	27	26	27	26	27	27	28	29	29	28	28	28
	3.gün	41	42	41	40	40	42	39	40	40	41	40	40
	4.gün	53	54	53	54	53	54	53	54	53	53	52	52
	5.gün	65	65	66	66	66	66	66	67	66	67	67	67
	6.gün	76	75	75	77	76	76	75	77	75	77	76	77
	7.gün	81	82	81	82	81	82	81	82	81	81	81	81

35°C 1 saat		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	8	7	7	8	7	10	9	10	9	9	9
	2.gün	27	28	27	28	27	28	29	30	29	30	29	30
	3.gün	43	43	42	43	42	43	41	42	42	42	41	41
	4.gün	59	59	59	59	59	60	60	60	59	60	60	60
	5.gün	69	70	69	70	69	70	69	70	69	70	69	70
	6.gün	83	83	82	83	82	83	82	83	83	83	82	83
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
4104Z1	1.gün	6	7	6	6	7	7	9	9	9	9	8	9
	2.gün	24	25	26	25	26	25	29	29	29	29	28	29
	3.gün	42	43	41	42	42	43	42	42	42	42	41	42
	4.gün	54	56	54	55	54	54	54	54	54	54	55	55
	5.gün	67	67	66	67	67	66	65	66	65	65	65	65
	6.gün	76	77	76	76	76	76	75	76	75	76	75	75
	7.gün	82	83	82	83	82	82	82	83	82	83	82	82
52D1	1.gün	6	6	7	7	6	6	10	10	9	11	10	10
	2.gün	26	26	26	27	26	26	29	29	29	29	28	29
	3.gün	41	41	41	42	42	42	42	42	43	43	42	43
	4.gün	56	57	56	57	56	57	58	59	60	59	60	59
	5.gün	64	65	64	65	65	65	65	66	66	65	65	67
	6.gün	81	82	81	83	82	83	83	83	83	84	83	84
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
51D4	1.gün	6	7	6	7	6	7	9	9	8	8	8	9
	2.gün	26	26	26	27	26	27	29	29	29	30	28	29
	3.gün	41	41	40	40	41	41	39	41	39	40	40	40
	4.gün	56	56	56	56	52	53	53	54	53	54	55	56
	5.gün	64	65	64	65	65	66	65	66	65	65	65	65
	6.gün	76	75	75	77	76	76	75	75	75	75	75	76
	7.gün	82	82	81	82	81	82	82	82	81	81	81	81

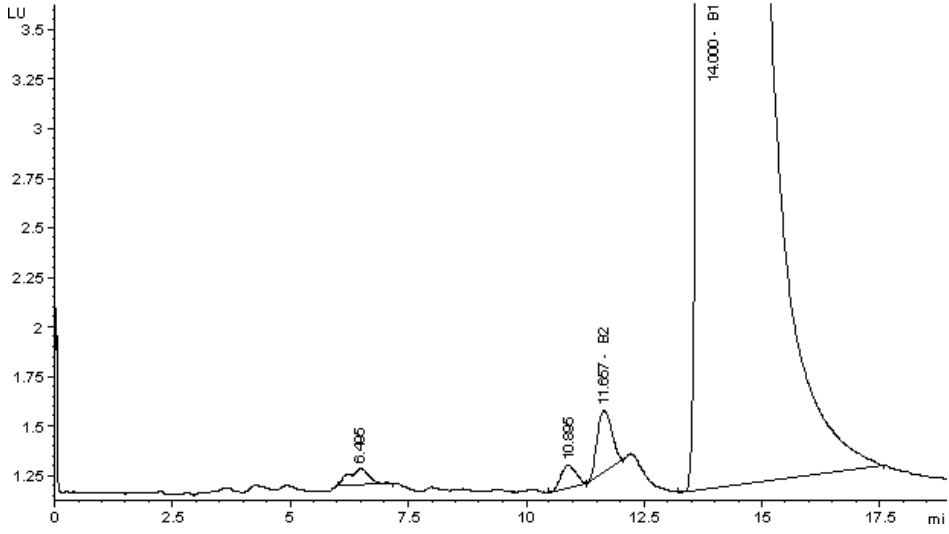
30°C		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
4 saat		D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	7	8	7	7	7	10	10	9	9	9	10
	2.gün	27	26	27	27	26	27	29	29	29	29	29	29
	3.gün	43	42	43	42	42	42	40	41	43	41	41	43
	4.gün	58	59	60	58	58	59	58	59	59	60	58	60
	5.gün	69	68	69	69	68	68	70	70	70	70	70	69
	6.gün	82	81	81	81	81	82	81	81	80	81	81	81
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
4104Z1	1.gün	7	7	7	7	7	7	8	9	9	9	8	9
	2.gün	24	25	24	25	24	25	27	28	27	28	27	28
	3.gün	43	43	43	42	42	42	41	40	41	41	41	41
	4.gün	56	54	56	55	54	54	55	54	54	54	55	54
	5.gün	67	68	67	67	67	68	65	65	66	65	65	65
	6.gün	76	76	76	76	76	76	77	75	77	75	77	75
	7.gün	80	80	80	80	80	80	81	81	81	80	80	81
52D1	1.gün	6	7	7	6	7	6	10	10	10	10	11	10
	2.gün	26	27	27	27	27	26	29	29	29	29	29	29
	3.gün	41	41	41	42	41	42	43	43	43	43	43	43
	4.gün	54	54	55	54	54	54	58	61	59	61	58	60
	5.gün	63	62	63	63	63	63	67	66	66	67	66	67
	6.gün	82	82	81	82	80	82	82	83	82	84	82	84
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
51D4	1.gün	6	7	6	7	6	7	8	9	8	9	8	9
	2.gün	26	26	27	26	26	27	28	29	29	29	28	29
	3.gün	41	43	41	43	42	43	42	41	42	42	42	42
	4.gün	56	57	56	56	56	57	55	54	54	54	55	54
	5.gün	64	64	65	65	65	66	65	65	65	66	65	65
	6.gün	76	77	77	77	76	77	76	75	76	75	76	76
	7.gün	79	79	79	79	79	79	80	81	81	80	79	79

30°C		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
3 saat													
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	7	8	7	7	7	9	10	9	9	10	10
	2.gün	24	24	24	24	23	23	26	27	26	26	26	27
	3.gün	43	43	42	43	41	42	40	40	40	40	40	40
	4.gün	58	58	59	59	59	60	60	62	59	61	59	62
	5.gün	69	70	71	70	70	70	69	69	70	69	69	70
	6.gün	83	82	83	83	82	83	83	83	82	83	82	83
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
4104Z1	1.gün	7	7	6	7	6	8	9	8	8	9	8	9
	2.gün	24	26	25	26	24	26	29	28	29	28	29	28
	3.gün	42	43	43	42	42	42	41	40	41	40	40	40
	4.gün	55	55	55	55	54	55	55	55	54	55	54	54
	5.gün	65	65	65	65	66	66	65	66	66	65	65	65
	6.gün	77	77	77	77	77	77	77	77	76	75	76	75
	7.gün	80	81	80	80	80	80	80	80	81	80	80	82
52D1	1.gün	6	6	6	6	6	6	9	9	9	10	9	10
	2.gün	26	27	26	27	27	27	29	29	28	29	29	29
	3.gün	41	42	41	42	40	42	43	43	42	44	42	44
	4.gün	56	55	54	55	54	55	59	59	59	59	60	59
	5.gün	64	62	64	62	64	62	66	66	66	66	66	66
	6.gün	80	81	80	82	80	81	84	84	82	84	83	85
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
51D4	1.gün	7	7	6	6	6	7	9	9	8	9	9	9
	2.gün	25	25	26	27	25	27	29	29	29	28	28	28
	3.gün	42	42	41	42	42	42	42	40	41	40	40	40
	4.gün	55	54	54	54	53	54	55	54	54	55	55	55
	5.gün	66	67	66	67	66	66	65	65	65	66	65	66
	6.gün	76	77	76	77	76	76	75	75	75	75	75	75
	7.gün	83	83	83	83	83	84	84	83	84	85	84	85

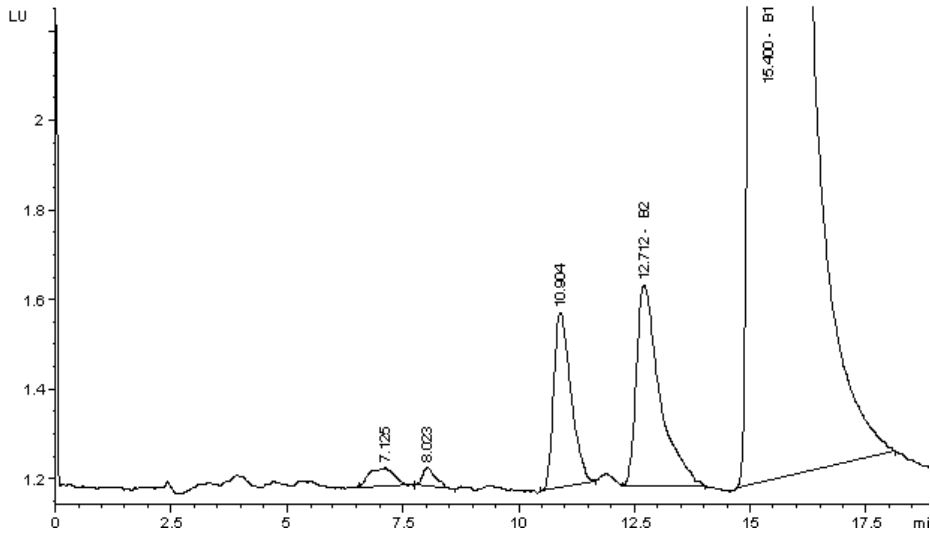
30°C		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
2 saat													
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	7	7	7	7	7	9	10	9	10	9	9
	2.gün	27	27	26	27	27	27	29	29	29	29	28	29
	3.gün	43	45	42	43	42	44	42	41	42	42	42	40
	4.gün	59	59	59	59	59	60	60	60	60	60	60	59
	5.gün	72	72	71	72	70	72	70	69	70	70	70	70
	6.gün	82	82	82	83	83	82	85	85	84	84	84	84
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
4104Z1	1.gün	7	7	6	7	6	8	9	8	8	9	8	9
	2.gün	25	26	26	25	25	26	27	28	27	28	27	28
	3.gün	42	42	42	42	42	42	41	40	41	40	40	40
	4.gün	55	55	55	55	54	55	55	55	54	55	54	54
	5.gün	65	65	65	65	65	66	67	67	66	67	67	67
	6.gün	77	77	77	77	77	77	77	77	76	77	76	77
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
52D1	1.gün	6	7	6	6	6	7	10	9	9	9	8	9
	2.gün	26	26	25	27	26	28	28	28	27	29	28	28
	3.gün	41	41	41	42	43	43	43	43	43	44	43	43
	4.gün	56	57	56	55	56	56	59	59	59	58	58	57
	5.gün	64	62	64	62	64	62	66	66	66	66	66	66
	6.gün	81	81	82	82	82	81	82	84	83	84	84	84
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
51D4	1.gün	7	7	7	7	7	8	8	9	8	8	8	8
	2.gün	27	26	26	27	27	27	28	27	27	29	28	29
	3.gün	41	42	41	42	40	42	39	40	39	40	40	40
	4.gün	55	55	57	55	56	55	54	54	54	54	54	54
	5.gün	64	66	66	66	65	66	65	66	65	66	65	66
	6.gün	76	77	76	77	76	77	75	75	76	75	76	76
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85

30°C 1 saat		Petri No:1		Petri No:2		Petri No:3		Petri No:4		Petri No:5		Petri No:6	
Küf	Gün	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2	D1	D2
6Z2	1.gün	7	8	8	7	7	7	10	9	9	10	10	10
	2.gün	26	27	26	26	26	27	29	28	28	29	29	29
	3.gün	43	43	42	43	42	43	43	43	43	44	43	44
	4.gün	59	60	59	59	60	59	60	60	60	61	59	60
	5.gün	69	69	70	69	69	70	69	69	69	70	70	69
	6.gün	80	82	82	82	82	82	83	83	83	83	83	83
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
4104Z1	1.gün	6	7	6	6	6	7	9	8	8	9	9	9
	2.gün	25	25	26	25	25	26	28	28	28	28	28	28
	3.gün	44	42	44	42	44	42	41	40	41	40	41	40
	4.gün	55	55	55	55	54	55	54	54	54	55	54	54
	5.gün	64	65	64	65	65	65	66	66	66	66	67	65
	6.gün	76	77	76	77	76	77	75	76	76	76	76	76
	7.gün	83	83	84	83	83	83	82	84	83	85	84	85
52D1	1.gün	6	6	6	6	6	6	9	10	9	9	9	10
	2.gün	27	28	27	27	27	27	30	30	29	30	30	30
	3.gün	41	41	41	40	41	41	43	44	43	44	43	44
	4.gün	57	57	56	57	57	57	58	58	58	58	59	58
	5.gün	64	63	64	63	63	64	66	65	65	65	66	66
	6.gün	81	81	81	81	81	81	84	83	83	83	83	84
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85
51D4	1.gün	7	8	7	7	7	8	8	9	8	9	8	8
	2.gün	26	26	25	26	25	27	28	29	28	29	28	29
	3.gün	41	42	41	40	40	42	39	40	40	41	40	40
	4.gün	56	55	57	55	56	55	54	54	53	54	53	54
	5.gün	64	66	66	66	65	66	65	66	65	66	65	66
	6.gün	76	77	76	77	76	78	76	75	76	75	76	76
	7.gün	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85	85

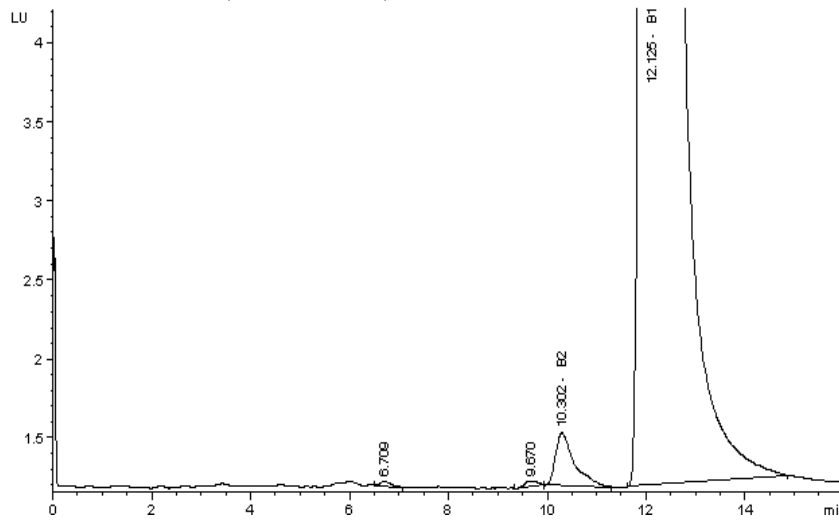
EK B: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Metodu Sonuç Kromatogramları



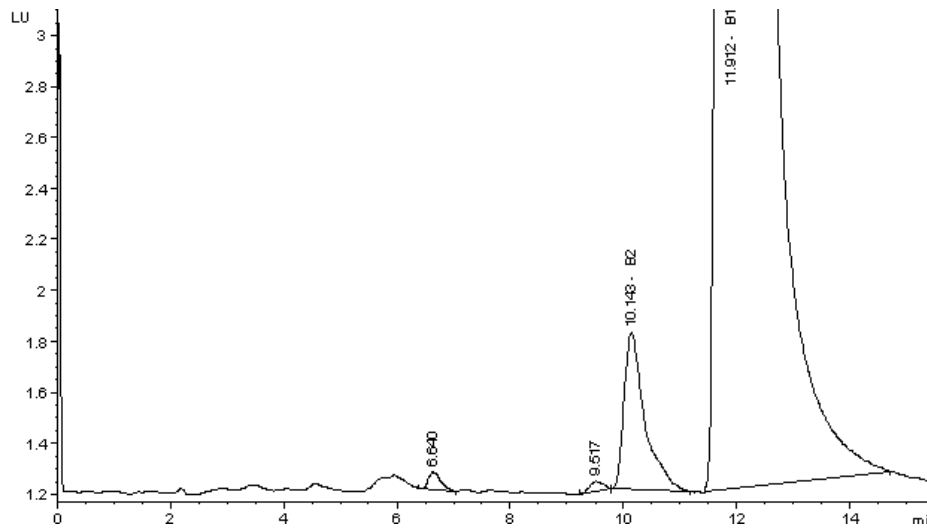
Şekil B.1: 25°C’de *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



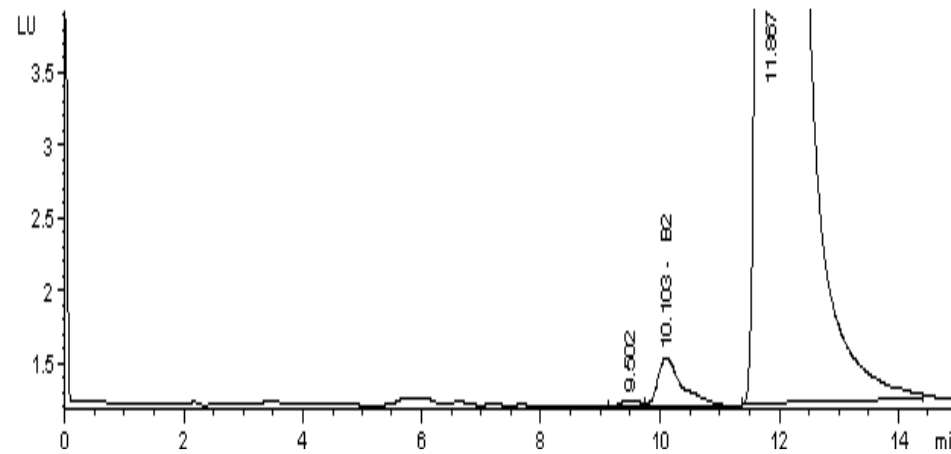
Şekil B.2: 30°C’de 1 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



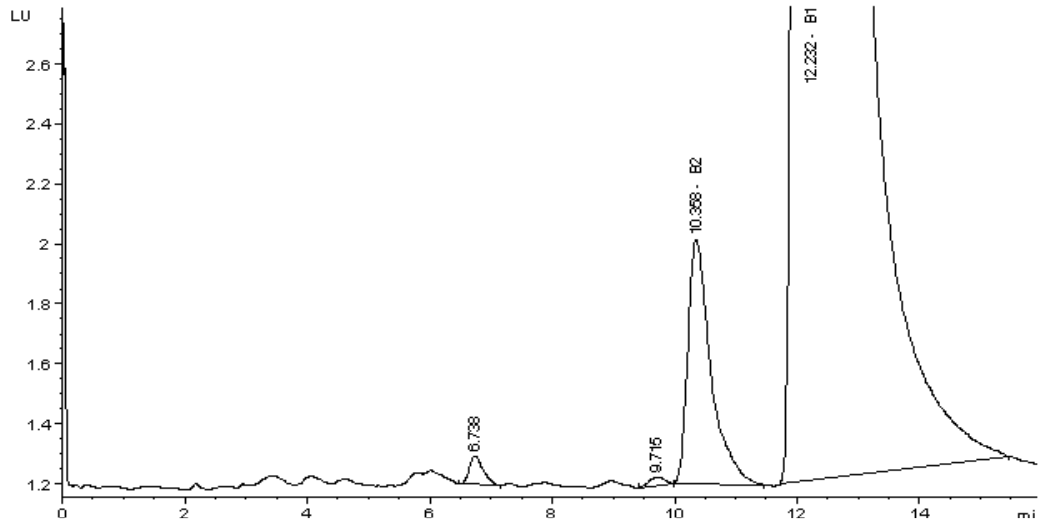
Şekil B.3: 30°C’de 2 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



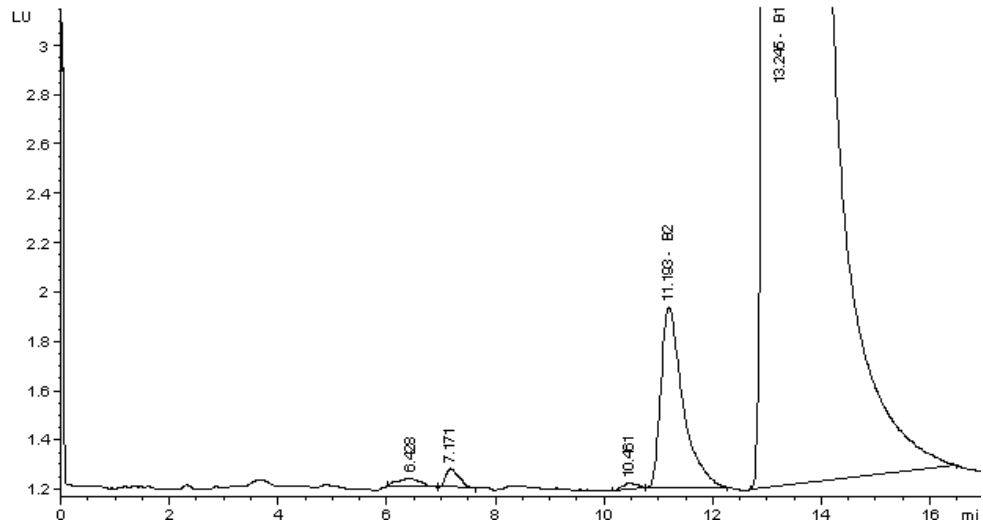
Şekil B.4: 30°C’de 3 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



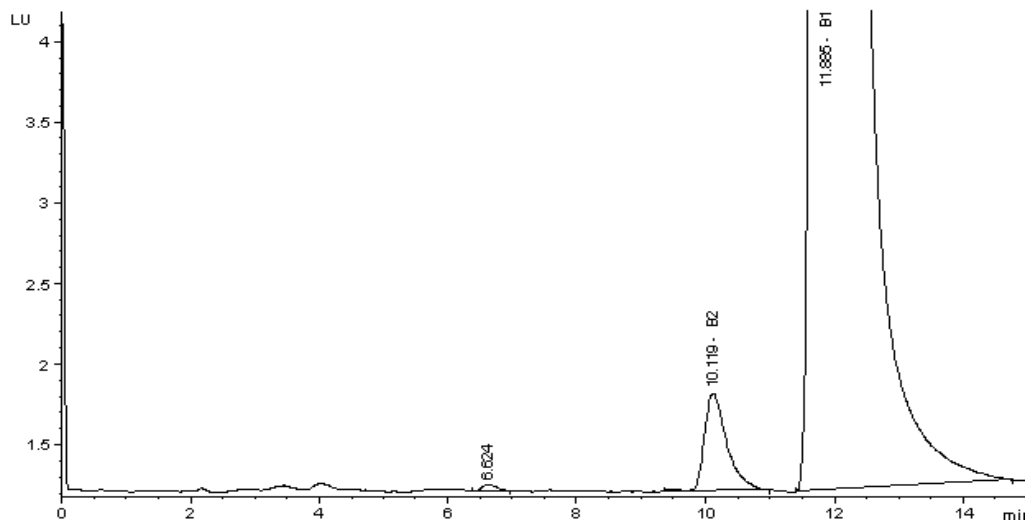
Şekil B.5: 30°C’de 4 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



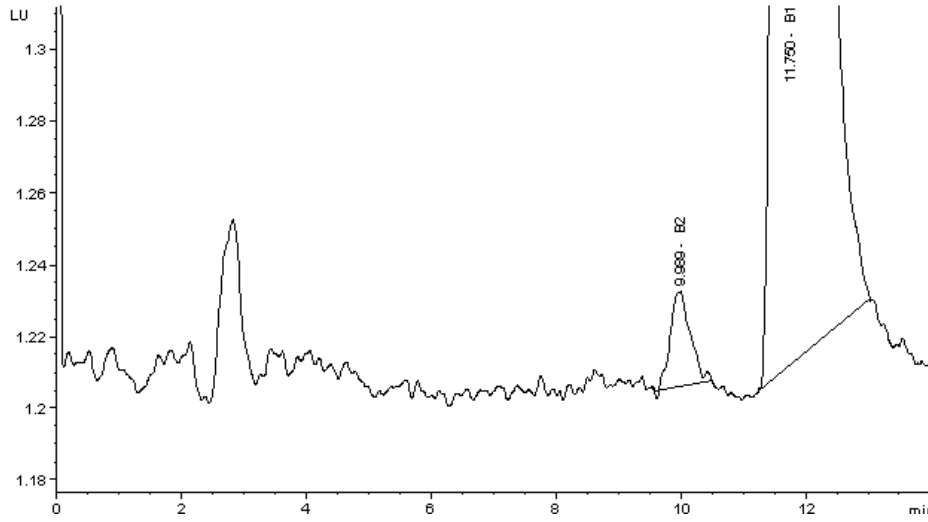
Şekil B.6 : 35°C’de 1 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



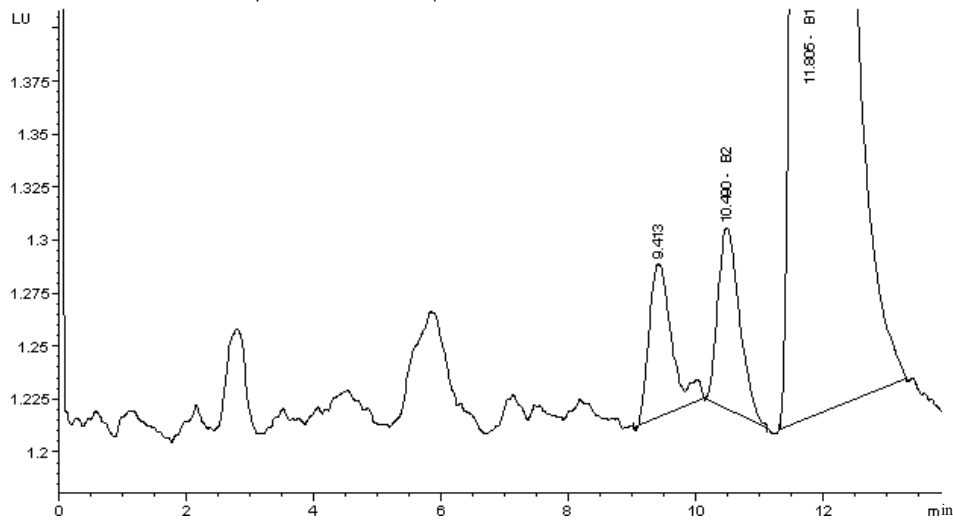
Şekil B.7 : 35°C’de 2 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



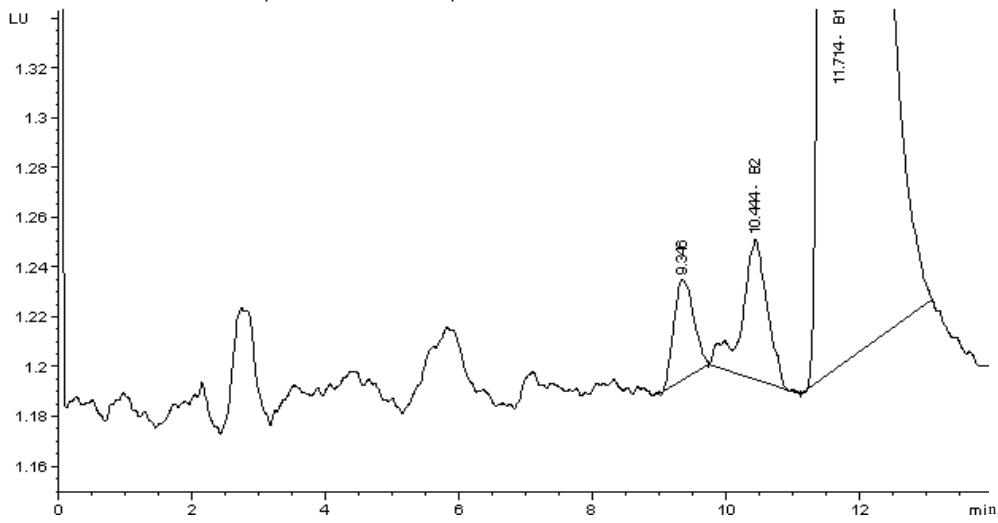
Şekil B.8 : 35°C’de 3 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



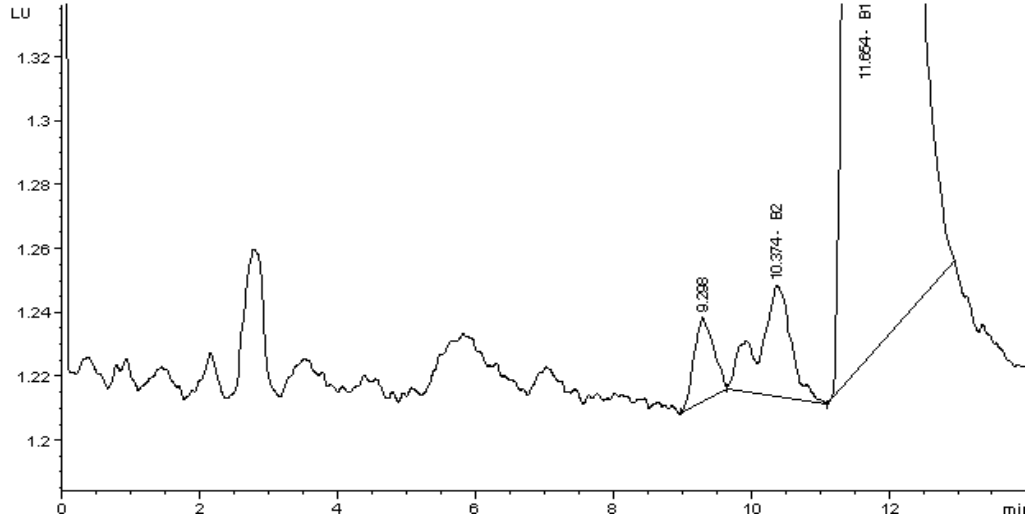
Şekil B.9: 35°C’de 4 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



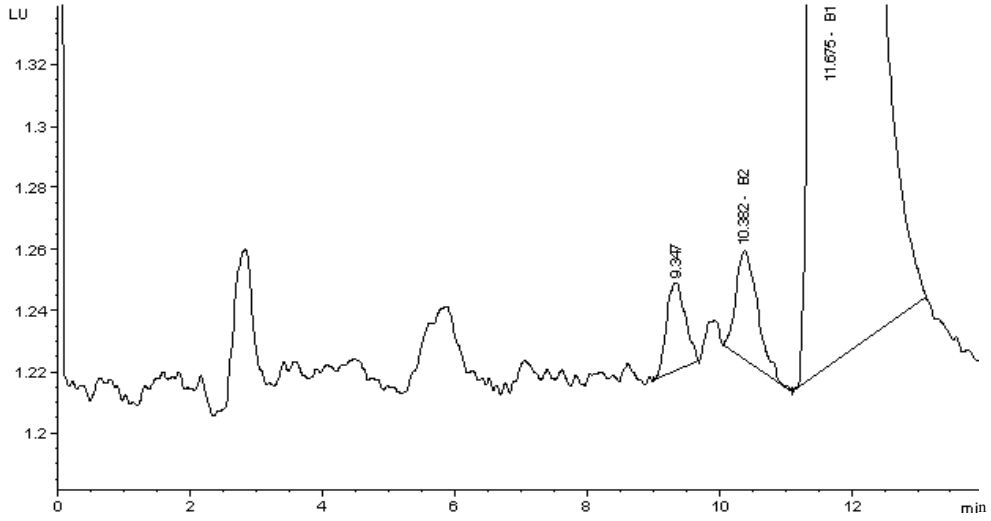
Şekil B.10: 40°C’de 1 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



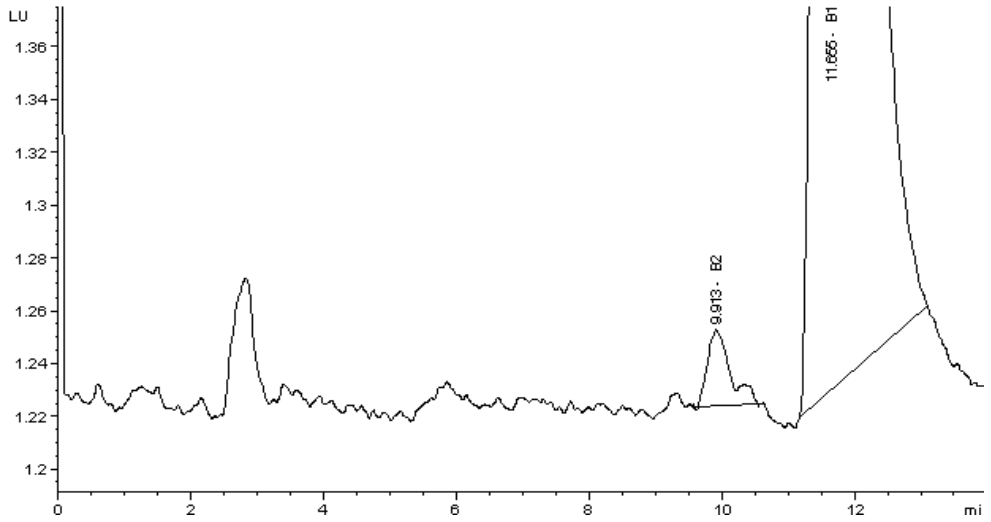
Şekil B.11: 40°C’de 2 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



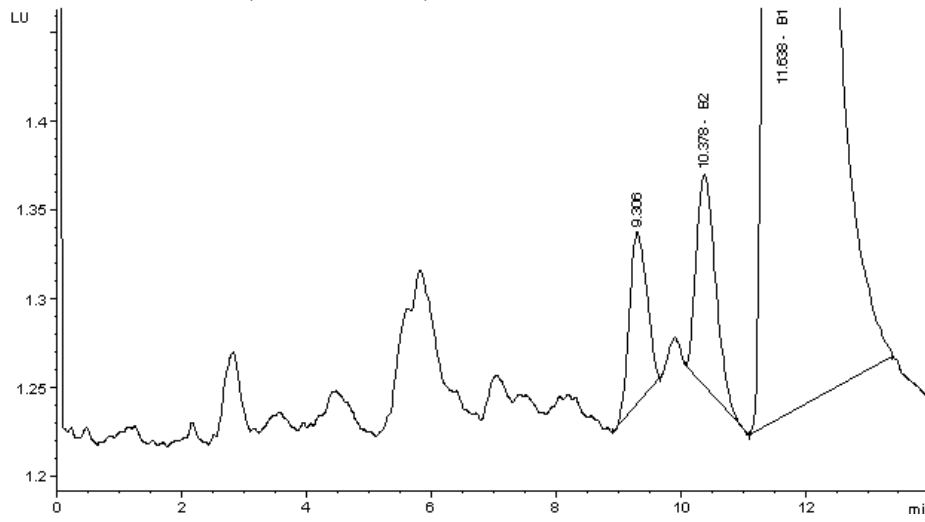
Şekil B.12: 40°C’de 3 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



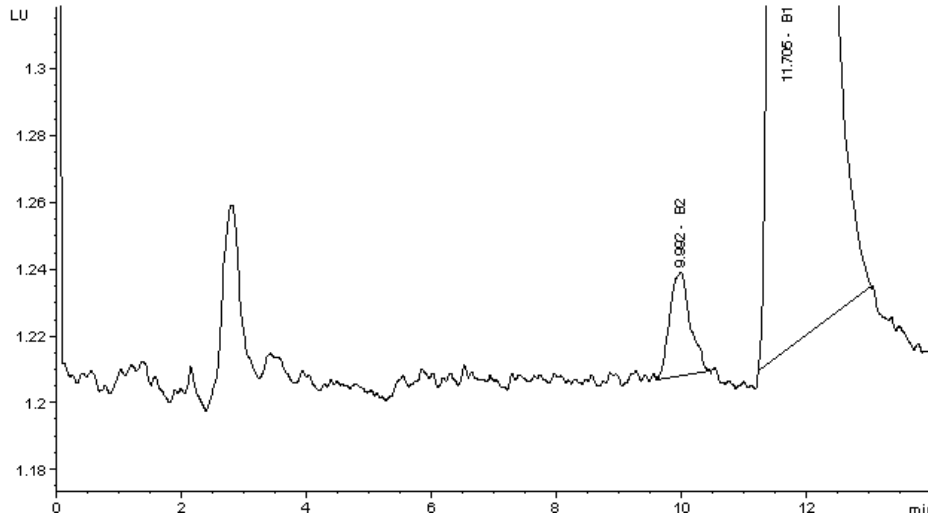
Şekil B.13: 40°C’de 4 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



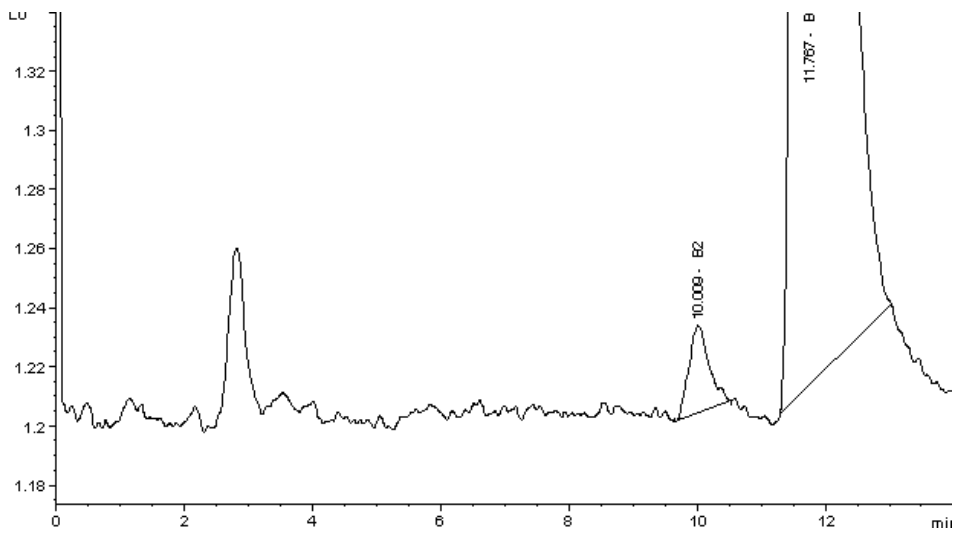
Şekil B.14: 45°C’de 1 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



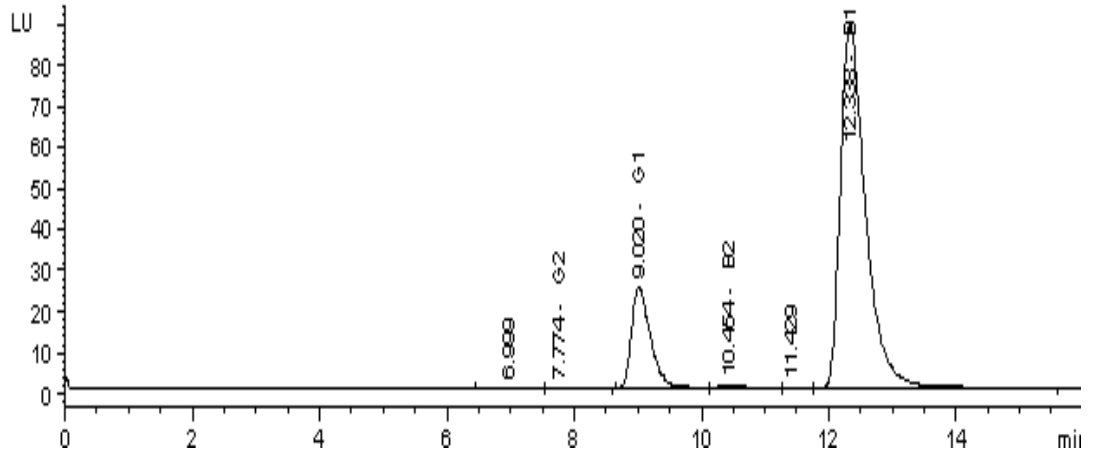
Şekil B.15: 45°C’de 2 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



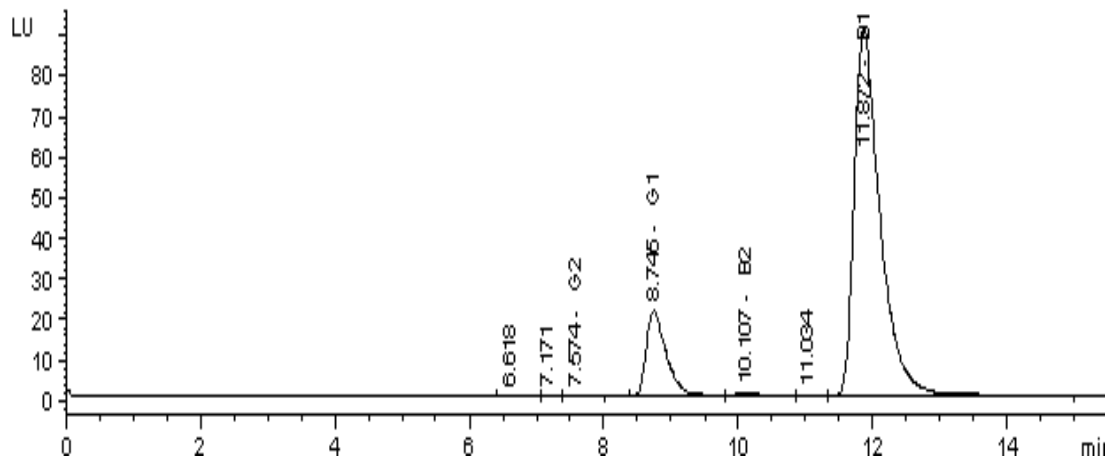
Şekil B.16: 45°C’de 3 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



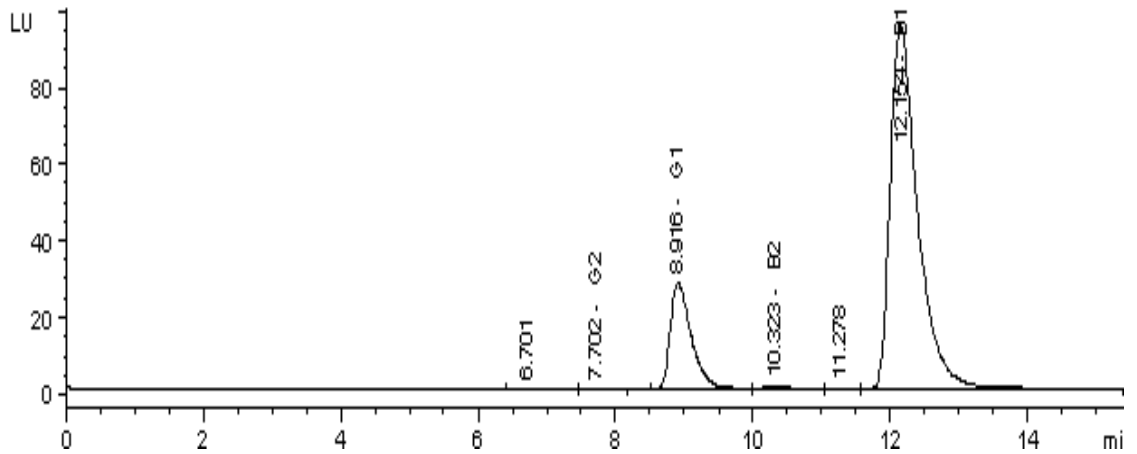
Şekil B.17: 45°C’de 4 saat bekletilen *A. flavus* 6Z2 izolatının HPLC kromatogramı



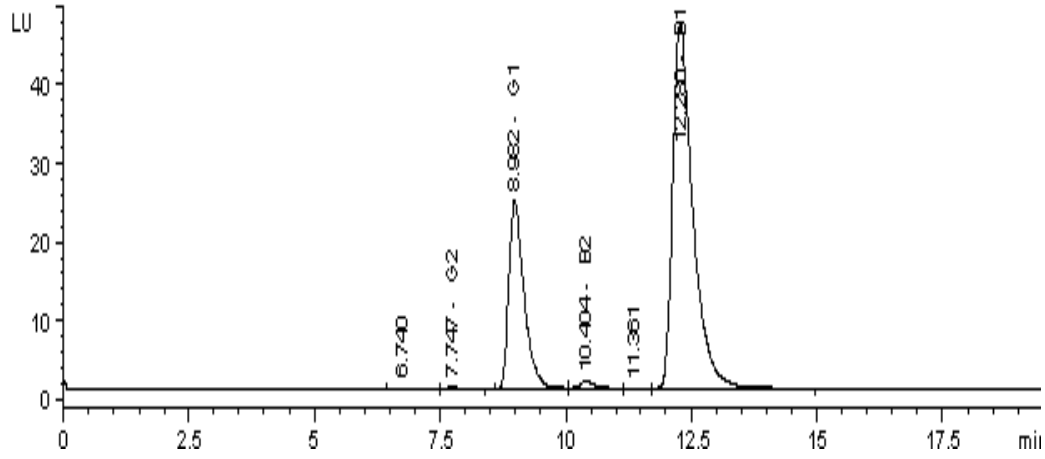
Şekil B.18: 25°C’de *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



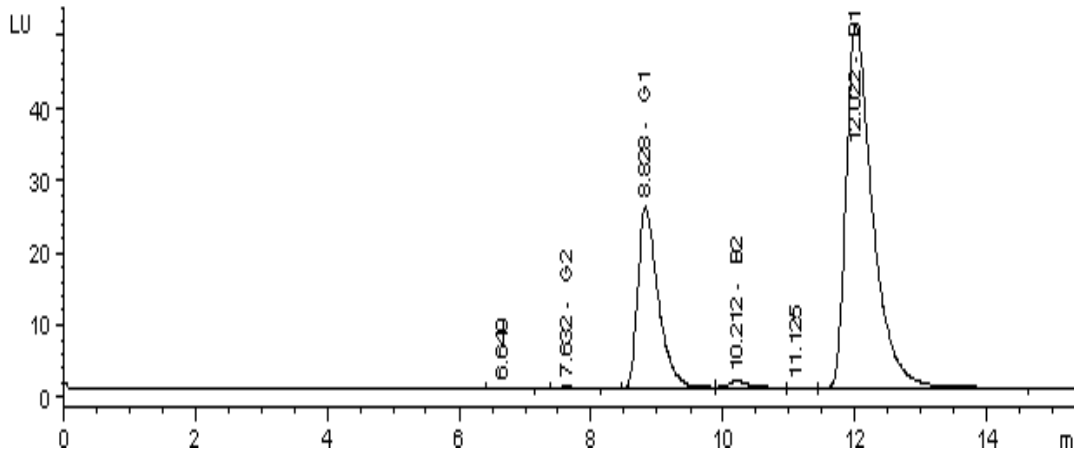
Şekil B.19: 30°C’de 1 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



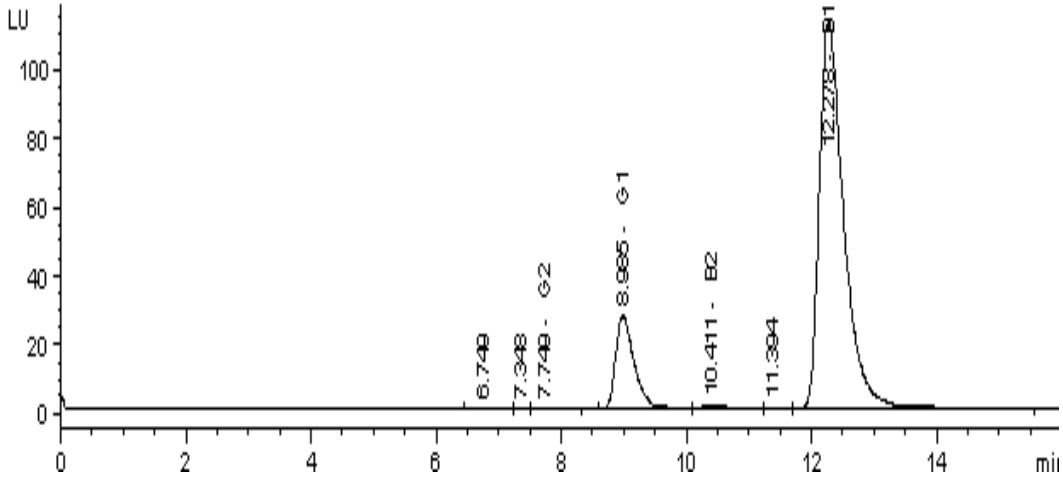
Şekil B.20: 30°C’de 2 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



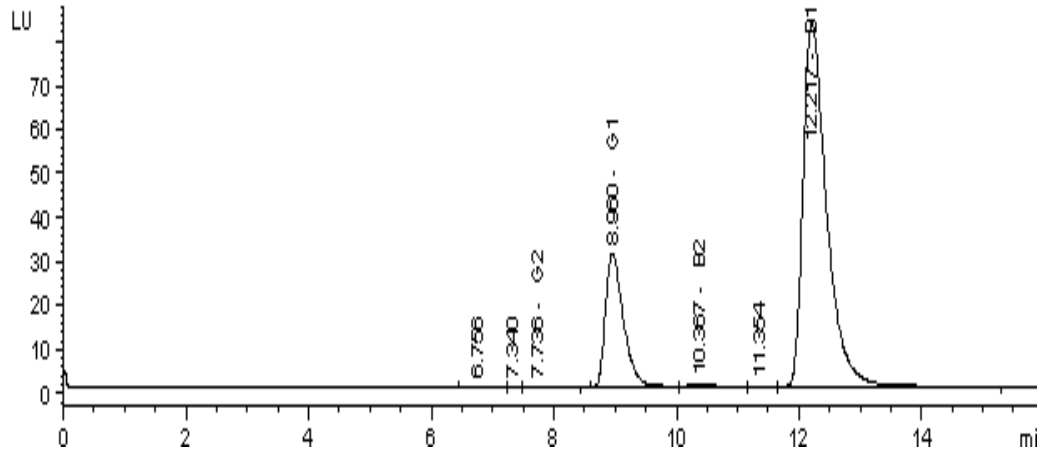
Şekil B.21: 30°C’de 3 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



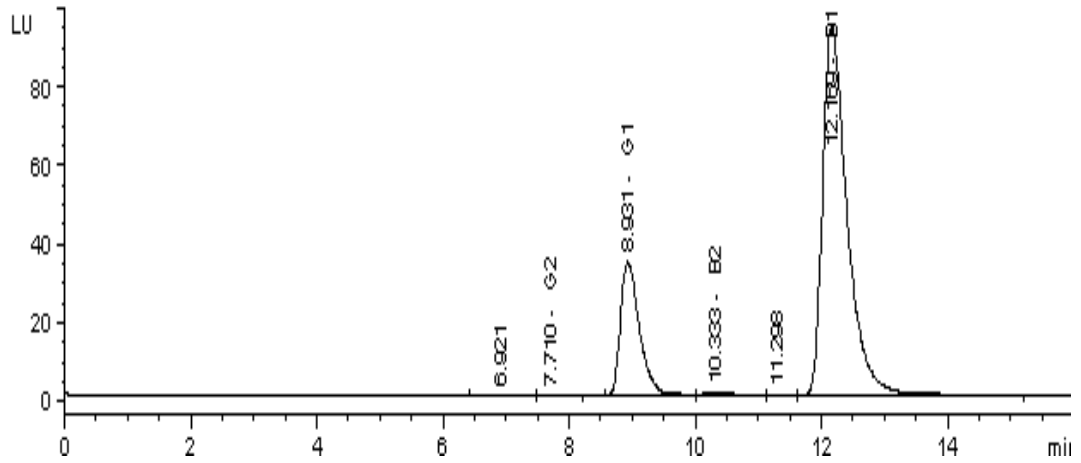
Şekil B.22: 30°C’de 4 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



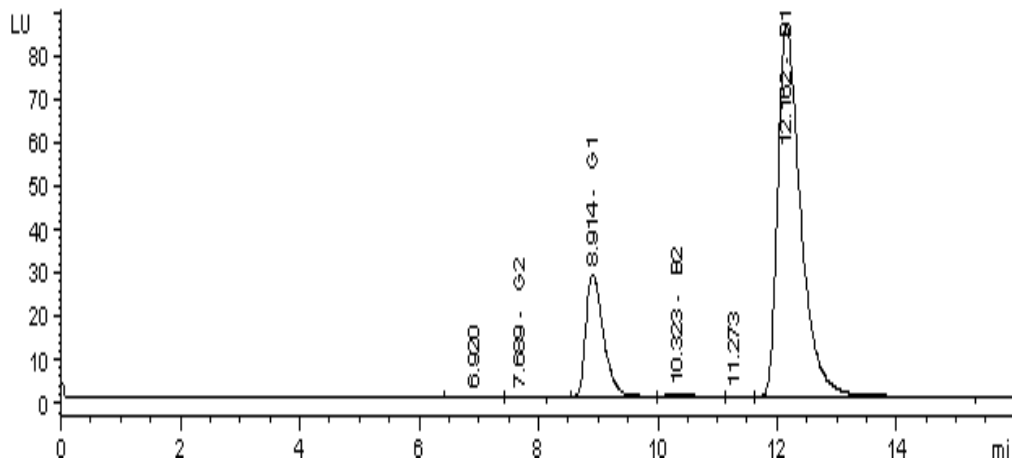
Şekil B.23: 35°C’de 1 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



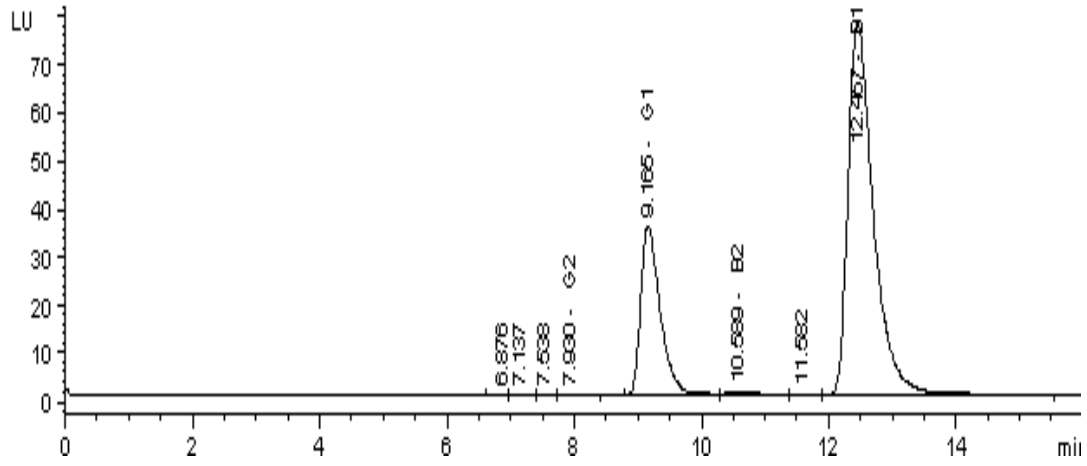
Şekil B.24: 35°C’de 2 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



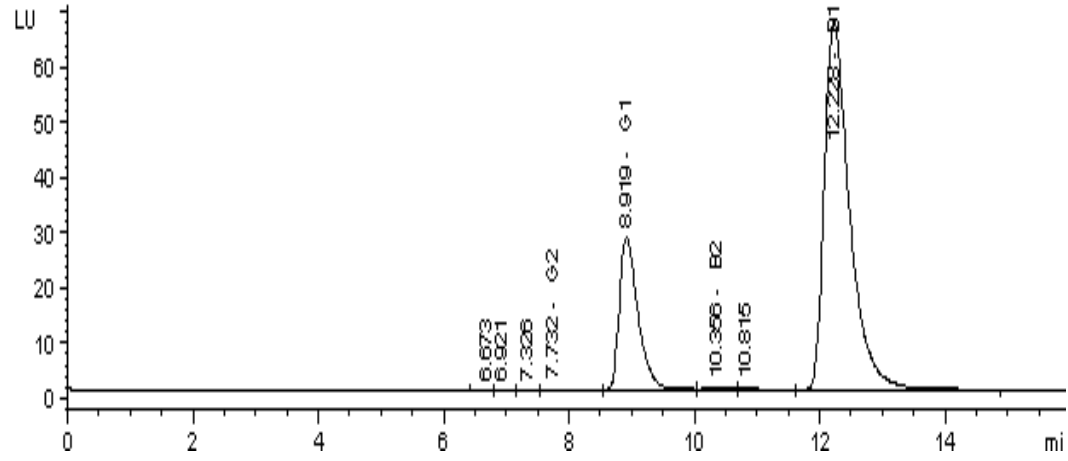
Şekil B.25: 35°C’de 3 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



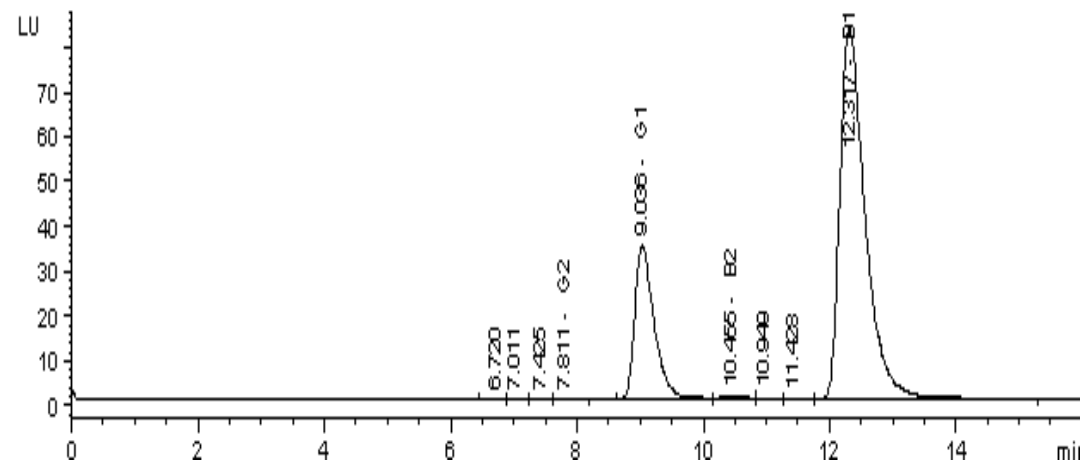
Şekil B.26: 35°C’de 4 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



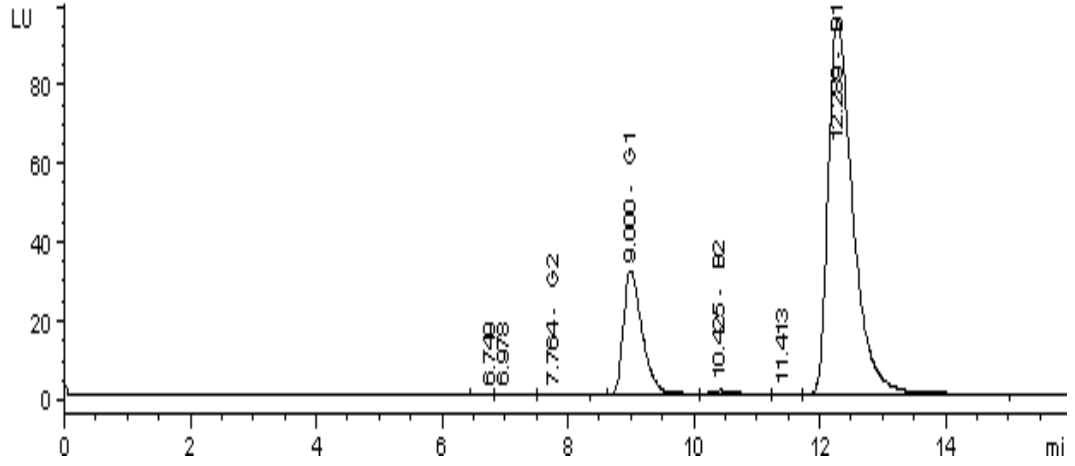
Şekil B.27: 40°C’de 1 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



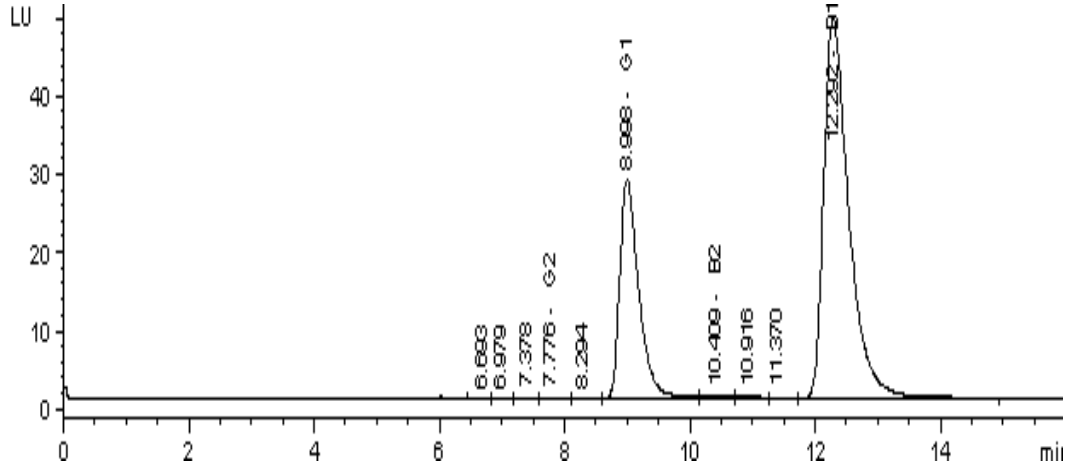
Şekil B.28: 40°C’de 2 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



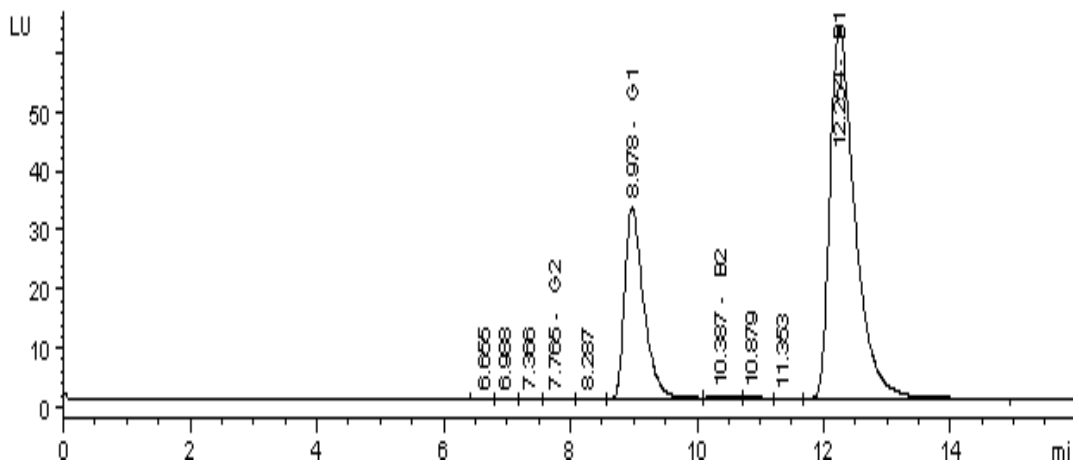
Şekil B.29: 40°C’de 3 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



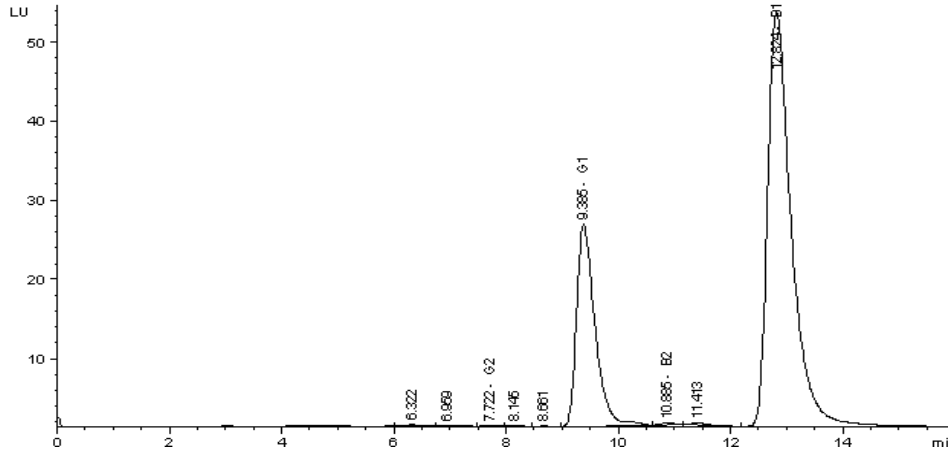
Şekil B.30: 40°C’de 4 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



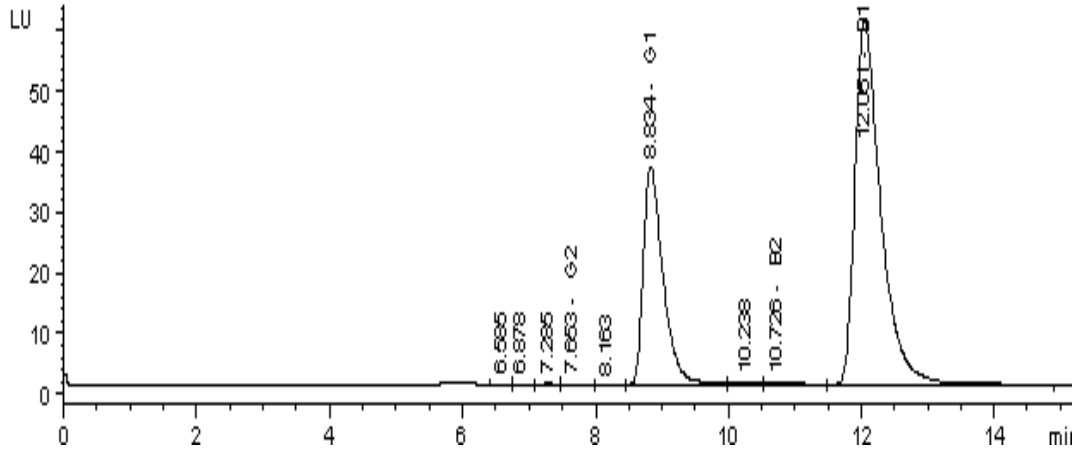
Şekil B.31: 45°C’de 1 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



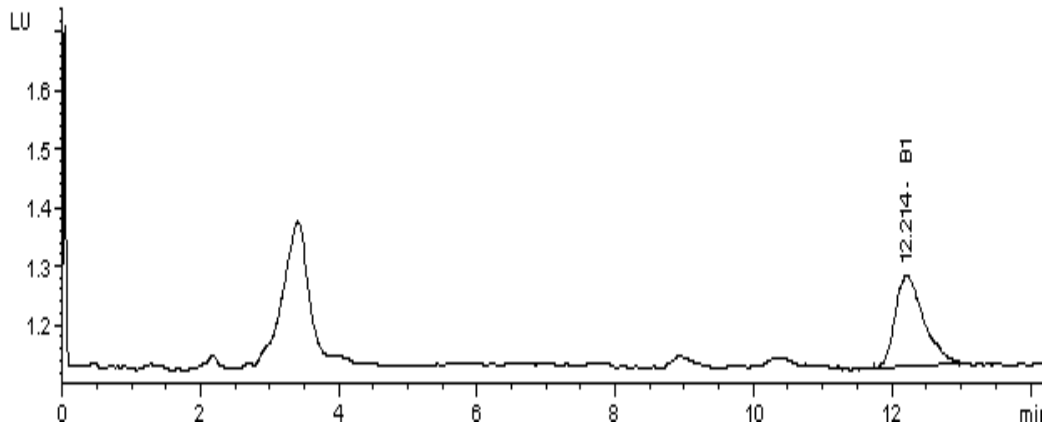
Şekil B.32: 45°C’de 2 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



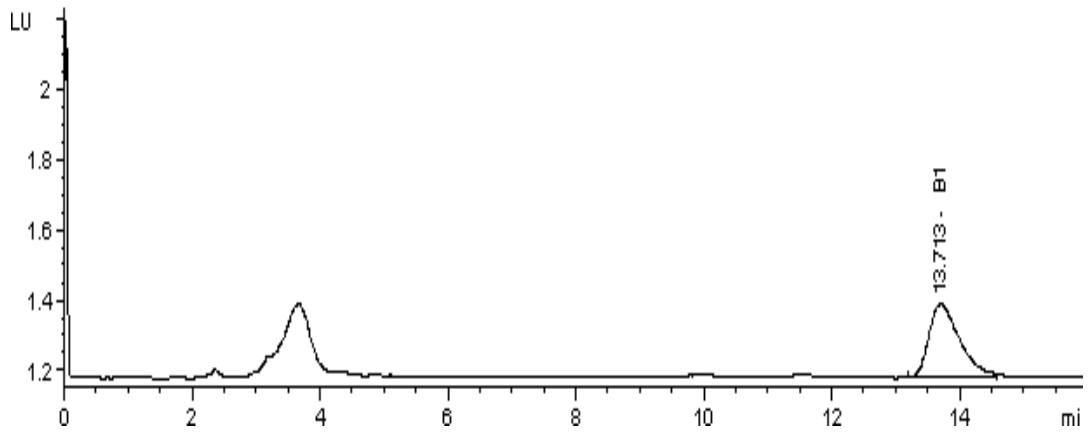
Şekil B.33: 45°C’de 3 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



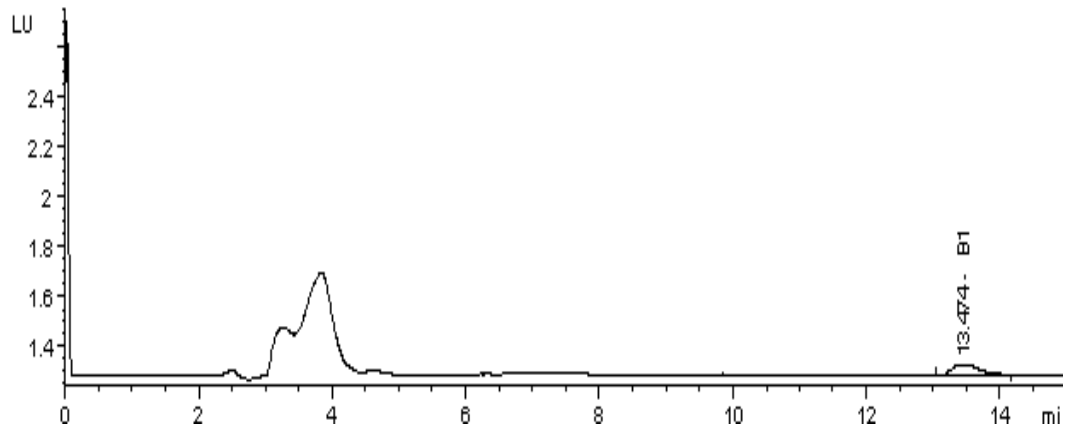
Şekil B.34: 45°C’de 4 saat bekletilen *A. parasiticus* 52D1 izolatının HPLC kromatogramı



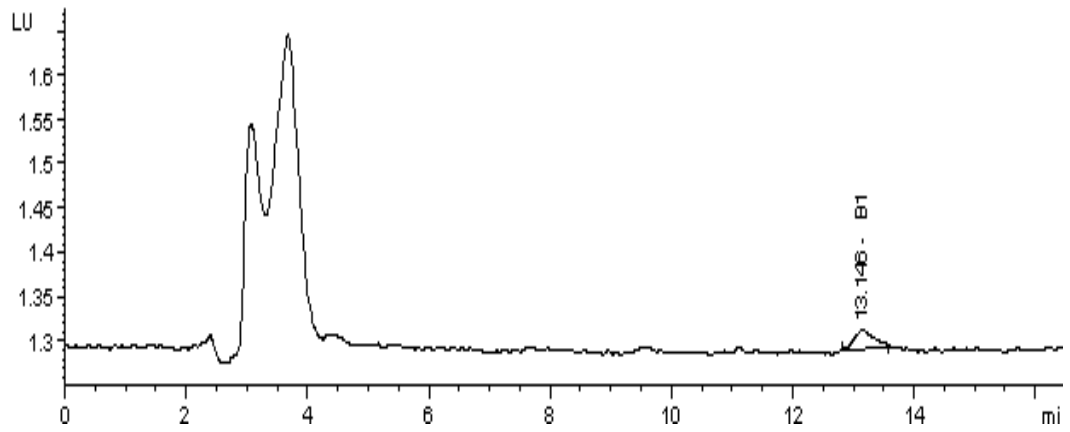
Şekil B.35: 25°C’de *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



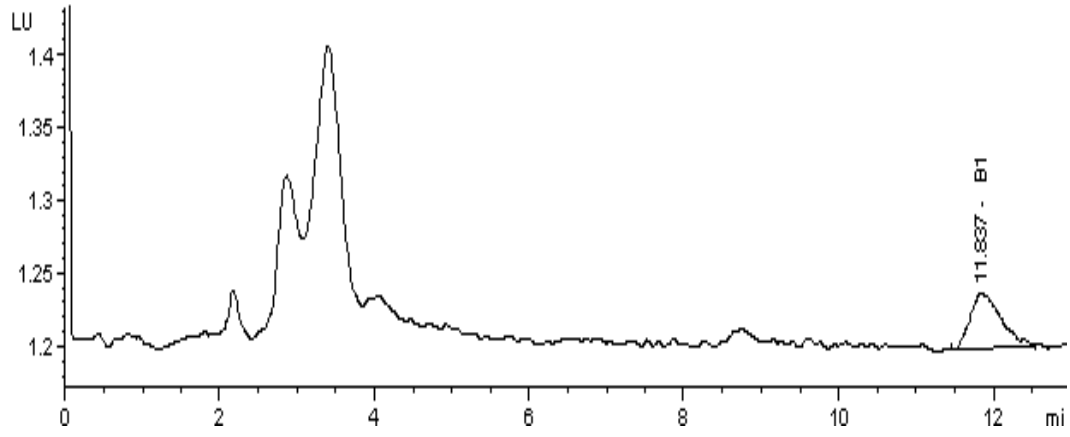
Şekil B.36: 30°C’de 1 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



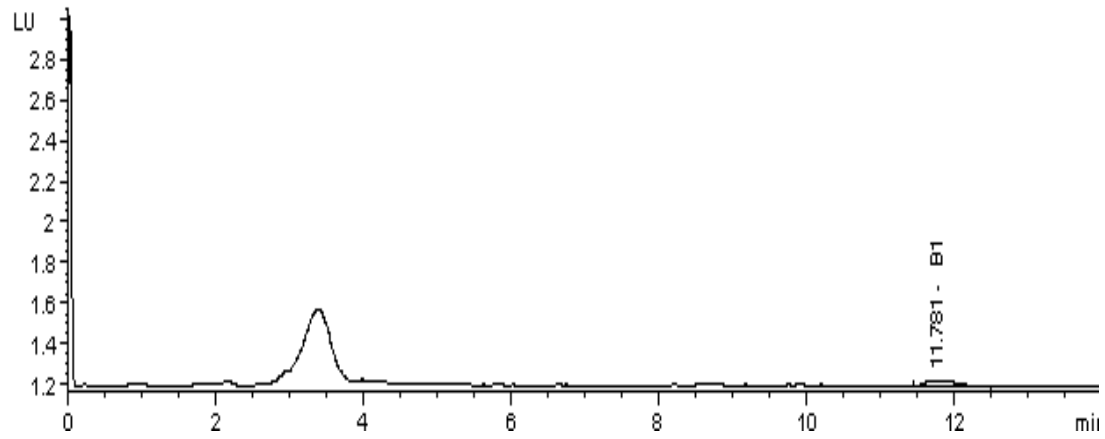
Şekil B.37: 30°C’de 2 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



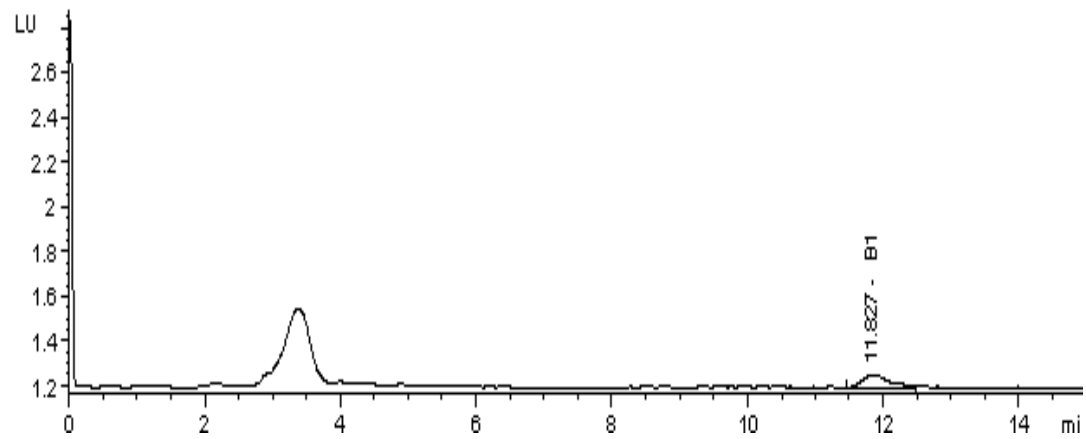
Şekil B.38: 30°C’de 3 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



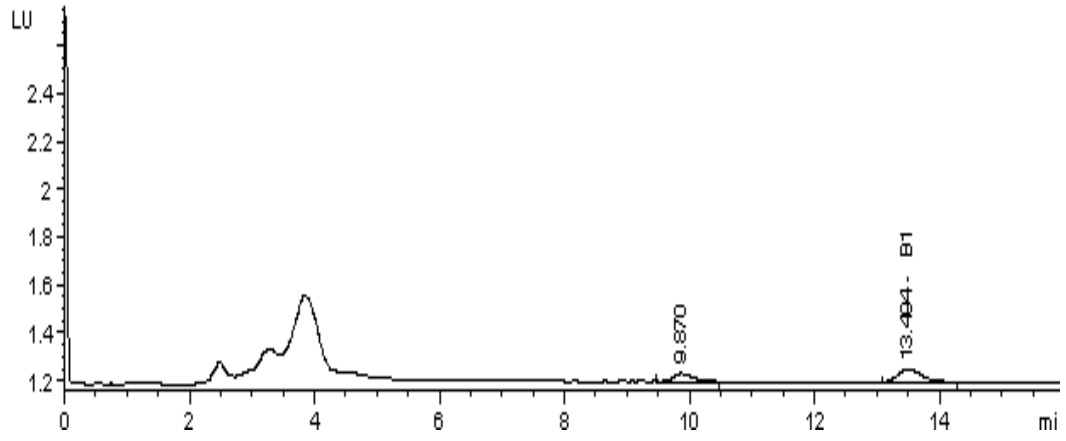
Şekil B.39: 30°C’de 4 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



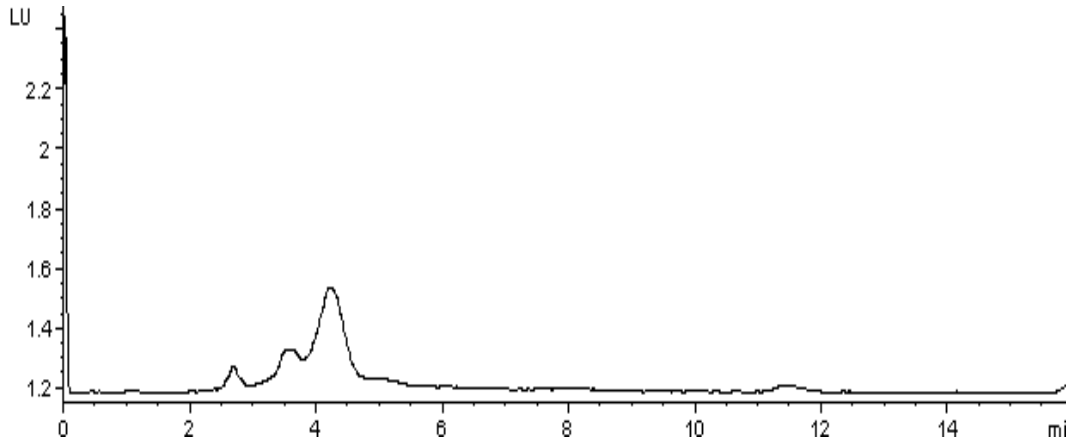
Şekil B.40: 35°C’de 1 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



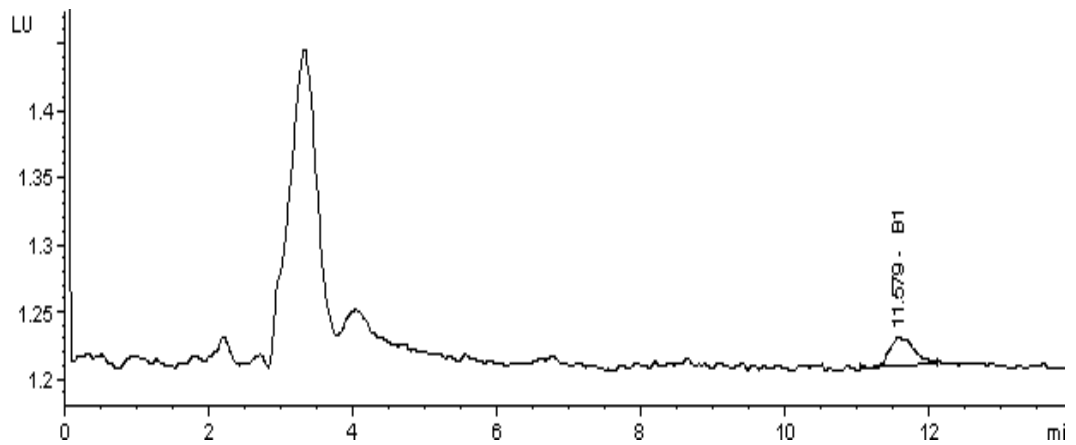
Şekil B.41: 35°C’de 2 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



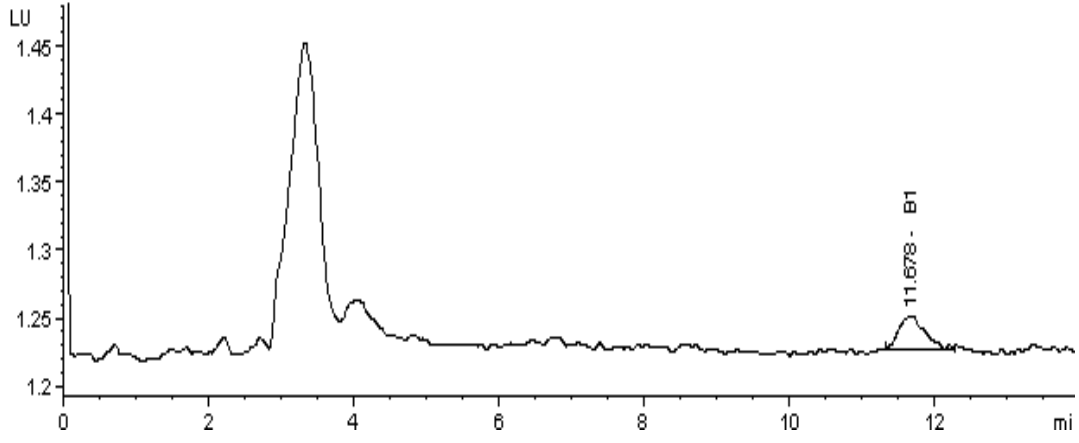
Şekil B.42: 35°C’de 3 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



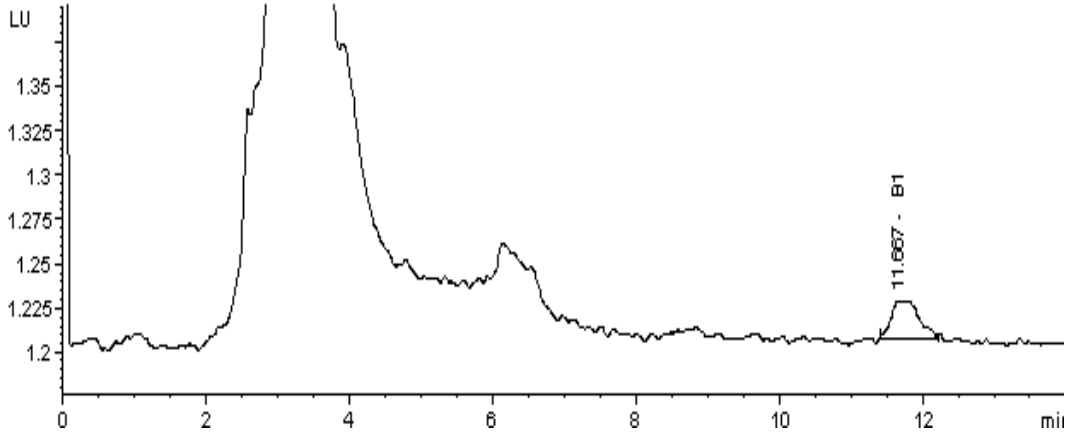
Şekil B.43: 35°C’de 4 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



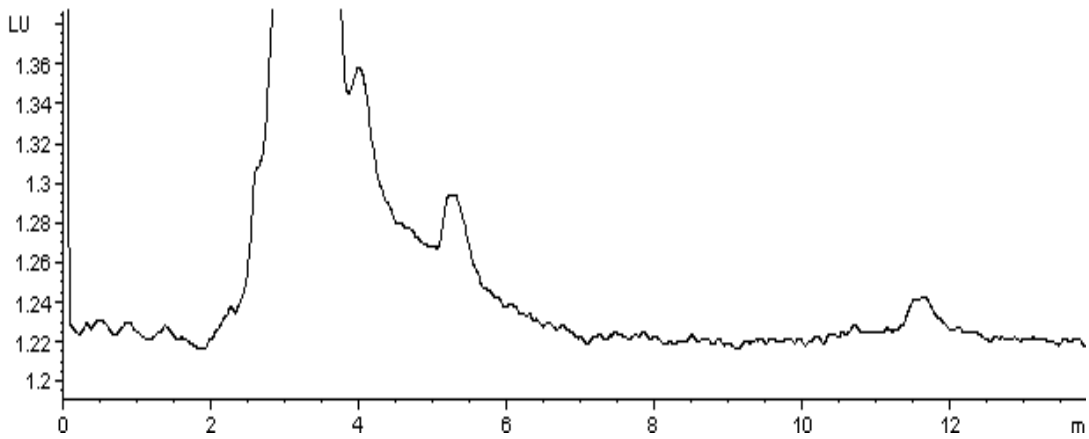
Şekil B.44: 40°C’de 1 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



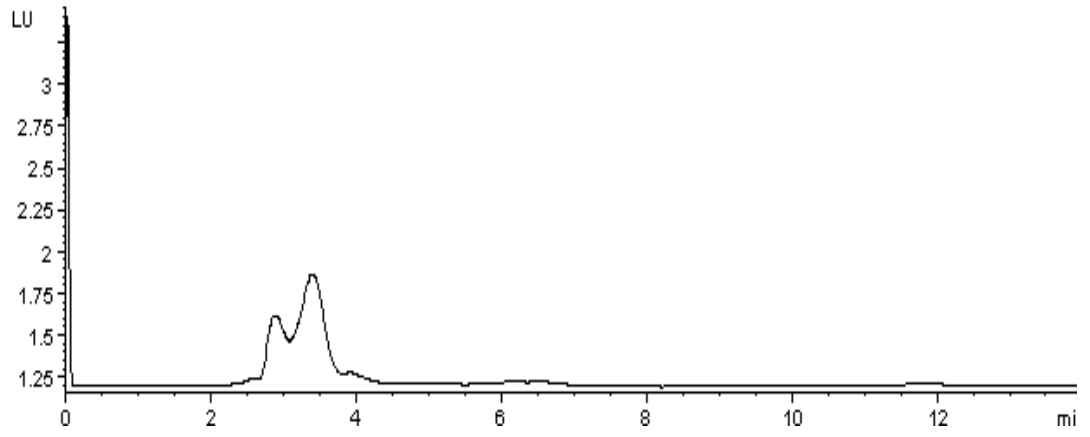
Şekil B.45: 40°C’de 2 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



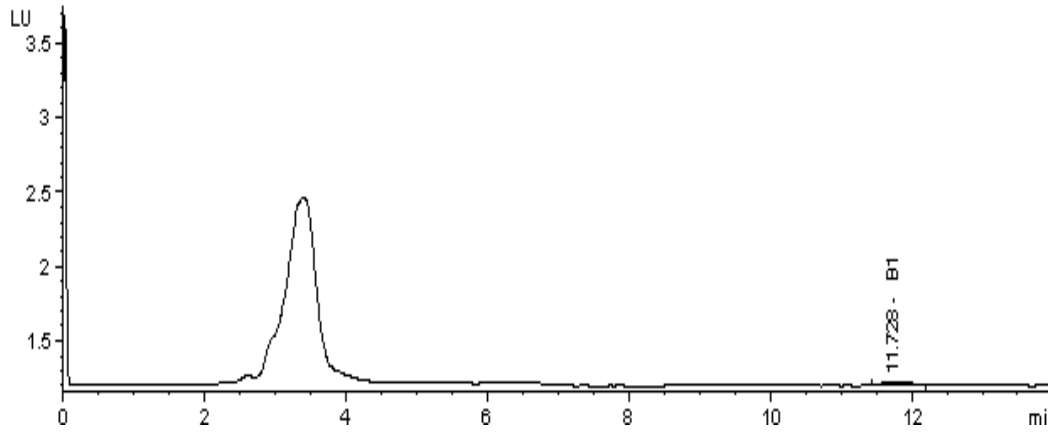
Şekil B.46: 40°C’de 3 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



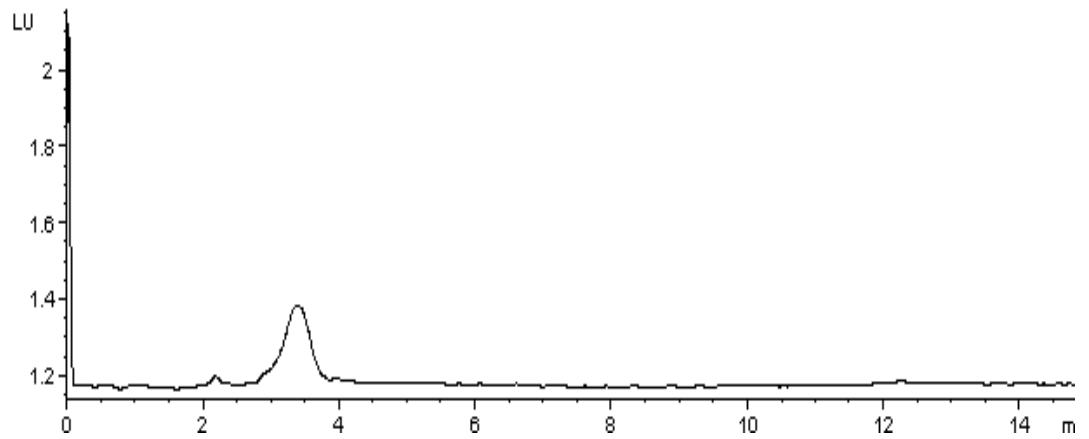
Şekil B.47: 40°C’de 4 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



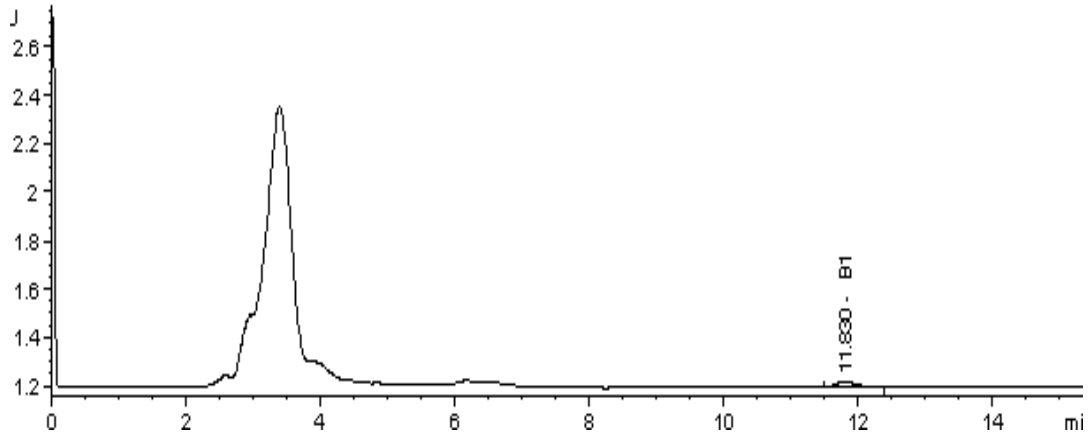
Şekil B.48: 45°C’de 1 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



Şekil B.49: 45°C’de 2 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



Şekil B.50: 45°C’de 3 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı



Şekil B.51: 45°C’de 4 saat bekletilen *A. flavus* 4104Z1 izolatının HPLC kromatogramı

EK C: İstatistiksel analiz sonuçları**Çizelge C.1:** *A. flavus* 6Z2 gelişimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi

		Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
1. gün	Gruplar arası	50,127	16	3,133	2,450	,004
	Hata	108,708	85	1,279		
	Toplam	158,836	101			
2. gün	Gruplar arası	188,711	16	11,794	5,520	,000
	Hata	181,625	85	2,137		
	Toplam	370,336	101			
3. gün	Gruplar arası	552,436	16	34,527	40,714	,000
	Hata	72,083	85	,848		
	Toplam	624,520	101			
4. gün	Gruplar arası	634,843	16	39,678	51,197	,000
	Hata	65,875	85	,775		
	Toplam	700,718	101			
5. gün	Gruplar arası	244,088	16	15,256	18,382	,000
	Hata	70,542	85	,830		
	Toplam	314,630	101			
6. gün	Gruplar arası	703,755	16	43,985	125,847	,000
	Hata	29,708	85	,350		
	Toplam	733,463	101			

Çizelge C.2: *A. flavus* 6Z2 AFB₁ üretimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi

AFB ₁	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar arası	1599465,858	16	99966,616	18,103	,000
Hata	93878,157	17	5522,245		
Toplam	1693344,015	33			

Çizelge C.3: *A. flavus* 6Z2 AFB₂ üretimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi

AFB ₂	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar arası	98,602	16	6,163	5,492	<u>,001</u>
Hata	19,075	17	1,122		
Toplam	117,677	33			

Çizelge C.4: *A. flavus* 6Z2 toplam AF üretimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi

Toplam AF	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar arası	1581686,361	16	98855,398	17,808	<u>,000</u>
Hata	94369,338	17	5551,138		
Toplam	1676055,699	33			

Çizelge C.5: *A. flavus* 51D4 gelişimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi

		Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
1. gün	Gruplar arası	13,706	16	,857	1,186	,296
	Hata	61,375	85	,722		
	Toplam	75,081	101			
2. gün	Gruplar arası	87,353	16	5,460	3,253	,000
	Hata	142,667	85	1,678		
	Toplam	230,020	101			
3. gün	Gruplar arası	608,676	16	38,042	30,174	<u>,000</u>
	Hata	107,167	85	1,261		
	Toplam	715,843	101			
4. gün	Gruplar arası	157,343	16	9,834	7,114	<u>,000</u>
	Hata	117,500	85	1,382		
	Toplam	274,843	101			
5. gün	Gruplar arası	114,980	16	7,186	22,045	<u>,000</u>
	Hata	27,708	85	,326		
	Toplam	142,689	101			
6. gün	Gruplar arası	78,157	16	4,885	11,807	<u>,000</u>
	Hata	35,167	85	,414		
	Toplam	113,324	101			

Çizelge C.6: *A. flavus* 4104Z1 gelişimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi

		Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
1. gün	Gruplar arası	29,000	16	1,813	2,036	,019
	Hata	75,667	85	,890		
	Toplam	104,667	101			
2. gün	Gruplar arası	58,843	16	3,678	1,532	,107
	Hata	204,000	85	2,400		
	Toplam	262,843	101			
3. gün	Gruplar arası	391,270	16	24,454	26,437	,000
	Hata	78,625	85	,925		
	Toplam	469,895	101			
4. gün	Gruplar arası	133,961	16	8,373	12,939	,000
	Hata	55,000	85	,647		
	Toplam	188,961	101			
5. gün	Gruplar arası	213,157	16	13,322	22,186	,000
	Hata	51,042	85	,600		
	Toplam	264,199	101			
6. gün	Gruplar arası	53,500	16	3,344	18,740	,000
	Hata	15,167	85	,178		
	Toplam	68,667	101			

Çizelge C.7: *A. flavus* 4104Z1 AFB₁ üretimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi

AFB ₁	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar arası	11,810	16	,738	10,692	,000
Hata	1,174	17	,069		
Toplam	12,983	33			

Çizelge C.8: *A. parasiticus* 52D1 gelişimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi

		Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
1. gün	Gruplar arası	48,064	16	3,004	1,470	,131
	Hata	173,750	85	2,044		
	Toplam	221,814	101			
2. gün	Gruplar arası	193,564	16	12,098	7,882	,000
	Hata	130,458	85	1,535		
	Toplam	324,022	101			
3. gün	Gruplar arası	528,186	16	33,012	39,967	,000
	Hata	70,208	85	,826		
	Toplam	598,395	101			
4. gün	Gruplar arası	727,755	16	45,485	23,521	,000
	Hata	164,375	85	1,934		
	Toplam	892,130	101			
5. gün	Gruplar arası	223,426	16	13,964	11,547	,000
	Hata	102,792	85	1,209		
	Toplam	326,218	101			
6. gün	Gruplar arası	1654,270	16	103,392	108,834	,000
	Hata	80,750	85	,950		
	Toplam	1735,020	101			

Çizelge C.9: *A. parasiticus* 52D1 AFB₁ üretimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi

AFB ₁	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar arası	1101931,840	16	68870,740	7,628	,000
Hata	153483,764	17	9028,457		
Toplam	1255415,604	33			

Çizelge C.10: *A. parasiticus* 52D1 AFB₂ üretimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi

AFB ₂	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar arası	110,367	16	6,898	63,920	<u>,000</u>
Hata	1,835	17	,108		
Toplam	112,202	33			

Çizelge C.11: *A. parasiticus* 52D1 AFG₁ üretimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi

AFG ₁	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar arası	407171,787	16	25448,237	4,425	<u>,002</u>
Hata	97774,809	17	5751,459		
Toplam	504946,596	33			

Çizelge C.12: *A. parasiticus* 52D1 AFG₂ üretimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi

AFG ₂	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar arası	7,910	16	,494	7,479	,000
Hata	1,124	17	,066		
Toplam	9,033	33			

Çizelge C.13: *A. parasiticus* 52D1 toplam AF üretimine süre-sıcaklık etkisi varyans analizi

Toplam AF	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar arası	533480,966	16	33342,560	1,888	,102
Hata	300224,369	17	17660,257		
Toplam	833705,334	33			

Çizelge C.14: *A. flavus* 6Z2 AFB₁ üretimine süre-sıcaklık etkisi Duncan testi sonuçları

AFB ₁	sıcaklık	N	Subset for alpha = 0.01			
			1	2	3	4
Duncan ^a	302	2	6,8659E2			
	301	2	7,3049E2			
	304	2	7,4805E2			
	353	2	7,5428E2			
	352	2	8,4467E2	8,4467E2		
	303	2	8,5446E2	8,5446E2		
	354	2	8,6090E2	8,6090E2		
	351	2	8,7176E2	8,7176E2		
	404	2		1,0178E3	1,0178E3	
	401	2		1,0430E3	1,0430E3	
	402	2		1,0523E3	1,0523E3	
	403	2		1,0530E3	1,0530E3	
	454	2			1,2348E3	1,2348E3
	451	2			1,2557E3	1,2557E3
	453	2				1,2902E3
	25	2				1,3104E3
	452	2				1,3395E3
	Sig.		,043	,024	,010	,220

Çizelge C.15: *A. flavus* 6Z2 AFB₂ üretimine süre-sıcaklık etkisi Duncan testi sonuçları

AFB ₂	sıcaklık	N	Subset for alpha = 0.01			
			1	2	3	4
Duncan ^a	453	2	,7850			
	452	2	,8050			
	454	2	,8650	,8650		
	451	2	,9050	,9050		
	25	2	1,5450	1,5450	1,5450	
	353	2	3,4850	3,4850	3,4850	3,4850
	303	2	3,5450	3,5450	3,5450	3,5450
	301	2	3,7700	3,7700	3,7700	3,7700
	404	2	3,7850	3,7850	3,7850	3,7850
	302	2		4,3450	4,3450	4,3450
	354	2			4,5550	4,5550
	352	2			4,5600	4,5600
	304	2			4,5900	4,5900
	403	2			4,6050	4,6050
	351	2			4,6250	4,6250
	402	2				5,5550
	401	2				5,9750
	Sig.		,025	,010	,023	,059

Çizelge C.16: *A. flavus* 6Z2 Toplam AF üretimine süre-sıcaklık etkisi Duncan testi sonuçları

Toplam AF	sıcaklık	N	Subset for alpha = 0.01				
			1	2	3	4	5
Duncan ^a	302	2	6,9094E2				
	301	2	7,3426E2				
	304	2	7,5279E2				
	353	2	7,5776E2				
	352	2	8,4923E2	8,4923E2			
	303	2	8,5801E2	8,5801E2			
	354	2	8,6545E2	8,6545E2			
	351	2	8,7673E2	8,7673E2			
	404	2		1,0216E3	1,0216E3		
	401	2		1,0489E3	1,0489E3		
	403	2		1,0576E3	1,0576E3	1,0576E3	
	402	2		1,0579E3	1,0579E3	1,0579E3	
	454	2			1,2357E3	1,2357E3	1,2357E3
	451	2			1,2566E3	1,2566E3	1,2566E3
	453	2				1,2909E3	1,2909E3
	25	2					1,3119E3
	452	2					1,3403E3
Sig.			,042	,024	,011	,011	,222

Çizelge C.17: *A. parasiticus* 52D1 AFB₁ üretimine süre-sıcaklık etkisi Duncan testi sonuçları

AFB ₁	sıcaklık	N	Subset for alpha = 0.01			
			1	2	3	4
Duncan ^a	453	2	7,7052E2			
	452	2	7,9592E2	7,9592E2		
	451	2	8,0460E2	8,0460E2		
	454	2	8,2556E2	8,2556E2	8,2556E2	
	404	2	1,0397E3	1,0397E3	1,0397E3	1,0397E3
	401	2	1,0459E3	1,0459E3	1,0459E3	1,0459E3
	353	2	1,0630E3	1,0630E3	1,0630E3	1,0630E3
	354	2		1,0958E3	1,0958E3	1,0958E3
	402	2			1,1175E3	1,1175E3
	403	2				1,1445E3
	352	2				1,1758E3
	25	2				1,1856E3
	303	2				1,2280E3
	301	2				1,2454E3
	304	2				1,2873E3
	302	2				1,2881E3
	351	2				1,3440E3
	Sig.		,014	,012	,013	,013

Çizelge C.18: *A. parasiticus* 52D1 AFB₂ üretimine süre-sıcaklık etkisi Duncan testi sonuçları

AFB ₂	sıcaklık	N	Subset for alpha = 0.01					
			1	2	3	4	5	6
Duncan ^a	453	2	1,0100					
	454	2	1,1550	1,1550				
	452	2	1,1850	1,1850				
	451	2	1,4800	1,4800				
	403	2		2,0850	2,0850			
	404	2		2,1000	2,1000			
	402	2			2,6150			
	302	2				4,2400		
	301	2				4,3000		
	401	2				4,6950	4,6950	
	25	2				4,7200	4,7200	
	352	2				5,1500	5,1500	
	353	2				5,2400	5,2400	
	351	2					5,4750	5,4750
	304	2					5,5400	5,5400
	303	2					5,5700	5,5700
	354	2						6,2850
	Sig.		,205	,018	,144	,014	,030	,035

Çizelge C.19: *A. parasiticus* 52D1 AFG₁ üretimine süre-sıcaklık etkisi Duncan testi sonuçları

AFG ₁	sıcaklık	N	Subset for alpha = 0.01			
			1	2	3	4
Duncan ^a	303	2	6,6107E2			
	301	2	6,7436E2	6,7436E2		
	25	2	6,7489E2	6,7489E2		
	351	2	6,8611E2	6,8611E2	6,8611E2	
	354	2	8,0382E2	8,0382E2	8,0382E2	8,0382E2
	352	2	8,0588E2	8,0588E2	8,0588E2	8,0588E2
	304	2	8,2342E2	8,2342E2	8,2342E2	8,2342E2
	302	2	8,3015E2	8,3015E2	8,3015E2	8,3015E2
	353	2	8,4359E2	8,4359E2	8,4359E2	8,4359E2
	403	2		9,1803E2	9,1803E2	9,1803E2
	404	2			9,2966E2	9,2966E2
	453	2			9,3678E2	9,3678E2
	401	2			9,3692E2	9,3692E2
	452	2				9,3986E2
	402	2				9,6113E2
	454	2				9,6331E2
	451	2				9,7417E2
	Sig.		,051	,012	,010	,069

Çizelge C.20: *A. parasiticus* 52D1 AFG₂ üretimine süre-sıcaklık etkisi Duncan testi sonuçları

AFG ₂	sıcaklık	N	Subset for alpha = 0.01		
			1	2	3
Duncan ^a	404	2	1,0400		
	403	2	1,1750		
	402	2	1,2100		
	451	2	1,2450		
	452	2	1,5350	1,5350	
	454	2	1,5950	1,5950	
	301	2	1,6600	1,6600	
	401	2	1,7050	1,7050	1,7050
	25	2	1,8700	1,8700	1,8700
	352	2		2,2000	2,2000
	302	2		2,2300	2,2300
	453	2		2,3050	2,3050
	351	2		2,3100	2,3100
	304	2		2,3250	2,3250
	303	2		2,3300	2,3300
	353	2		2,3500	2,3500
	354	2			2,5250
	Sig.		,011	,014	,013

ÖZGEÇMİŞ

**VESİKALIK
FOTO**

Ad Soyad: Aysu Dalgıç Esen

Doğum Yeri ve Tarihi: Edirne/ 1979

Adres:

Lisans Üniversite: Hacettepe Üniversitesi (3. lük derecesi)

Yayın Listesi: