

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HAZIR ELMA VE DOMATES SULARI İLE DOMATES
SALÇALARINDAKİ ALTERNARIA TOKSİNLERİNİN
BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Yüksek Biyolog Aykut TOPDEMİR

Anabilim Dalı: Biyoloji

Programı: Genel Biyoloji

HAZİRAN-2010

**FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HAZIR ELMA VE DOMATES SULARI İLE DOMATES
SALÇALARINDAKİ ALTERNARIA TOKSİNLERİNİN
BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Yüksek Biyolog Aykut TOPDEMİR

Enstitü No: 04110204

Anabilim Dalı: Biyoloji

Programı: Genel Biyoloji

HAZİRAN-2010

**FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HAZIR ELMA VE DOMATES SULARI İLE DOMATES
SALÇALARINDAKİ ALTERNARIA TOKSİNLERİNİN
BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Yüksek Biyolog Aykut TOPDEMİR

Enstitü No: 04110204

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 24-05-2010

Tezin Savunulduğu Tarih : 16-06-2010

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Nazmi GÜR

Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Dursun ÇOBANOĞLU

Prof. Dr. Ömer MUNZUROĞLU

Prof. Dr. Fikret KARATAŞ

Prof. Dr. LATİF KURT

HAZİRAN-2010

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının tüm aşamalarında yardım ve desteklerinden dolayı danışmanım Sayın Yard. Doç. Dr. Nazmi GÜR'e en içten duygularıyla teşekkürü bir borç bilirim.

Yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen, tezle ilgili her konuda fikirlerini aldığım Prof. Dr. Dursun ÇOBANOĞLU, Prof. Dr. Ömer MUNZUROĞLU, Prof. Dr. Fikret KARTAS ve Yard. Doç. Dr. Seher GÜR'e teşekkür ederim. Ayrıca, deneysel çalışmalarım esnasında laboratuvarlarını kullandığım Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne ve Biyoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. A. Harun EVREN'e teşekkür ederim.

Aykut TOPDEMİR

ELAZIĞ-2010

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	VI
SUMMARY.....	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VIII
TABLolar LİSTESİ.....	XI
SEMBOLLER LİSTESİ.....	XII
1. GİRİŞ	1
1.1. Sekonder Metabolitler.....	2
1.2. Mikotoksinler.....	4
1.2.1. Mikotoksin üretimini etkileyen faktörler.....	6
1.2.2. Mikotoksinlerin Toksikolojisi.....	7
1.3. <i>Alternaria</i> Mikotoksinleri.....	10
1.3.1. <i>Alternaria</i> Türlerinin Meyve ve Sebzelerde Patojen Olarak Önemi.....	12
1.3.2. <i>Alternaria</i> Mikotoksinlerinin Üreticileri.....	14
1.3.3. <i>Alternaria</i> Mikotoksinlerinin Toksik Etkileri.....	15
2. MATERYAL ve METOT.....	26
2.1. Materyal.....	26
2.1.1. Gıda Örneklerinin Temini.....	26
2.1.2. Standartların Temini	26
2.1.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar, Çözücü Maddeler ve Sarf Malzemeler.....	26
2.2. Metot.....	27
2.2.1. Alternariol (AOH) Standardının Hazırlanışı	27
2.2.2. Alternariol mono metil eter (AME) Standardının Hazırlanışı	28
2.2.3. Tenuazonik Asit (TEA) Standardının Hazırlanışı	28
2.2.3. Ekstraksiyon.....	28
2.2.4. HPLC’de Kantitatif Analiz.....	29
3. SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....	31
3.1. Sonuçlar.....	31

Sayfa No

3.1.1. Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	32
3.1.2. Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	33
3.1.3. Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	33
3.1.4. Domates Salçalarındaki Mikotoksin Miktarları.....	34
3.1.4.1. Firma 1'e Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	34
3.1.4.2. Firma 2'ye Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	35
3.1.4.3. Firma 3'e Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	35
3.1.4.4. Firma 4'e Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	36
3.1.4.5. Firma 5'e Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	37
3.1.4.6. Firma 6'ya Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	37
3.1.4.7. Firma 7'ye Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	38
3.1.4.8. Firma 8'e Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	39
3.1.5. Domates Sularındaki Mikotoksin Miktarları.....	39
3.1.5.1. Firma 1'e Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	39
3.1.5.2. Firma 2'ye Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	40
3.1.5.3. Firma 5'e Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	41
3.1.5.4. Firma 11'e Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	41
3.1.5.5. Firma 12'ye Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	42
3.1.5.6. Firma 13'e Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	43

	<u>Sayfa No</u>
3.1.5.7. Firma 16'ya Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	43
3.1.5.8. Firma 19'a Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	44
3.1.5.9. Firma 20'ye Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	45
3.1.5.10. Firma 21'e Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	45
3.1.6. Elma Sularındaki Mikotoksin Miktarları.....	46
3.1.6.1. Firma 1'e Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	46
3.1.6.2. Firma 2'ye Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	47
3.1.6.3. Firma 11'e Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	47
3.1.6.4. Firma 12'ye Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	48
3.1.6.5. Firma 13'e Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	49
3.1.6.6. Firma 14'e Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	49
3.1.6.7. Firma 15'e Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	50
3.1.6.8. Firma 16'ya Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	51
3.1.6.9. Firma 17'ye Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	51
3.1.6.10. Firma 18'e Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları.....	52
3.2. Tartışma.....	56
KAYNAKLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ.....	

ÖZET

Bu çalışmada marketlerde satılan 10 farklı markaya ait domates salçası, domates suyu ve elma suyu olmak üzere toplam 30 gıda örneğinde Alternariol (AOH), Alternariol monometil eter (AME) ve Tenuazonik asit (TEA) miktarları HPLC’de (high pressure liquid chromatography) incelendi.

Domates salçalarında AOH miktarı 0,0343-0,4175 ppm ($\mu\text{g/g}$), TEA miktarı 1,2491-10,9377 ppm, AME miktarı ise 0,0813 ppm olarak tespit edildi. Domates sularında AOH miktarı 0,0019515-0,0082657 ppm, AME miktarı 0,0001219-0,0428048 ppm, TEA miktarı ise 0,04895-2,3841 ppm aralığında, elma sularında ise AOH miktarı 0,0006106-0,2468895 ppm, AME miktarı 0,0002033-0,0039172 ppm, TEA miktarı ise 0,3213-9,6189 ppm aralığında tespit edildi. Domates salçası, domates suyu ve elma suyu örnekleri arasındaki farklılıklar muhtemelen meyvenin hasat zamanı, hasat ediliş şekli, taşınması, işlenmesi, depolanması ve marketlerdeki raf ömründen kaynaklanmaktadır.

Anahtar kelimeler : Alternariol (AOH), Alternariol monometil eter (AME), Tenuazonik asit (TEA), Domates salçası, Domates suyu, Elma suyu.

SUMMARY

THE DETERMINATION OF ALTERNARIA TOXINS IN APPLE AND TOMATO JUICES AND TOMATO PASTE

In this study, quantity of Alternariol (AOH), Alternariol monomethyl ether (AME) and Tenuazonic acid (TEA) in tomato paste, tomato juice and apple juice of 10 different brands were analyzed in HPLC (high pressure liquid chromatography).

In tomato paste, it was found that AOH quantity is 0,0343-0,4175 ppm ($\mu\text{g/g}$), TEA quantity is 1,2491-10,9377 ppm and AME quantity is 0,0813 ppm. As to tomato juice, it was found that AOH quantity has a range of 0,0019515-0,0082657 ppm, AME quantity has a range of 0,0001219-0,0428048 ppm and TEA quantity has a range of 0,04895-2,3841 ppm. In apple juice, it was determined that the range of AOH quantity is 0,0006106-0,2468895 ppm, the range of AME quantity is 0,0002033-0,0039172 ppm and the range of TEA quantity is 0,3213-9,6189 ppm. The differences among tomato paste, tomato juice and apple juice samples may have resulted from the fruit's harvest time, harvest type, transport, processing, storage and shelf life in markets.

Key Words: Alternariol (AOH), Alternariol monomethyl ether (AME), Tenuazonic acid (TEA), Tomato paste, Tomato juice, Apple juice.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. Tenuazonik asit (TA), Alternatoksini-I (ATX-I), Alternariol (AOH), Alternariol mono metil eter (AME) ve Alternariene (ALT)'nin kimyasal yapısı	12
Şekil 2. TEA, AOH ve AME standartlarına ait kromatogramlar	29
Şekil 3. Domates salçalarındaki ortalama mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının sütun grafiği	32
Şekil 4. Domates sularındaki ortalama mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının sütun grafiği	33
Şekil 5. Elma sularındaki ortalama mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının sütun grafiği	34
Şekil 6. Firma 1'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	34
Şekil 7. Firma 2'ye ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği.....	35
Şekil 8. Firma 3'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	36
Şekil 9. Firma 4'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	36
Şekil 10. Firma 5'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	37
Şekil 11. Firma 6'ya ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	38
Şekil 12. Firma 7'ye ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	38
Şekil 13. Firma 8'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	39
Şekil 14. Firma 1'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	40
Şekil 15. Firma 2'ye ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	40
Şekil 16. Firma 5'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	41
Şekil 17. Firma 11'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	42

Şekil 18. Firma 12'ye ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	42
Şekil 19. Firma 13'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	43
Şekil 20. Firma 16'ya ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	44
Şekil 21. Firma 19'a ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	44
Şekil 22. Firma 20'ye ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	45
Şekil 23. Firma 21'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	46
Şekil 24. Firma 1'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	46
Şekil 25. Firma 2'ye ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	47
Şekil 26. Firma 11'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	48
Şekil 27. Firma 12'ye ait elma domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	48
Şekil 28. Firma 13'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	49
Şekil 29. Firma 14'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	50
Şekil 30. Firma 15'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	50
Şekil 31. Firma 16'ya ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	51
Şekil 32. Firma 17'ye ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	52
Şekil 33. Firma 18'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği	52
Şekil 34. AOH, AME ve TEA'nın birlikte görüldüğü gıda örnekleri ve bu örneklerdeki toksin miktarları.....	53
Şekil 35. AOH, AME'nin birlikte görüldüğü gıda örnekleri ve bu örneklerdeki toksin miktarları.....	54

Şekil 36. AOH, TEA'nın birlikte görüldüğü gıda örnekleri ve bu örneklerdeki toksin miktarları.....	54
Şekil 37. Sadece AOH'ın görüldüğü gıda örnekleri ve bu örneklerdeki toksin miktarları.....	55
Şekil 38. Sadece TEA'nın görüldüğü gıda örnekleri ve bu örneklerdeki toksin miktarları.....	55

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Zehirli mantar türleri ve bunların ürettiği temel mikotoksinler.....	4
Tablo 2. Mikotoksinlerin zararlı etkileri	8
Tablo 3. Doğal koşullar veya inokulasyon sonrası meyvelerde Alternaria mikotoksinleri.....	21
Tablo 4. Meyve suyu ve diğer meyve ürünlerinde Alternaria mikotoksinlerinin içeriği	25
Tablo 5. Domates salçalarındaki AOH, AME ve TEA miktarlarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları	31
Tablo 6. Domates sularındaki AOH, AME ve TEA miktarlarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları	31
Tablo 7. Elma sularındaki AOH, AME ve TEA miktarlarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları.....	32

SEMBOLLER LİSTESİ

KISALTMALAR

AFB1	: Aflatoksin B1.
AFB2	: Aflatoksin B2.
AFG1	: Aflatoksin G1.
AFG2	: Aflatoksin G2.
AFM1	: Aflatoksin M1.
AME	: Alternariol mono metil eter.
AOH	: Alternariol.
C/N	: Karbon bölü azot oranı.
DAS	: Diacetoxyscirpenol.
DON	: Vomitoksin.
Dsal	: Domates salçası.
Dsu	: Domates suyu.
Esu	: Elma suyu.
LD₅₀	: Öldürücü dozun %50'si.
ND	: Tespit edilmedi (Not Detected).
pH	: Hidrojenin gücü.
ppm	: Milyonda bir (mg/kg veya µg/gr).
ppb	: Milyarda bir (µg/kg veya ng/gr).
TEA	: Tenuazonik asit.
UV	: Mor ötesi.
vd	: Ve diğerleri.
ZEN	: Zearalenone.

1-GİRİŞ

Gıdalarda ve yemlerde bulunan filamentli funguslar (hifli küfler) denildiğinde taksonomide Mycobiota (funguslar âlemi) içindeki Zygomycota, Ascomycota, Deuteromycota, Basidiomycota bölümleri altında yer alan değişik cins ve türdeki funguslar akla gelmektedir.

Funguslardan; hayvansal ve bitkisel atıkların çürütülmesinde, bu yapılarda bulunan azot, fosfor, potasyum, sülfür, demir ve kalsiyum gibi elementlerin serbest bırakılması halinde, bazı peynir tiplerinin, antibiyotiklerin, thiamin, biyotin, riboflavin gibi bazı vitaminlerin, amilaz, pektolaz gibi enzimlerin ve gibberellin gibi hormonların eldesinde yararlanılmaktadır. Bir fungus grubu olan mayalar ekmekçilikte, şarap ve bira gibi fermente gıda ürünlerin eldesinde kullanılmaktadır. Tüm bu yararlarının yanı sıra funguslar insan, hayvan ve bitkilerde çeşitli hastalıklara, yiyecek ve gıdalarda bozulmaya neden olmaktadır. Tarımsal ürünler hasattan başlayarak işleme ve depolama aşamalarında ortam koşullarına, tarım ürününün bileşimine ve su içeriğine bağlı olarak değişik küflerle kontamine olmaktadır [1]. Gıda ve yemlerde gelişen fungusların gelişme sürecini tamamladıktan sonra miselleri içerisinde oluşturdıkları ve birçok durumda üzerinde bulundukları ürüne salgıladıkları toksik metabolitler, insan ve hayvan sağlığını tehdit ettiğinden, küflenme ekonomik boyutun ötesinde de önem taşımaktadır. Fungusların ürettikleri bu sekonder metabolitlere mikotoksin adı verilmektedir. Fungusların sekonder metabolizmaları sonucu sentezlenen mikotoksinlerin, insan ve hayvanlarda meydana getirdiği patolojik etkileri ortaya çıktıkça, yüksek yapılı canlılarda neden oldukları toksik sendromlar “mikotoksikozis” olarak adlandırılarak antibiyotiklerden ayrılmışlardır. Gıda ve yemlerde en önemli kontaminantlardan biri olarak kabul edilen mikotoksinler, bugün dünyada gıda üreticisi olan bölgelerin büyük bölümünde, gıda güvenliği için önemli bir tehlike oluşturmaktadır. Mikotoksin sentezi için özel koşulların oluşması gereklidir. Hem küfler hem de mikotoksinler rutubet, sıcaklık ve havadaki gazların belirli seviyeleri gibi koşullar altında üretilmektedir. Bu koşullar, küf ve mantarın türüne göre değişiklik göstermektedir. Mikotoksinlerin insan sağlığı üzerine etkilerini belirlemek ve açıklamak, insanlar üzerinde fazla sayıda deneyler yapılamadığı ve bulgular elde edilmediği için zordur. Farklı hayvan türleri mikotoksinlerin akut ve kronik etkilerine duyarlıdır. Bu indirekt verilere göre insanların da duyarlı olabileceği düşünülmektedir.

Mikotoksinlerin insan sağlığı üzerine etkileri, bireyin beslenme durumu, bireyin dayanıklılığı, mikotoksinlere karşı olan hassasiyeti ile açıklanabilir. Mikotoksikozisler için en büyük kaynak düşük kaliteli besinler ve besinlerin depolama koşullarının uygun olmamasıdır. Avrupa’da halen sürdürölmekte olan uzun vadeli bir araştırmada tarlada ya da depolama sırasında tahıllar üzerinde küf gelişimini kontrol edecek ve engelleyecek stratejilerin dizaynı için gerekli koşullar oluşturulmaya çalışılmaktadır [2].

1.1.Sekonder Metabolitler

Sekonder metabolitler, canlılar tarafından üretilen ve günümüzde birçok sektörde hammadde olarak kullanılan, canlıların temel yaşamsal işlevleri ile doğrudan ilişkisi olmayan, buna karşılık en az canlının yaşamsal işlevleri ile doğrudan ilişkili primer metabolitler (protein, yağ, karbonhidrat) kadar önemli olan kimyasal maddelerdir. Sekonder metabolitlerin üretim mekanizması ile bir tek kimyasal yapı grubu sentezlenmez, bu bakımdan her biri farklı bir metabolik döngünün ürünüdür. Sekonder metabolitler bazı mikrobiyal gruplar, türler ve hatta suşlar ile sınırlı iken; primer metabolizma ürünleri aerob, anaerob, fototrof ve organotrof olup, daha genel ve temel ortak özellikler gösterebilmektedirler [3]. Bu kimyasal maddelerin önceden hiçbir işe yaramadığı bitkiler tarafından üretilen atık madde olduğu varsayılırken daha sonra bu maddelerin bitkide savunma, korunma, ortama uyum, hayatta kalma ve nesillerini devam ettirmek için geliştirilmiş, oldukça karmaşık mekanizmaların ürünleri olduğu anlaşılmıştır. Bu maddelerin bitkideki önemli görevleri kuraklık, tuzluluk, UV ışınları vs. gibi değişik çevre faktörlerinin oluşturduğu stres ortamına karşı koyma, herbivorlara (böcek, sürüngen vb.) ve mikroorganizmalara karşı savunma, tohum dağılımını sağlamak için hayvanları ve diğer taşıyıcıları çekme gibi bazı metabolik ve daha gelişmiş ekolojik işlevleri olduğu varsayılmaktadır.

Sekonder metabolitlerin günlük hayattaki önemine gelince; bu kimyasallar başta ilaç endüstrisinin hammaddesi olup; kozmetik, besin katkı maddesi, zirai ilaç ve kimya sanayiinde kullanılmaktadır [4]. İlk yazılı kaynaklarda ilk insanların çeşitli hastalıklarının tedavisi için bitkilerden yararlandıkları belirtilmektedir. Örneğin aspirin tedavi için kullanılan sekonder metabolitlerden biri olup hammaddesi söğüt ağacının kabuklarından elde edilen asetil salisilik asittir.

Hemen herkesin kullandığı yumuşatıcı, iyileştirici vs. birçok etkiye sahip kremler de sekonder metabolitlerden elde edilir. Çok sık duyduğumuz salatalık özlü kremler, saçlarının

daha gür ve ısıltılı olması için badem yağı gibi birçok bitkisel ürünü karıştırılarak saçlara sürülmesi, ısırgan otunun saç dökülmesine olan olumlu etkisi gibi örnekleri saymak mümkündür. Bütün bu sayılanların yanında bu kimyasallar parfümeride de oldukça yaygın kullanılmaktadır [4].

Sekonder metabolitler doğal olmaları ve diğer suni insektisitler (böcek öldürücü maddeler) gibi çevreye olumsuz etki yapmamaları nedeniyle zirai mücadelede önemli bir yere sahiptirler. Suni tarım ilaçlarının toprağa, bitki örtüsüne, havaya ve diğer yararlı organizmalara olan zararlı etkisi gün geçtikçe önemini artırmaktadır. Sekonder metabolitlerin bir diğer faydası da, giderek önemi artan organik tarım sektöründe başlıca sorunlardan biri olan, zararlılara karşı organik maddelerin kullanılmasıdır.

Bitkilerin mikroorganizmalarla enfekte olması sonucu fitotoksin adlı sekonder metabolitler sentezlenir. Bu maddelerin antimikrobiyal etkileri olup, patojen tarafından salınan maddeler veya patojenin hücre duvarı parçaları da aynı etkiyi oluşturmaktadır. Bu maddeler elisitör olarak adlandırılır. Patojen kaynaklı maddelere ilave olarak çeşitli stres koşulları da bu maddelerin salınımını sağlar. Bu stres koşulları arasında; UV, soğuk, sıcak, etilen, fungusid, antibiyotik, ağır metal tuzları ve yüksek tuz konsantrasyonları gelir. Bitki patolojisinde toksin ve çok düşük konsantrasyonlarda bile bitkilerde zararlı olan mikrobiyal metabolitlerdir.

Mikrobiyal sekonder metabolitler, çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir ve hormon, antibiyotik, toksin, anti-migren ajanı, anti-kanser ajanı olarak veya insektisit olarak işlev görmektedirler [5]. Birçoğu düşük molekül ağırlıkta küçük moleküller olduklarından dolayı enfeksiyon bölgesinden çok daha uzak bölgelere yayılabilir ve taşınabilirler [6]. Bu metabolitlerden antibiyotikler sağlık üzerinde olumlu etkiye sahip, çok önemli bir madde grubu olup tıp ve veterinerlikte terapi amacıyla kullanılmaktadır. *Bacillus subtilis* tarafından üretilen iturin'in bir anti-fungal antibiyotik olduğu belirlenmiş ve *Fusarium oxysporum*, *F.moniliforme*, *Aspergillus niger*, *A.flavus* gibi bitki patojenlerine karşı etkili olduğu bildirilmiştir [6]. *Bacillus licheniformis* 'in ürettiği, yağ asidi içeren CB₁ peptidinin 50 µg/ml 'lik düzeyinin bitki patojenlerinden *F. oxysporum* üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir [6]. Ayrıca *Bacillus licheniformis* 'in bazı izolatlarınca üretilen ve dar spektrumlu bir peptit olan M-4 fungusitinin *Microsporum canis*, *Mucor* türleri ve *Sporothrix schenckii* 'nin gelişimini engellediği saptanmıştır. *Bacillus circulans* J2154 'den izole edilen yeni bir lipopeptit serisi α - γ Streptococci ve Enterococci 'yi içine alan gram-pozitif bakterilere etkili olduğu ortaya konmuştur [5-6].

1.2. Mikotoksinler

Mikotoksinler genelde dengeli bir büyüme aşamasının ardından farklı mantarlar tarafından üretilen çeşitli bileşik gruplarıdır. Bir mikotoksinin üretimi genellikle belirli bir mantar türü ile sınırlıdır, türe ve hatta suşa özgü olabilir. Belirli bir mikotoksinin sentez yolu ne kadar karmaşıksa, bu bileşiği üreten mantar türü sayısının da o kadar az olacağına dair somut kanıt bulunmaktadır. Ayrıca sekonder metabolitleri sentezleyen mantarların türüne bağlı olarak bu metabolitler hayvanlarda zehirlenmelere yol açabilmektedirler [7]. En önemli zehirli mantar türleri ve bunların mikotoksinleri Tablo 1’de verilmiştir. Bu tür ve mikotoksinlerin hepsi geniş getiren hayvanlara zarar vermemektedir [8].

Tablo 1. Zehirli mantar türleri ve bunların ürettiği temel mikotoksinler [1].

Mantar türleri	Mikotoksinler
<i>Aspergillus flavus</i> ; <i>A. Parasiticus</i>	Aflatoksinler
<i>A. flaws</i>	Siklopiazonik asit
<i>A. ochraceus</i> ; <i>Penicillium viridicatum</i> ; <i>P. Cyclopium</i>	Okratoksin A
<i>P. expansum</i>	Patulin
<i>Fusarium culmorum</i> ; <i>F. Gramineatum</i> ; <i>F. Sporomchioides</i>	Deoksinivalenol
<i>F. sporom'chioides</i> ; <i>F. Poae</i>	T-2 toksin
<i>F. sporotrichioiaks</i> ; <i>F. Graminearum</i> ; <i>F. poae</i>	Diasetoksisirpenol
<i>F. culmorum</i> ; <i>F. graminearum</i> ; <i>F. Sporotrichioides</i>	Zearalenon
<i>F. moniliforme</i>	Fumonisinler
<i>Acremonium coenophialum</i>	Ergopeptin alkaloidler
<i>A. lolii</i>	Lolitrem alkaloidler
<i>Phomopsis leptostromiformis</i>	Fomopsinler
<i>Pithomyces chartarum</i>	Sporidesminler

Mikotoksikozun geçmişi çok eski zamanlara dayanmaktadır, fakat mikotoksin araştırmaları, 1960’da 100.000 hindinin *Aspergillus flavus* bulaşmış yerfıstığı yedikten sonra akut karaciğer nekrozu ve safra kanalı hiperfilazisi sonucu ölümü üzerine ancak başlayabilmiştir. Bu olayı takiben başlayan araştırma, aflatoksinlerin tanımlanması ve ayrımını sağlamıştır. Bu mikotoksin grubu B1, B2, G1 ve G2’den (sırasıyla AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2) oluşur. Ayrıca AFB1 bulaşmış yerfıstığı yemi yiyen süt ineklerinin sütünde aflatoksin M1 bulunmuştur [9].

A.flavus'un sadece AFB1 ve AFB2 ürettiği, bununla birlikte 1960'ta hindileri öldüren ve mikroplu yerfistıklarının ambarında bulunduğu doğrulanan bir mikotoksin olan, siklopiazonik asit sentezleyebildiği bilinmektedir [10]. Öte yandan *A. Parasiticus* genelde birincil aflatoksinlerin hepsini üretir. Fakat *Aspergillus*'un iki türünde de aflatoksijenik olmayan suşlar bulunur [7]. İki *Aspergillus* türü de sıcaklık ve nem/su faaliyetinin yayılmalarını desteklediği durumlarda gelişir. *A. Parasiticus*'a bakıldığında 25-30°C gibi sıcaklıklar aflatoksin üretimini azamiye çıkarmak için uygundur. Yalnız, hem sıcaklık hem de nem miktarı mikotoksinlerin sentezinde genellikle etkileşim halindedir [7]. Aflatoksinin bulaşma riski bu yüzden yüksek nemli tropik ülkelerden gelen ürünlerde daha fazladır.

Fusarium türü mikotoksinlerin doğal oluşumları gelişim ve mikotoksin üretimi için *Aspergillus* türlerine oranla biraz daha az sıcaklık gerektirdiği için genelde ılıman ülkelerdeki tahıllarla ilişkilendirilir. Tropik alanlarda tahıl tohumlarına, özellikle mısır tohumlarına bazı *Fusarium* mikotoksinlerinin yaygın olarak bulaşmasıyla ilgili oldukça geniş bilgi toplanmıştır [11]. Önemli toksijenik türler arasında *F. sporotrichioides*, *F. culmorum*, *F. gramineurum*, *F. poae*, *F. Oxysporum* ve *F. moniliforme* vardır. Bu türler çeşitli mikotoksinler sentezlemektedir. Hayvan sağlığı ve üremesi açısından en önemlileri trikotesenler, zearalenon, moniliformin ve fumonisinlerdir. Trikotesenler iki büyük alt gruba ayrılabilir: A tipi ve B tipi. A tipi trikotesenler T-2 toksini, HT-2 toksini, neosolaniol ve diasetoksirpenol (DAS) iken, B tipi trikotesenler deoksinivalenol (DON, vomitoksin), nivalenol ve fusarenon-X'tir. Bu iki trikotesen çeşidinin sentezi belirli *Fusarium* türleri için karakteristiktir [12]. Böylece, mesela A tipi trikotesen üretimi *F. Sporotrichioides*'te ve muhtemelen *F. poae*'da yoğunluk gösterirken B tipi trikotesen sentezi genelde *F. culmorum* ve *F. graminearum*'de olur. Çoğu *Fusarium* türünün ortak özelliği zearalenon üretme kapasiteleridir ve bazı trikotesenlerle birlikte oluşumları besi hayvanlarında mikotoksiz etiyolojisinde katkı (eklenebilirlik) ve eş etkinlik konularını düşündürmektedir. Bu açıdan *F.moniliforme* da en az üç mikotoksin—fumonisin, moniliformin ve fusarin C üretebilmesi bakımından önem taşımaktadır [13]. Fumonisinler yapısal olarak benzer altı adet metabolit içeren bir gruptur. Bunlardan fumonisin B1 ve fumonisin B2 hayvan hastalıklarıyla ilişkilendirilmektedir [14].

Endofitik mantar *Acremonium coenophialum* kamışsı yumakla (*Festuca arundinaceu*) birlikte oluşurken diğer bir ilgili mantar *A. Lolii* İngiliz çiminde (*Lolium perenne*) görülebilir. Bu bağlantılar, endofitsiz eşleriyle karşılaştırıldığında çimin; hastalık,

böcek ve nematod enfestasyonları ve kuraklık gibi zorluklara dayanımının sağlanması açısından simbiyotiktir [15]. Mantarlar ev sahibi bitkilere savunmacı ikincil bileşikler temin eder ve çimler mantara gerekli besinleri temin eder. Bu ikincil metabolitler de mikotoksin olarak sayılabilir çünkü artık endofit bulaşan çimleri tüketen sığır, koyun ve atlarda iyi tanımlanmış ters etkilerle birbirine bağlantılıdır [16-18]. Ergopeptin alkaloidleri, özellikle ergovalin, *A. coenophialum* bulaşmış kamışsı yumak toksikozuyla ilişkilendirilmekte, indol izoprenoid lolitrem alkaloidleri, özellikle lolitrem B, *A. lolii* bulaşmış çavdar otu sendeleme hastalığıyla ilişkilendirilmektedir [19,20-25].

1.2.1. Mikotoksin Üretimini Etkileyen Faktörler

Mikotoksin oluşumunu etkileyen unsurlar biyolojik, fiziksel ve kimyasal etmenler olarak ayrılabilir.

a) Biyolojik Etmenler

Zehirli mantar türlerinin çoğu aynı zamanda önemli bitki patojenleridir. Mısır başağı ve tanelerinin *Aspergillus* ile küflenmesi *A. flavus* tarafından [25-26]. Ayrıca mısır başağında küf aralarında *F. graminearum* ve *F. moniliforme* bulunan birtakım *Fusarium* türleriyle enfeksiyon sonucu da oluşabilir [27]. Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan bir çalışmada enfeksiyon seviyesi ve mikotoksin üretimi arasında bir ilişki gözlenmiştir. *A. flavus* ile kolonileşme ve mısır tanelerinin AFB1 kontaminasyonu arasında doğrudan bir ilişki vardır [28]. Enfeksiyona eğilimli mısır genotipleri yüksek seviyede kontaminasyonlu ürün vermiştir. Aynı şekilde ılıman bölgelerde buğdayda *Fusarium* başak yanıklığının şiddeti tanedeki yüksek DON seviyeleriyle doğru orantılıdır [12]. Tarlada ve hasatta tohumlar farklı mantar türleri tarafından kolonileşmeye eğilimlidir ve mikotoksin üretimi mantar etkileşimlerinden etkilenebilir [29].

b) Fiziksel Etmenler

Etkileşim halindeki çeşitli fiziksel etmenler tarlada ve stoklama sırasında mikotoksin üretimini etkileyebilir. Bunlar arasında zaman, sıcaklık, nem ve böcek enfestasyonunun derecesi vardır. Örneğin, *F. moniliforme* ile ilgili çalışmalar hem su hem de zaman faaliyetinin etkileşerek mısır tanelerinde fumonisin B1 üretimini etkileyebileceğini; sıcaklığın diğer *Fusarium* türlerindeki zearalenone (ZEN) üretiminde etkisi olabileceğini göstermektedir [12]. Tropikal bölgelerde tarlada ve saklama sırasında böceklerin tohumları istila etmesi de önemli bir etkidir. Böcek infestasyonunun tanede mantar enfeksiyonuna

yol açacağı ve böylece mikotoksin üretimine yol açacağı konusunda fikirbirliği vardır [30].

c) Kimyasal Etmenler

Burada önemli bir husus da fungusitlerin etkisidir. Çünkü bunlar ürünlerde mantar hastalıklarını denetim altına almak için sıklıkla kullanılmaktadır. Bu amaç için fungusitlerin başarılı kullanıldığı yerlerde mikotoksin kontaminasyonu riski düşüktür. Fakat birtakım çalışmalar subletal (ölümcül dozun altında) konsantrasyonlarda mikotoksin kontaminasyonunun desteklenebileceğini göstermektedir. Fenpropimorfun AFB1 + AFG1 üretimini *Aspergillus parasiticus* ile önemli derecede artırdığını ve bu mikotoksinlerin oranlarının AFB1 lehine değiştiği bildirilmiştir [31]. Tebukonazol ve triadimenol karışımının uygulaması buğdayda *Fusarium* başak yanıklığı vakalarını azaltmıştır ama nivalenol üretimini harekete geçirdiği ileri sürülmüştür [12]. Azotun gübre olarak uygulama oranları endofit bulaşmış çimlerde alkaloid seviyelerini etkileyebilir. Bununla birlikte otlatma sıklığı ve mevsimsel varyasyonlar da önemlidir [19].

1.2.2. Mikotoksinlerin Toksikolojisi

Araştırmalarda çeşitli mikotoksinlerin geniş getiren hayvanlar dahil tüm besi hayvanlarında büyük ve çeşitli etkiler uyandırdığı konusunda kanıtlar elde edilmiştir [7]. Mikotoksinlerin asıl ilgi uyandıran yönleri insan sağlığı üzerine toksik ve karsinogenik etkileridir [8]. Mikotoksinlerin çeşitli canlılar üzerindeki etkileri Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Mikotoksinlerin zararlı etkileri [12].

Mikotoksin	Zararlı Etkileri
Aflatoksin B1 (AFB1)	Akut zehirlilik: LD-50 (canlının minimum dozla zehirlenme değeri) değerleri, 1.0-17.9 ppm VA (laboratuar hayvanları), 0.5 ppm VA (ördek yavruları); hepatik lezyonlar; teratojenik. Geviş getiren hayvanlarda yem etkililiği, bağışıklık işlevi ve üremede azalma. İnsanlarda karsinojen
Aflatoxin M1 (AFM1)	Hepatotoksik ve karsinojenik
Deoksinivalenol	Domuzlarda yem alımı engelleyici. Teratojenik. Geviş getiren hayvanlar toleranttır.
Diasetoksirpenol ve T-2 toksin	Geviş getiren hayvanlarda mikotoksize neden olur.
Zearalenone	Kısırlık, süt üretiminde azalma ve ineklerde hiperöstrojenizm.
Fumonisinler	Domuz ve büyükbaş hayvanlarda hepatik lezyonlar. Atlarda lökoensefalomalasi. Domuzlarda akciğer ödemi. İnsanlarda özofagus kanseri.
Ergopeptin alkaloidleri	Geviş getiren hayvanlarda büyüme, üreme performansı ve süt üretiminde azalma.
Lolitrems alkaloidleri	Nörolojik etkiler: inkoordinasyon (dengesizlik), yalpalama, baş titremesi ve yığılma.
Fomopsinler	Lupinosis: Koyunlarda gelişememe, karaciğer hasarı, sarılık, fotosensitizasyon (ışığa duyarlılık) ve ölüm.
Sporidesminler	Koyunlarda yüzeysel egzema: Karaciğer hasarı, idrar yolu lezyonları, fotosensitizasyon (ışığa duyarlılık) ve ölüm.

Bileşiklerin zehirliliği, bir maddenin akut toksisitesini göstermek için kullanılan ve ortalama öldürücü doz olarak bilinen LD-50 değerinin belirlenmesini temel alır. Bu akut zehirlilik değerleri yaş, cinsiyet ve hayvanların boyutu gibi nedenlere bağlı olarak çeşitlilik gösterir. 1.0 ile 17.9 ppm (mg/kg) aralığında AFB1 miktarı, laboratuar hayvanlarında LD 50 değerlerini verir. Ancak 0.5 ppm’lik değerleriyle özellikle 1 günlük ördek yavruları bu doza karşı aşırı hassasiyet gösterirler [13]. Süt inekleri üzerine yapılan çalışmaların gösterdiği üzere, yetişkin geviş getiren hayvanlarda aflatoksinlere maruz kalma, yem verimi, immunokompetans ve üretkenlik performansını düşürmektedir [32]. Süt sığırlarında karşılaşılan diğer bir sorun da AFB1’in sütte salgılanan Aflatoksin M1’e

dönüşümünden kaynaklanır. Süt ürünü yemlerinde yüksek ve düşük seviyelerde AFB1 kontaminasyonun dönüşümünün hem hepatotoksik hem de karsinojenik olduğu belirlenmiştir [9]. Sayısal anlamda AFB1'in ördek yavruları ve sıçanlarda zehirliliği benzerdir, ama karsinojenik potansiyelinin AFB1 için olduğundan daha az olduğu tahmin edilmektedir.

Trikotesenler geviş getirmeyen hayvanlarda iyi tanımlanmış etkilere yol açabilse de, genel olarak sığır ve koyunların bu mikotoksinlere dayanıklı olduğu konusunda fikir birliği vardır. Bu yüzden DON domuzlarda besin alımının güçlü bir engelleyicisi olarak tanınır [32]. Son yıllarda süt inekleri üzerinde yapılan bir çalışma, kuru besinlerdeki 6 ppm DON'un, besin alımını veya toplam süt çıktısını azalttığını göstermiştir [33]. Dahası sütte hiç DON kalıntısı veya de-epoksik türev tespit edilmemiştir. Fakat diğer trikotesenlerle mikotoksikoz vakalarında DAS ve T-2 toksini gösteren dolaylı kanıtlara rastlamıştır [34].

Zearaleno (ZEN) özellikle adet gören dişi domuzlarda östrojenik etkileriyle bilinir. Sığırlarda kısırlık, düşük süt üretimi ve hiperöstrojenizm, ZEN veya bu mikotoksini üreten *Fusarium* türleriyle ilişkilendirilmektedir. On dört ppm kadar ZEN kısırlığa yol açmaya yeterlidir [35]. Süt düveleri üç östrus döngüsü süresince ZEN ile beslenmiş ve gebelik oranları %87'den %62'ye düşmüştür [36]. Yakın bir zamanda araştırmacılar Yeni Zellanda'daki çayırda sığır ve koyunlarda ZEN'e bağlı olarak kısırlığın arttığını bildirmiştir [37].

Konu hakkında yapılan az sayıda çalışma, fumonisinlerin at ve domuzlar için ölümcül seviyedeki konsantrasyonlarda hafif ve tersine çevrilebilir hepatik değişimlere ve sığırlarda kronik besleme sonucu azalmış lenfosit blastojeneze yol açabileceğini göstermektedir. Hepatoksikozun, fumonisin B1'in sıçan, domuz, at ve sığırlarda orta dozlarda yarattığı yaygın bir özellik olduğu söylenebilir.

Akremonyum bulaşmış kamışsı yumağın ergopeptin alkaloidleri sığır ve koyunlarda düşük üretkenliğe yol açar [20]. Bu etkiler hasarlı üreme ve düşük süt üretimine sebep olur [38-40]. Et sığırlarında kamışsı yumak toksikozu kilo alımında düşüş ve vücut ısını dağıtamama böylece ısı duyarlılığının artmasıyla tanımlanır [18]. Ergovaline bakıldığında az enfekte olmuş (50ng/g) çim konsantrasyonları sığırlarda sıcaklık ve nemden dolayı kamışsı yumak toksikozu belirtilerine yol açabilir. Biyokimyasal düzeyde, durumdan etkilenen danalarda prolaktin ve melatonin salgılama dengesizlikleriyle birlikte hipotalamus, epifiz ve hipofiz bezlerinde değişmiş nöroaktarıcı

metabolizması görülmüştür. Ergopeptin alkaloidleri güçlü vazokonstriktif maddelerdir [38].

Geviş getiren hayvanlarda çavdar otu sendelemesi hastalığı inkoordinasyon, yalpalama, başın titremesi ve yere düşme gibi nörolojik semptomlarla tanımlanır [16]. Bu etkileri yaratmak için gerekli lolitrem B miktarı sadece 5 ppm'lik enfekte olmuş çimdir.

Lupinosis (*Lupinus spp.*), lüpen anızı yiyen koyunun karaciğerini etkileyen ve gelişememe, sarılık ve ölümle sonuçlanan bir hastalıktır. Bu hastalığa neden olan fomopsin A, mikrotübüla bağlı hücre içi aktarım mekanizmalarına karışır ve karaciğerde anti-mitotik olarak etki yapar [41]. Hepatik zarar daha sonra merkezi sinir sisteminde dejeneratif etki yaratarak hiperammonemia ile sonuçlanabilir. Etkilenen koyunların bu yüzden ilgisi dağılmış gibi görünebilir. Diğer belirgin işaretler halsizlik ve inapetanstır. Bazı durumlarda fotosensitizasyon da görülebilir.

1.3. *Alternaria* Mikotoksinleri

Bu toksinler, 1816 yılında *A. tenuis* ile tanımlanmıştır. *Deuteromycota* fungi grubundadır. *Deuteromycota* cinsiz fungi anlamına gelir. Seksüel spora sahip olmamasından dolayı bu şekilde tanımlanır. *Alternaria* türü, selülozu enerji için glukozaya parçalar (selulolitik). Her türlü bitki üzerinde gelişerek, çürüten organik maddelerle beslenen organizmalar arasındadır. Birçok *Alternaria* canlı bitkilere sığırayabilir. *Alternaria* cinsinin pek çok türü, mikroflorasının doğal bileşenleri olarak toprağa yayılmış haldedir. Dünya genelinde, havada da "hava sporları"nın önemli bir parçası olarak bulunurlar [39]. *Alternaria* türleri bitkilerin havayla temas eden kısımlarına doğal yollarla bulaşır ve çürüten maddeden kolaylıkla ayrılabilirler. Türlerin çoğu tarlada hasar yaratabilecek bitki patojenleridir [40]; geri kalanlar çok çeşitli meyve ve sebzelerin hasat sonrası patojenleridir [42,43].

Bu cinsin 100'den fazla türü olduğundan dolayı da yoğun bir adlandırma sorunu yaşanmaktadır [42,43-48]. Aseksüel spor boyutu ve şekli *Alternaria* türlerinin ayırımında temel alınan ölçütlerdir [42]. Ama üç boyutlu sporlanma deseninin üzerinde de durulmaktadır [49]. Bu geleneksel morfolojik ve fizyolojik özelliklere ek olarak mikotoksinlerin ve *Alternaria* tarafından üretilen diğer metabolitlerin *Alternaria* türlerinin ayırdedilmesine yardım edeceği düşünülmektedir [49].

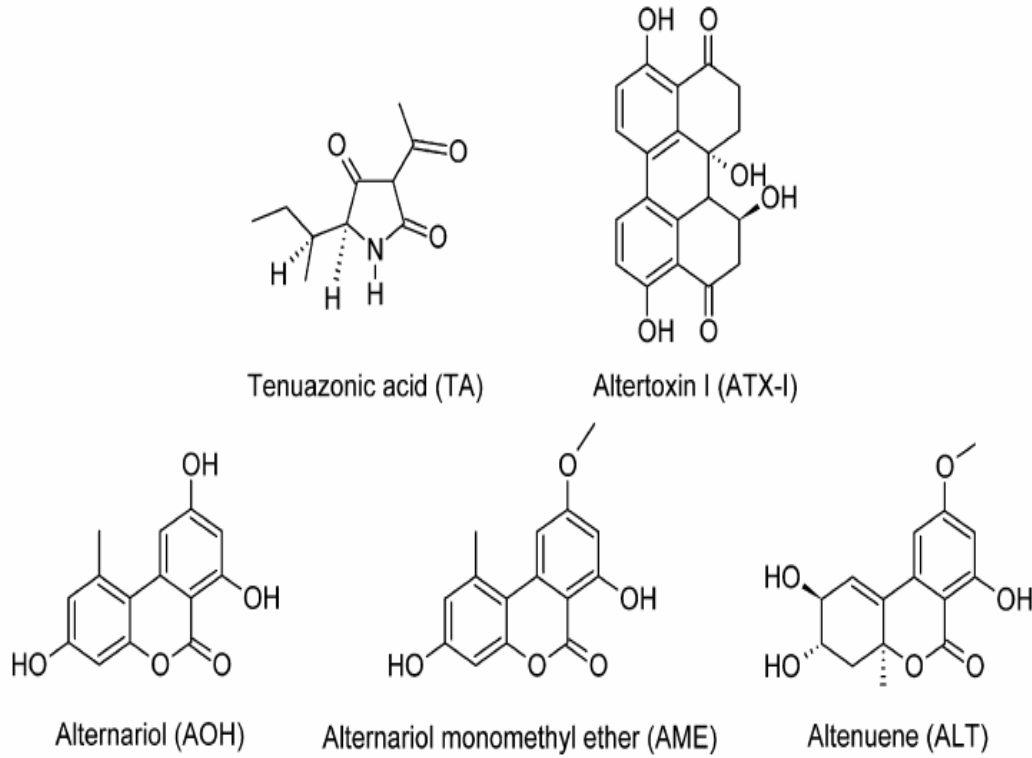
Tarım ürünleri arasında en yaygını olarak kaydedilen *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler genellikle kolektif bir mantar grubu veya çözümlenenememiş bir tür grubu olarak bilinir; önceleri *A. tenuis* Nees *auct* olarak bilinmekteydi. Bu tür, gıda ve yem ürünlerinde safrofit olarak bilinir. Ama hasat edilen meyve ve sebzelerde soğuk havada ve aktarım sırasında büyüme kapasitesine sahip ve hasat sonrası ekonomik kayıp yaratan yaygın bir patojen olarak da tanınır [42].

Meyve ve sebzeleri hastalık oluşturmak suretiyle çürüten *Alternaria* türleri henüz değerlendirilmemiş olan pek çok patogeneze evresinde çeşitli toksik metabolitler oluşturabilir [51].

Tenuazoik asit, alternariol, alternariol mono metil eter, alternuen ve altertoksin-I mantar enfeksiyonunu takiben meyve ve sebzelerde üretilen temel *Alternaria* mikotoksinleridir.

A. alternata en önemli mikotoksin üretici türlerden kabul edilir, başka pek çok *Alternaria* türünün de bu mikotoksinleri ürettiği bilinmektedir. Alternariol ve alternariol monometil eter *A. tenuissima*, *A. brassicae*, *A. capsici-annui*, *A. citri*, *A. cucumerina*, *A. dauci*, *A. kikuchiana*, *A. longipes*, *A. porri*, *A. solani* ve *A. tomato* tarafından da üretilir. Altertoksin I ve ilgili perilen türevleri altertoksin II ve III de *A. tenuissima*, *A. mali*, *A. radicina* ve *A. tomato* tarafından üretilir [51].

Alternaria mikotoksinleri enfekte olmuş meyve ve sebze de doğal yollarla üreyebilir ve *Alternaria* enfeksiyonu soğutma (buzdolabında saklama) altında bile gerçekleşebileceği için bu mikotoksinler günlük gıdalarımızdaki toksik kirleticiler olarak sayılabilir. Şekil 1’de *Alternaria*’ya ait bazı toksinlerin kimyasal formülleri verilmiştir.



Şekil 1. Tenuazonik asit (TA), Alternariol (AOH), Alternariol mono metil eter (AME) ve Alternuene (ALT)'nin kimyasal yapısı

1.3.1 *Alternaria* Türlerinin Meyve ve Sebzelerde Patojen Olarak Önemi

Alternaria'nın büyümesi için optimal sıcaklık 22–28°C'dir. Bu sıcaklık mantarın pek çok iklim bölgesinde oda sıcaklığında büyümesini sağlar. Fakat, *Alternaria* aynı zamanda düşük sıcaklıklarda da büyüebilir ve en düşük gelişme sıcaklığı 3°C'dir [51]. Bu da soğutma esnasında mantarın bozulmada nasıl etkili olduğunu, 0°C'de saklanan lahana, kereviz ve diğer sebzelerin dışında 0°C ve altı sıcaklıklarda saklanan elma kültürlerinde de geliştiğini gösterir. 8-12°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklanan domatesler soğuk semptomları görülmeden bile önce *A. Alternata*'ya karşı aşırı derecede hassastır. Benzer şekilde tatlı biberler 7°C'nin altında hasar görür ve *Alternaria* çürümesine eğilimli hale gelir, ve tatlı patatesler 10°C'nin altında saklandıklarında *Alternaria* gelişimine eğilimli hale gelebilir [42].

Hasat edilmiş ürüne saldıran en yaygın tür olan *Alternaria alternata*, genellikle konukçu bitkiye direkt olarak bitki kütikulası veya epidermisinden giremez; içeri girmek için kaliks yarası veya yaralı bir dokuya ihtiyacı vardır. Hasat ve toplama sırasında *Alternaria* için böyle ortamlar sık sık oluşur. Enfeksiyonun kaliks yarasında başladığı,

domates, biber ve patlıcan gibi Solanaceae ailesine ait sebzelerde yaygın görülen bir patojendir [42,53,54]. Gövde yarasının ucunda görülebilen başlangıç aşamasındaki enfeksiyonlar, meyvelerin soğuktan zarar görmesi, güneş yanıklığı, aşırı olgunluk ve fazla saklama süresi gibi zayıf düşürücü durum veya koşullara maruz kalmaması durumunda pasif kalabilir. *A. alternata*'nın toplanan domateslerde yaygın görülmesi incelendiğinde tipik domates siyah lezyonlarından toplanan izolatlarda yüksek derece genetik çeşitlilik bulunduğu görülmüştür [55]. Yakın bir zamanda *A. alternata*'yı incelemek için beş DNA göstergesinin izolasyonu ve şekillendirilmesi tanımlanmıştır [56]. Gösterge polimorfizmi 64 *A. alternata* izolatında görülmüş ve bu türün izolatları arasında nüfus genetiği ve ilişkilerin incelenmesinde yararlı olabileceği düşünülmüştür.

A. alternata'ya ek olarak *A. tenuissima*, *A. arborescens* ve *A. longipes* türleri de domateslerin hasat sonrası bozulmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. [57-60]. Danimarka'da yapılan bir çalışmada *A. tenuissima* küflü domateslerde en yaygın mantar türü olarak bulunmuştur [58].

Alternaria alternata ana giriş yolları gövde yarası veya kabuk yaralanmaları olan, kabakgillerde bulunan yaygın bir hasat sonrası patojenidir. Salatalık, balkabağı ve karpuz genellikle güneş yanıklığı, soğuktan zarar görmesi, veya uzun süreli saklamayla zayıfladıktan sonra enfekte olur [61].

Alternaria radicina ve *A. dauci* havuç köklerine, özellikle kırık ve çatlakları olanlara saldırabilir [60]. Hasat ve toplama sırasında *A. alternata* sporu bulaşan patates yumruları özellikle mekanik hasat zamanında oluşan yaralanmalara eğilimlidir [62].

Alternaria alternata çekirdekli meyvelerde hasat sonrası görülen yaygın patojenlerdendir. Genelde meyve yüzeyinde bulunan mantar sporları tercihen hasat ve toplama sırasında oluşan yaralardan içeri girer [42]. Çoğu çekirdekli meyvede mantar ayrıca açık kalikslerde oluşan ayıklardan da içeri girebilir, ve kirazlarda içeri giriş meyve hala ağaçtayken de olabilir [63]. Elmada *Alternaria* çekirdek çürümesi sıklıkla *A. alternata*'yla ilişkilendirilse de Güney Afrika'da yapılan son çalışmalar *Alternaria* izolatlarının *A. infectoria*, *A. arborescens* ve *A. tenuissima* türlerinin tümünün bu hastalıkla ilişkili olduğunu göstermiştir [64]. *A. infectoria* türlerinin sporlanma modellerine göre sınıflandırılması ve kültür, biyokimyasal ve genetik bilgileri *A. arborescens* ve *A. tenuissima* türleri ayrılımlarını sağlamıştır. Çünkü son iki tür-grup genellikle birlikte

kümelenir. Bu çalışma ayrıca “Top Red” türü elmaların kök çürümesi hastalığında etkili olan temel patojenlerin *A. tenuissima* türüne ait olduğunu göstermiştir [64].

Japon hurması bitkilerine *A. alternata* girişi genelde kaliksin altında oluşan küçük çatlaklar yoluyla olur. Gelişen meyvelere doğrudan giriş büyüme döneminde olabilir ama enfeksiyon pasif kalır ve etkisini ancak meyve olgunlaşıp hasat edildikten sonra gösterir [65]. Bu zayıf patojen kivi meyvesinde meyve yüzeyinde büyüyebilir ama temel bir patojen olarak görülmemektedir [66].

Alternaria alternata, enfeksiyonun genelde gövde sonunda başladığı üzümelerde bulunan önemli bir hasat sonrası patojenidir [67]. Şaraplık üzümelerde görülen ve Arjantin’de toplanan meyvelerin yüzde 80’inde kaydedilen önemli bir patojendir [68]. Çilek ve ahududular için bu mantarın pek önemi yoktur ama yabanmersini ve beктаşi üzümlerinde bulunan temel patojenlerden sayılabilir [53,69].

Alternaria alternata girişin kovucuklar vasıtasıyla olduğu yaygın bir mango patojenidir ama enfeksiyon olgunlaşma başlangıcı, hasat sonuna kadar sessiz kalır [70]. Mantar ayrıca papaya meyvelerine özellikle uzun saklama sonrası bulaşabilir [42]. Limon meyvesinin hasat sonrası çürümesi kabuk yaralarıyla ilişkilendirilir [71,72]. Limon meyvelerinin gövde sonu patojenlerinden biri olan *A. citri* genelde gövde sonu veya meyvenin altında bulunur. Fakat, enfeksiyon sadece meyve hasarlı ise veya olumsuz büyüme koşulları nedeniyle fizyolojik olarak zayıflamışsa gerçekleşebilir [73].

Alternaria alternata, zeytinleri genelde meyveleri olgunlaştıktan sonra toprakta uzun süre kalırsa etkiler [74]. Düşük sıcaklık ve diğer olumsuz koşulların yarattığı yüzeysel hasar daha sonra miselyum gelişiminin olacağı meyve küspesine mantar girişinin temel koşuludur [55,74].

1.3.2. *Alternaria* Mikotoksinlerinin Üreticileri

Büyük çoğunluğu fitotoksik bileşikler olarak bilinmesine rağmen, *Alternaria*’nın 200’den fazla sekonder metaboliti vardır ve bunlardan sadece dörtte biri hayvan ve insanlarda mikotoksin olarak etki gösterir [51].

Hasat edilen meyve ve sebzelerde bilinen en yaygın *Alternaria* türü olan *Alternaria alternata* en önemli mikotoksin üretici türdür. Değişik yapısal sınıflara ait çok sayıda mikotoksin üretir; bunlardan beşi temel bileşik benzopiron türevleri olan alternariol ($C_{14}H_{10}O_5$), alternariol mono metil eter ($C_{15}H_{12}O_5$) ve altenuen ($C_{15}H_{16}O_6$); tetramik

türevler olan tenuazonik asit ($C_{10}H_{15}NO_3$), ve perilen türevleri olan albertoksin-I ($C_{20}H_{16}O_6$)'dir. [75]. Fakat, diğer *Alternaria* türleri de çeşitli mikotoksinleri üretme kapasitesine sahiptir. Buna göre, alternariol ve alternariol monometil eter *A. tenuissima*, *A. brassicae*, *A. capsici-annui*, *A. citri*, *A. cucumerina*, *A. dauci*, *A. kikuchiana*, *A. longipes*, *A. porri*, *A. solani* ve *A. tomato* tarafından da üretilebilir [58,59,76]. Albertoksin I ve ilgili perilen türevleri albertoksin II ve III de *A. tenuissima*, *A. mali*, *A. radicina* ve *A. tomato* tarafından üretilir [76].

A. alternata genelde domateslerde önemli bir patojen olarak kabul edilmiştir [42,57]. Doğal yolla enfekte olmuş domateslerdeki mikotoksinlerin incelenmesi sonucunda aynı kaynaktan üreyen 22 *Alternaria* izolatının *A. tenuissima* tür-grubundan henüz belirlenemeyen taksonlara ait olduğu görülmüştür [58].

Domates lezyonlarından alınan dört adet *A. tenuissima* örneğinin toksik metabolitlerinin inceleyen araştırmacılar tümünün tenuazonik asit, üçünün de alternariol ve albertoksin I ürettiğini göstermiştir [58]. Başka bir alternariol türü olan *A. tenuissima*, albertoksin *A. tenuissima* türlerinin ikisi tarafından üretilmiştir. Fitotoksin olarak kabul edilen tentoksin metaboliti de domates lezyonlarından izole edilmiştir [58,77].

1.3.3. *Alternaria* Mikotoksinlerinin Toksik Etkileri

Combina vd., [78] tarafından yapılan bir araştırmada mantarla 28 gün boyunca beslenen sıçanların karaciğer ve böbrekleri üzerinde, *A. alternata* mikotoksinlerinin önemli ölçüde hasara yol açtığı gösterilmiştir. *A. solani* tarafından üretilen alternariol monometil eter, intraperitoneal olarak 200 ppm VA (vücut ağırlığı) ile hamsterlara uygulandığında toksik bulunmuştur; fakat 50 veya 100 ppm va dozunda uygulandığında hiçbir etki görülmemiştir [79]. Genelde birlikte görülen alternariol ve alternariol monometil eterin mutajenik olduğu görülmüştür [79]. Albertoksin I, II ve III'lerin *Salmonella tifimuryuma* mutajenitesi Stack ve Prival tarafından gösterilmiştir [80]. Bu üç mikotoksinde albertoksin III en mutajenik bileşik olarak bulunmuştur.

Sağlık açısından önemli bir konu da tahıl tanelerinin *A. alternata* kontaminasyonu ve Çin'de yüksek seviyelerde görülen özafagus kanseri arasındaki ilişkidir [81]. Gıdaya alternariol üreten türlerin bulaşmasının özafagus kanseriyle ilişkisi olduğunun açığa çıkması alternariola maruz kalma konusunda endişe yaratmıştır [82]. Lehmann vd., [83] alternariolun östrojenik potansiyeli, hücre çoğalması üzerinde engelleyici etkilerini ve

kültürlenmiş memeli hücrelerindeki genotoksik etkisini bildirmiştir. Alternariolun kültürü yapılmış memeli hücrelerdeki mutajenitesini inceleyen Brugger vd., [82] bunun karsinojeniteyi etkileyebileceğini bildirmişlerdir.

Tenuazonik asit, mikotoksinin *in vitro* (laboratuvar ortamında ya da yapay koşullarda) üretimi ve kültürlerin laboratuvar hayvanları arasındaki pozitif ilişkisi bakımından *Alternaria* tarafından üretilen en önemli toksik bileşik olarak bilinmektedir [84]. Tenuazonik asit köpekler dahil pek çok hayvan için toksiktir ve günlük 10 ppm ve dozunda alındığında birçok organda kanamaya yol açar ve tavuklarda aynı dozda subakut toksisiteye yol açar [72]. Günlük 25 ppm ve ile 10 ay boyunca tenuazonik asit ile beslenen farelerin özofagus mukozasında prekanseröz belirtiler bulunmuştur [85]. Tenuazonik asitin Afrika’da görülen hematolojik bir hastalığın muhtemel etkisi tartışılmaktadır [57].

Tenuazonik asit ayrıca pek çok bitki, mantar, bakteri ve virüs için toksiktir ve çeşitli *Alternaria* türleri tarafından üretilen bir fitotoksin olarak kabul edilir [57,86].

Altartoksin I ve II’nin toksisiteye yol açabilir ve alternariol ve alternariol mono metil eterden daha tehlikeli mutajenler olarak bilinir [79,87,88]. Aslında daha çok bu toksinlerin mutajenik faaliyetleri ilgi çekmiştir.

Mikotoksin üretimi mantar türü, üzerinde büyüdüğü substrat ve çevresel büyüme koşullarına bağlıdır. Çoğu *A. alternata*’ya ait olan *Alternaria spp.*’nin değişik izolatlarının karışık sıvı ortamı ve katı pirinç ortamında alternariol ve alternariol mono metil eter ürettiği bildirilmiştir [88]. Toksin üretimi izolata göre değişse de her izolatanın üretimi kültür ortamına bağlıdır. En yüksek toksin miktarı, toksin seviyelerinin alternariol için 21- 53 ppb ve alternariol mono metil eter için 70- 417 ppm olduğu pirinç kültürlerinden elde edilmiştir. *A. alternata*’nın *in vitro*, sentetik veya yarı sentetik sıvı ortamda kültürünü yapan Wei ve Swartz alternariol, alternariol mono metil eter ve altenuenin büyümenin sonraki aşamalarında sentezlendiğini ve yarı sentetik ortamda daha fazla toksin seviyelerinin görüldüğünü belirlemişlerdir [89]. Mantarın iki ortamda değişen etkinlik seviyeleri ve ortamın mantar büyümesi sırasındaki pH’ı arasında bir ilişki bulunmuştur: sentetik ortamda pH 4’ten pH 2.1’e düşüş ve yarı sentetik ortamda pH 5.1’den pH 6.8’e artış kaydedilmiştir [89]. Yarı sentetik bir ortamda, C/N (karbon/azot) oranını 2:1’den 6:1’e değiştiren ortam içindeki karbon kaynağı (glukoz) seviyelerindeki azalmanın, hem mantar büyümesini hem de toksin üretimini oldukça artırdığı görülmüştür [89]. Sentetik ortamda bir *A. alternata* izolatu için farklı optimal sıcaklıklar kaydedilmiştir. Bu sıcaklıklar

alternariol ve alternariol mono metil eter için 28°C, tenuazonik asit için 21°C ve albertoksine-I ile albertoksine-II için 14°C'dir [90].

Sıcaklığın mikotoksin üretimi üzerindeki etkisi enfekte olmuş meyvelerde de araştırılmış ve sonuçta *A. alternata* büyümesinin ve toksin üretiminin 4 ve 25°C arası çok çeşitli inkubasyon sıcaklıklarında olduğu görülmüştür. 25°C'de, daha düşük sıcaklıklara oranla daha çok toksin üretilse de, dört hafta boyunca 15°C'de saklanan domateslerde 1206 mg/g kadar alternariol konsantrasyonları ve 637 mg/g kadar alternariol mono metil eter bulunduğu kaydedilmiştir. Uzun süreli saklama sonrasında (özellikle 25°C'de) *A. alternata* ile enfekte olan domateslerin alternariol ve alternariol mono metil eter miktarlarında düşüş olduğu tespit edilmiştir. Özçelik vd., [91] tarafından yapılan çalışmalar alternariol ve alternariol mono metil eterin *A. alternata* kontaminasyonundan sonra domateslerde oluşan temel mikotoksinler olduğunu göstermiştir. Yapılan çalışmada üç hafta sonra 25°C'de domates ve elmalardaki toksin seviyelerini karşılaştırarak; en yüksek alternariol konsantrasyonunu ise sırasıyla 1161 ve 372 ppm olarak ve aynı koşullarda en yüksek alternariol mono metil eter konsantrasyonunu sırasıyla 323 ve 32 ppm olarak kaydetmişlerdir (Tablo 3).

Elmalarda değişik sıcaklıklarda *A. alternata* mikotoksinlerinin üretim miktarlarını değerlendiren Vinas vd., [84] meyvelerin %47'sinin sırasıyla alternariol ve alternariol mono metil eter ürettiği ve %38 den fazlasının her iki toksini de eş zamanlı ürettiği gözlenmiştir. *A. alternata* türlerinin, 2°C'de saklanan elmalarda bile büyüme ve mikotoksin üretme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir.

Alternaria mikotoksinlerinin doğal enfeksiyon koşulları veya inokülasyonu takiben üretimi pek çok meyve ve sebzede araştırılmıştır. Mikotoksin oluşumu domateslerde, elmada, yabamersininde, üzüm ve kurutulmuş asma meyvelerinde, portakal ve limonda, mandalinde, zeytinde, fındıkta ve pekan cevzinde gözlenmiştir [58,74,84,91-100]. Fakat çeşitli niceliksel ve niteliksel araştırmalar meyvelerde *Alternaria* toksijenisinin sadece mantar türüne bağlı olmayıp aynı zamanda ev sahibi meyve veya kültüre göre ve mikotoksinin ev sahibi meyvede sentezleneceği koşullara göre de değiştiğini göstermiştir.

Alternaria ile inokule olan domates ve elmalarda tenuazonik asit saptamayan Özçelik vd., [91] (Tablo 3) aksine Harwig vd., [92] tarafından yapılan önceki çalışmalar *A. alternata*'nın toksijenik izolatlarıyla inokule olan ham domateslerin tenuazonik asit seviyesinin 106 ppm kadar olabileceğini göstermiştir. Ketçap üreticilerinin işleme

ünitelerinden toplanan küflü domateslerle yapılan bir araştırmada, Stack vd., [97] 142 örnekten 69'unun tenuazonik asit içermediğini, 28'inin 1.9 ppm ve 45'inin 70 ppm kadar tenuazonik asit içerdiğini belirlemiştir (Tablo 3).

İtalya'nın güneyinde toplanan doğal yolla enfekte olan domateslerde üreyen temel *Alternaria* mikotoksini olarak, tenuazonik asit 7.2 ppm'e varan miktarlarda tespit edilmiştir. Alternariol ve alternariol mono metil eter için daha düşük seviyeler kaydedilmiştir [101]. Altenuen de, test edilen her meyvede bulunan bir benzopiron türevidir ve çok az miktarda görülür (Tablo 3) [102].

Stinson [93] tarafından yapılan çalışmalar doğal yolla enfekte olmuş ve inokule edilen domateslerin tenuazonik asit seviyesinin sırasıyla 139-1373 ppm olduğunu göstermiştir. İnokulasyon araştırmaları sonunda *Alternaria* mikotoksinlerinin çeşitli meyvelerde potansiyel olarak bulunduğu görülmüştür. Bu yüzden yaban mersinlerinin, çürük yabanimersininden izole edilen *A. alternata* ile inokulasyonu sonrası tenuazonik asit oluştuğu görülmüştür (2025 ppm'e kadar). Her ne kadar doğal enfeksiyon koşulları altındaki domateslerde albertoksin-I bulunmasa da, domateslerde *A. alternata* ile inokulasyon sonrası albertoksin-I üretimi potansiyeli gözlenmiştir. Portakal ve limonlarda tenuazonik asit üretimi, meyvelerin *A. citri* ile inokulasyonundan sonra sırasıyla 61.1 ve 48.8 ppm olarak kaydedilmiştir. İnokule edilen limon ve portakallarda sırasıyla 41 ve 2.8 ppm kadar alternariol ve alternariol mono metil eter de üretilmiştir. İnokule edilen limon ve portakalda üretilen mikotoksinlerin önemini inceleyen Stinson vd., [93] her ne kadar genel mikotoksin içeriği portakallarda daha fazla olsa da her iki meyvede de benzer üretim modelleri bulmuşlardır.

Logrieco vd., [99] tarafından mandalinlerin doğal siyah veya gri "kalp çürüğü"nden izole edilen iki farklı *A. alternata* türü sadece pigmentasyon açısından değil aynı zamanda mikotoksin üretim kabiliyeti açısından da farklı bulunmuştur. Siyah çürük örnekleri tenuazonik asit, alternariol ve alternariol mono metil eter içermektedir. Bunların arasında tenuazonik asit en çok bulunandır ve 173.9 ppm ile gri çürük örneğinde bulunan tek toksindir (Tablo 1).

A. alternata'nın "Red Delicious" elmalarda mikotoksin üretme potansiyelini inceleyen Singh ve Geeta Sumbaly [102], *A. alternata* izolatlarının %83'ünün inokule edilen elmalarda en yüksek seviye 96 ppm olmak üzere tenuazonik asidi temel mikotoksin

olarak ürettiğini bulmuştur (Tablo 3). Çürümüş elma dokularında veya çevresinde ölçülebilir oranda alternariol ve altertoksin-I bulunmamıştır [103].

A. alternata üzerinde çalışan Tournas ve Stack [97], mantar ve mikotoksinlerinin, *Rhizopus* ve *Botrytis* gibi hızla büyüyen küflerin *Alternaria*'dan çok olmaları ve gelişimini engellemelerinden dolayı çileklerde sorun yaratmadığını belirtmişlerdir. Hızla büyüyen küflerin varlığına rağmen elmalarda her iki *Alternaria* türünün büyümesi kısıtlıdır. İnokule edilen 'Golden Delicious' ve 'Gala' elmalarında bir *A. alternata* türü tarafından sırasıyla 5 ve 14 ppm kadar alternariol ve alternariol mono metil eter üretilmiştir. Yine Tournas ve Stack [97] Tablo 3'de üzümde alternariol ve alternariol mono metil eter üretimiyle beraber sırasıyla 3336 ppm ve 1716 ppm oranlarında orta derece *Alternaria* mikotoksini kaydetmişlerdir.

A. alternata izolatlarının farklı substratlardan elde edildiği benzer bir çalışmada 8 izolat havuç, maydanoz ve sap kerevizinde analiz edilmiştir. Araştırmacılar izolatların hepsinde AOH, AME ve TEA olduğunu fakat bunlardan bir izolatta 9722 ppm ve üzerinde fazla miktarda TEA üretildiğini de tespit etmişlerdir [104].

Havuçtan elde edilen *A. alternata* and *A. radicina*'nın toksijenik profilleri pirinç ve havuç disklerinde büyüyen mantardan belirlenmiştir. *A. alternata* izolatlarının çoğu pirinçe kültürlendiğinde tenuazonik asit, alternariol, alternariol mono metil eter ve altertoksin-I üretmiştir. Havuç diskleri ise sadece alternariol ve alternariol mono metil eter üretmişlerdir [103].

Havuçta *A. alternata* tarafından mikotoksin üretim potansiyeli olsa da havuç ve ürünlerinin üretimi ve saklaması sırasında havuç köklerinde *Alternaria* mikotoksinleri görülmemiştir. Tarlada ve hasat sonrasında havuç köklerini enfekte eden ve bir başka *Alternaria* türü olan *A. radicina*'nın fitotoksik etkinlik sergileyen radisin ve radisinol ürettiği bilinmektedir [63,103]. *A. radicina* tarafından üretilen radisinin Avrupa'da organik koşullarda üretilen 266 havuç örneğinden üçünde 0.16—13.9 ppm oranında bulunmuştur ama *A.alternata* mikotoksinleri hiçbir örnekte görülmemiştir [103].

Kurutulmuş asma meyvelerinde mantar tarafından mikotoksin üretimi potansiyelinin değerlendirilmesi pek çok *A.alternata* türünün tenuazonik asit üreticisi olduğunu göstermiştir [98]. Schroeder ve Cole [100] alternariolların fındıklarda doğal oluşumunu bildirilmişlerdir. İşleme esnasında fındık içinden çıkarılan renksiz fındık

mantarlarının üretimi sınırlı olmasına rağmen, fındık içi alıcıları tarafından istenmeyeceğini göstermiştir.

Temel *Alternaria* mikotoksinlerinin zeytin ve ilgili işleme ürünlerinde (yağ ve kabuk) doğal oluşumu ilk olarak Visconti vd., [74] tarafından bildirilmiştir. Zeytin yüzeyinde *Alternaria* bulunmasına rağmen, çeşitli alanlardan hasat edilen hasarsız zeytinlerin hiçbirinin mikotoksin içermediği görülmüştür toplanan 13 zeytin örneğinden 4 tanesi 2–4 *Alternaria* mikotoksini ile kontamine olmasına rağmen ağır hasarlı zeytinlerin yüksek miktarda *Alternaria* mikotoksini içerdikleri belirlenmiştir; bu zeytinlerde en fazla görülen *Alternaria* mikotoksini 2,9 ppm’lik miktarıyla alternariol mono metil olurken bunu sırasıyla 2,3 ppm’le alternariol, 1,4 ppm’le altuen ve 0,26 ppm’le tenuazonik asit izlemiştir (Tablo 3). Bu çalışma toksin üretiminin zeytinlerde muhtemelen meyve yüzeyindeki fiziksel hasarla ilişkili olduğunu; bunun meyve küspesine mantar girişini sağlayacağını ve daha sonra misel büyümesi ve toksin sentezi olacağını göstermektedir. Zeytinlerden izole edilen *A. alternata*, pirinçte çoğaldığında büyük oranda tenuazonik asit üretilmiştir: tenuazonik asit içeriği 980 ppm’e ulaşmış ve ortalama miktar ise 60 ppm’i geçmiştir. Çeşitli araştırmacılar tarafından *Alternaria* mikotoksinlerinin doğal şartlarda, meyvelerde tespit edilen maksimum miktarları Tablo 3’de verilmiştir [74].

Pek çok gıda ürünü çeşitli mantarlarla kontamine olmuş, bol miktarda taze veya kurutulmuş meyve, sebze ve bunların ekstraktlarını içeriyor olabilir. Bu durum bu gıdaları mikotoksin üretimi için iyi substratlar haline getirir. İnsanlar tarafından tüketilen bu gıdalar toksikoza neden olarak fayda yerine zarar getirebilirler [105]. *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* ve diğer genel mantarlar tarafından kontamine edilen gıda ürünleri bu yüzden ayrı çalışma gerektirmektedir.

Tablo 3. Doğal koşullar veya inokulasyon sonrası meyvelerde *Alternaria* mikotoksinleri

Mikotoksin ^a	Ürün	En yüksek toksin seviyesi (ppm)	Referanslar
TEA AOH AME	Domates ⁱ	106.00 0.0 0.8	Harwig vd., 1979
TA AOH AME ALT	Domates ⁱ	1373.0 569.0 171.0 16.0	Stinson vd., 1980
TA AOH AME ALT	Domates ⁿ	139.0 5.3 0.8 1.1	Stinson vd., 1981
TA TA AOH AME ALT	Domates ⁿ Domates ^{i,b}	70.0 0.0 1161.0 323.0 190.0	Stack vd., 1985 Ozcelik vd., 1990
AOH AME	Domates ⁿ	0.4 0.1	Giryn and Szteke, 1995
TA AOH AME	Domates ⁿ	7.2 1.3 0.3	Bottalico and Logrieco, 1998
TA AOH AME ALT	Elma ⁿ	0.5 58.8 2.3 0.5	Stinson vd., 1981
TA AOH AME ALT	Elma ^{a,b}	0.0 372.0 32.2 22.2	Ozcelik vd., 1990
TA	Elma ⁿ	9.6	Singh and Geeta, Sumbaly, 2004
AOH AME	Elma ⁱ	5.0 14.0	Tournas and Stack, 2001
AOH AME	Üzüm ⁱ	3336.0 1716.0	Tournas and Stack, 2001
TA AOH AME ALT	Yabamersini ⁱ	202.5 72.5 209.0 20.6	Stinson vd., 1980
TA AOH AME ALT	Portakal ⁱ	61.1 41.0 33.3 15.9	Stinson vd., 1981
TA AOH AME ALT	Limon ⁱ	48.8 2.8 4.4 0.5	Stinson vd., 1981
TA AOH AME	Mandalin ⁿ (Kara çürük)	87.2 5.2 1.4	Logrieco vd., 1990
TA	Mandalin ⁿ (Gri çürük)	173.9	Logrieco vd., 1990
TA AOH AME ALT ATX-I	Zeytin ^{n,c}	0.3 2.3 1.4 0.2	Visconti vd., 1986; Bottalico and Logrieco, 1993

^aALT - altenuen; AME–Alternariol mono metil eter; AOH–alternariol; ATX-I–altertoksin-I; TA–tenuazonik asit.

^b25°C’de

^cÇok hasarlı, kötü hava koşullarında kalmış veya küflü zeytin örneği.

ⁱİnokulasyon sonrası

ⁿDoğal koşullarda

Saklanan “Red Delicious” türü elmalarda küflü çekirdek hastalığında mikotoksin üretimini inceleyen Robiglio ve Lopez bu hastalığın en yaygın patojenik nedeni olan *A.alternata*’yı izole etmiştir [106]. İzolatların çoğu meyvenin tümünde alternariol ve alternariol mono metil eter üretmiştir. *Alternaria* mikotoksinlerinin inokule edilen meyvenin çürük kısımlarından etraftaki sağlıklı dokulara transferi üzerine yapılan çalışmalar toksinlerin sadece bol miktarda mantar ipliği içeren toksik alanla sınırlı kalmayıp etraftaki dokulardan da izole edilebileceğini göstermektedir; yalnız karşılaştırma yapıldığında toksin seviyelerinin daha düşük olduğu görülmüştür [106]. Dahası, mikotoksinler *A. alternatanın* miselyumsuz filtrelerinden elde edilen sıvı kültürlerinde ve inokule edilen meyvelerin asemptomatik dokularında da bulunabilir. Bu yüzden meyve dokularında *A. alternata* mikotoksinlerinin bulunması mantar miselyumu olmasa bile muhtemeldir.

Alternaria mikotoksinlerine çeşitli işlenmiş meyvelerde: domates ürünleri, elma suyu, elma suyu konsantresi, üzüm suyu, ahududu suyu, erik kurusu ve kıvılcık nektarı rastlanmıştır [96,107-115]. Alternariol seviyeleri 1.35 ve 5.42 ng/ml arasında değişmiştir ve alternariol mono metil eter düşük miktarda sıklıkla görülmüştür, en yüksek konsantrasyon bir örnekte 1.71 ng/ml olarak kaydedilmiştir. Alternariol ve daha az oranda alternariol monometil eter ticari amaçla sulandırılmış elma suyu üretiminde kullanılan elma suyu konsantrelerinde doğal olarak bulunmuştur [114].

Alternariolun dokuz elma suyu örneğinde ve üzüm suyu, yabanmersini suyu, kıvılcık nektarı, kuru erik nektarı ve kırmızı şarap gibi diğer meyve içeceklerinde doğal oluşumunu onaylayan Lau vd., [113], alternariolun 6 ng/ml seviyelerinde görüldüğünü ve kuru erik nektarının ayrıca 1.4ng/ml oranında alternariol mono metil eter içerdiğini ortaya koymuştur. Şaraplarda *Alternaria* mikotoksinlerini inceleyen Scott vd., [115], 17 yerel Kanada kırmızı şarabından 13’ünde 0.03—5.02 oranında ve yedi ithal kırmızı şarabın tümünde 0.27—19.4 ng/ml seviyesinde alternariol bulmuştur; buna genelde daha düşük seviyede alternariol mono metil eter eşlik etmiştir. Beyaz şaraplarda sadece iki mikotoksin az miktarda tespit edilmiştir (1.5 ng/ml). Bunların her ikisi de şarapta sabit bulunmuştur.

Ayrıca kırmızı şarapların 10 örneğinden 5'inde 39 ng/ml alternariol mono metil eter içeren bir örnek haricinde ve beş kızılçık suyu örneğinin birinde iki mikotoksin alt seviyelerde gözlenmiştir. Beyaz üzüm sularında hiç toksin bulunmamıştır [116].

Alternaria türleri doğal olarak fark edilmeleri için domateslerin hasat sonrası patojenlerinde yaygın olarak görülürler. Bu yüzden domates ürünlerinde *Alternaria* mikotoksinlerine oldukça sık rastlanmaktadır [107,109-111]. Scott ve Kanhere [111] tarafından domates salçasında 100 ng/g oranında tenuazonik asit ve Fente vd., [109] tarafından domates salçasında 196 ng/g oranında alternariol ve 0% altenuene ve tenuazonik asit bulunmuştur. Zeytinyağından izole edilen *A. alternata* türleri zeytin değil de pirinç ortamında yetiştirildiğinde daha yüksek seviyede mikotoksin üretmiştir. Meyve suları ve diğer meyve ürünlerinde tespit edilen *Alternaria* mikotoksinlerinin seviyeleri Tablo 4'de verilmiştir.

Motta ve Soares [110] 22 domates salçası örneğinden 2'sinde 36—117 ng/g'de ve 22 domates küspesi örneğinden 6'sında 29–76 ng/g 'de tenuazonik ve siklopiazonik asidin birlikte bulunduğunu kaydetmiştir. Ne alternariol mono metil eter ne de alternariol domates salçalarında görülmemiştir. Domates ürünlerinde tenuazonik ve siklopiazonik asit varlığının, işleme prosedüründe çürük domates kullanımına işaret edebileceği düşündürmektedir.

Enfekte olmuş meyve ve sebzelerin genel tehlikelerini daha açık şekilde görebilmek için *Alternaria* mikotoksininin genel olarak incelenmesi gerekir çünkü bitki ve hayvan toksititesi arasında pozitif bir ilişki olabilir. Saflaştırılmış *Alternaria* toksinleri hakkında daha fazla toksikolojik çalışmaya gerek duyulmaktadır; olası karsinojenik faaliyetler de araştırılmalıdır. Toksinleri ya tek tek ya da kombinasyon olarak (bazı meyvelerin uzun süre saklanması sırasında doğal olarak oluşarlarda olduğu gibi) inceleyerek insanların *Alternaria* mikotoksinlerine maruz kalma oranının tahmin edilmesi gereklidir.

İnsanların tüketimine yönelik meyve ve sebzelerde *Alternarianın* sık bulunması ve meyvelerinin en önemlilerinde (domates ve elma gibi) görülen yüksek toksitise seviyeleri düşünüldüğünde, hem toplanan ürünlerin saklanması ve aktarımı hem de ürün türevleri hakkında daha fazla toksikolojik çalışma gerektiği açıktır. İnsanların bu tehlikelere maruz kalma derecesini saptamak ve bunu engellemek için meyve suyu ve diğer meyve türevi ürünlerinin sıkı takibi gereklidir.

Bu araştırmanın amacı, *Alternaria* türleri tarafından üretilen alternariol, alternariol mono metil eter ve tenuazonik asidin piyasada satılan elma suyu, domates suyu ve domates salçalarında tespit edilerek, mikotoksin içeren ürünlerde miktar tayininin yapılmasıdır.

Tablo 4. Meyve suyu ve diğer meyve ürünlerinde *Alternaria* mikotoksinlerinin içeriği

Mikotoksin	Ürün	En yüksek toksin Seviyesi (ppm)	Referanslar
TA	Domates salçası	100.0	Scott and Kanhere, 1980
TA	Domates küspesi	111.0	Da Motta and Soares, 2001
TA	Domates püresi	76.0	da Motta and Soares, 2001
AOH	İşlenmiş elma ürünleri	Traces	Giryn and Szteke, 1995
AOH	İşlenmiş elma ürünleri	5.4	Delgado and Go'mez-Cordove's 1998
AME	Elma suyu konsantresi	1.7	Lau vd., 2003
AOH		2.4	
AME		0.4	
AOH	Ahududu suyu	0.8	Lau vd., 2003
AME		ND	
AOH	Erik kurusu nektarı	5.5	Lau vd., 2003
AME		1.4	
AOH	Kızılcık suyu	ND	Lau vd., 2003
AME		ND	
AOH	Kızılcık nektarı	5.6	Lau vd., 2003
AME		0.7	
AOH	Üzüm suyu	1.6	Lau vd., 2003
AME		0.2	
AOH	Kırmızı üzüm suyu	<1.5	Scott vd., 2006
AME		<1.5 ^b	
AOH	Kırmızı şarap	1.9	Lau vd., 2003
AME		ND	
AOH	Kırmızı şarap	5.0	Scott vd., 2006
	Kırmızı şarap	19.4	
AOH	Zeytin yağı	793.6	Visconti vd., 1986
AME		285.7	

AME–Alternariol mono metil eter; AOH–alternariol; TA–tenuazonik asit.

^bBir örnekteki 39 ng/ml haricinde

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Gıda Örneklerinin Temini

Çalışmada *Alternaria* toksinlerinin incelenmesi amacıyla 1 kg'lık ambalajda 10 farklı marka domates salçası, 1 litrelik ambalajda 10 farklı marka domates suyu ve 1 litrelik ambalajda 10 farklı marka elma suyu olmak üzere toplam 30 adet gıda örneği deney materyali olarak kullanıldı. Deney materyalleri Elazığ, Malatya, Antalya, Ankara ve İstanbul illerindeki çeşitli marketlerden Şubat 2008'de paketlenmiş orijinal ambalajları içerisinde son kullanma tarihi geçmemiş olarak satın alınarak 7 günlük çalışma süresi boyunca saklama koşullarına uygun olarak serin ve kuru yerde muhafaza edildi.

2.1.2. Standartların Temini

Alternariol, (*Alternaria* sp.), Alternariol mono metil eter (*Alternaria alternata* (tenuis)), Tenuazonik asit (*Alternaria alternata*) standartların her biri, Sigma St. Louis MO USA firmasından, Şubat 2008 de kapalı teneke kutu içerisindeki özel ambalajlarla paketlenmiş olarak satın alınarak, serin ve kuru yerde muhafaza edildi.

2.1.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar, Çözücü Maddeler ve Sarf Malzemeler

Çalışmada kullanılan cihaz ve modelleri aşağıdaki gibidir;

- a) **HPLC** : SPD-10A VP Shimadzu, Kyoto Japan.
- b) **Pompa** : LC-10ADVP. Kyoto Japan.
- c) **UV dedektör** : SPD-10AVP.
- d) **Kolon** : Inertsil ODS-3 150mm X 4.6mm ID 5µm
- e) **Kolon Fırını** : CTO-10ASVP.
- f) **Oto sampler** : SIL-10ADVP.
- g) **Degasser** : DGU-14AVP.
- h) **Blender** : Bosch GGS 27C 12000-27000 devir/dk.
- i) **Hassas terazi** : Sartorius BL-120S.
- j) **Çalkalayıcı etüv** : Gerhardt Thermoshake 500.
- k) **Manyetik çalkalayıcı** : ISOLAB Hotplate Stirrer.
- l) **Buzdolabı** : Vestel çift kaplılı no frost, white RT 455 HG-RT455.

Çalışmada kullanılan çözücü maddeler ve temin edildiği firmalar aşağıdaki gibidir;

- a) Metanol (CH₃OH) :** Merck, Darmstadt, Germany 2008.
- b) Çinko Sülfat (ZnSO₄) :** Merck, Darmstadt, Germany 2008.
- c) Amonyum sülfat [(NH₄)₂ SO₄] :** Merck, Darmstadt, Germany 2008.
- d) Sodyum sülfat (Na₂SO₄) :** Merck, Darmstadt, Germany 2008.
- e) Kloroform (CHCl₃) :** Merck, Darmstadt, Germany 2008.
- f) Saf Su :** GFL 2002 saf su cihazından elde edilmiştir (Saf su iletkenlik değeri 20°C'da 1.6 µs/cm , 2.1 µs/cm , 2.3 µs/cm pH 7.1). Gerekli su basıncı 2,5 - 7 bar.

Çalışmada kullanılan sarf malzemeler aşağıdaki gibidir;

- a) Filtre kağıdı :** Grade 388 d=125 mm 80 g/m²
- b) Ayırma hunisi :** 5 adet 500 ml, 5 adet 250 ml İldam.
- c) Beher :** 250 ml 70 adet ILMABOR-TGI.
- d) Dereceli pipet :** 5 adet 2 ml, 5 adet 5 ml, 5 adet 10 ml ISOLAB.
- e) Otomatik pipet :** 0.1 µl - 2,500 µl, Eppendorf.
- f) Mezür :** 500 ml 5 adet, 250 ml 5 adet, 100 ml 5 adet Labware S&H.
- g) Erlen :** 500 ml 70 adet ILMABOR – TGI.
- h) Vial :** 2ml/ 12 mm × 32 mm × 6.0 mm.
- i) Otomatik pipet ucu :** 2-20 µl.

2.2. Metot

2.2.1. Alternariol (AOH) Standardının Hazırlanışı

5mg. Alternariol (C₁₄H₁₀O₅) standardı ile 300mg ZnSO₄.H₂O karışımı %80'lik metanol ile balon jojede toplam hacim 100 ml olacak şekilde hazırlandı.

$$\frac{5 \text{ mg AOH}}{100 \text{ ml}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ lt}} = 50 \text{ ppm AOH}$$

Hazırlanan 50 ppm'lik standart'a ait örnekten 6 µl alınarak, HPLC'nin ODS-3 (150mm X 4.6mm ID 5µm) kolonuna enjekte edildi. Burada mobil faz olarak litresinde 300mg ZnSO₄.H₂O ihtiva eden %80'lik metanol çözeltisi kullanıldı. UV dedektöründe, 280 nm'de 25°C kolon sıcaklığında, 1ml/dk mobil faz akış hızında 3.7 dakikada [116], Alternariol (AOH) Standardına ait pik gözlemlendi. Elde edilen kromatogram Şekil 2'de verildi.

2.2.2. Alternariol mono metil eter (AME) Standardının Hazırlanışı

5mg. Alternariol mono metil eter ($C_{15}H_{12}O_5$) standardı ve 300mg $ZnSO_4 \cdot H_2O$ karışımı %80'lik metanol ile balon joje'de toplam hacim 100 ml olacak şekilde hazırlandı.

$$\frac{5 \text{ mg AME}}{100 \text{ ml}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ lt}} = 50 \text{ ppm AME}$$

Hazırlanan 50 ppm'lik standart'a ait örnekten 6 µl alınarak, HPLC'nin ODS-3 (150mm X 4.6mm ID 5µm) kolonuna enjekte edildi. Mobil faz olarak litresinde 300mg $ZnSO_4 \cdot H_2O$ ihtiva eden %80'lik metanol çözeltisi kullanıldı. UV dedektöründe, 280 nm'de 25°C kolon sıcaklığında, 1ml/dk mobil faz akış hızında 7.5 dakikada [116], Alternariol mono metil eter (AME) standardına ait pik gözlemlendi. Elde edilen kromatogram Şekil 2'de verildi.

2.2.3. Tenuazonik Asit (TEA) Standardının Hazırlanışı

10mg Tenuazonik asit ($C_{10}H_{15}NO_3$) standardı ve 300mg $ZnSO_4 \cdot H_2O$ karışımı %80'lik metanol ile balon jojede toplam hacim 100 ml olacak şekilde hazırlandı.

$$\frac{10 \text{ mg TEA}}{100 \text{ ml}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ lt}} = 100 \text{ ppm TEA}$$

Hazırlanan 100 ppm'lik standart'a ait örnekten 6 µl alınarak, HPLC'nin ODS-3 (150mm X 4.6mm ID 5µm) kolonuna enjekte edildi. Mobil faz olarak litresinde 300mg $ZnSO_4 \cdot H_2O$ ihtiva eden %80'lik metanol çözeltisi kullanıldı. UV dedektöründe, 280 nm'de 25°C kolon sıcaklığında, 1ml/dk mobil faz akış hızında 1.6 dakikada [116], Tenuazonik asit (TEA) standardına ait pik gözlemlendi. Elde edilen kromatogram Şekil 2'de verildi.

2.2.3. Ekstraksiyon

Gıda örnekleri; her bir domates salçası, domates suyu ve elma suyundan ayrı ayrı olmak üzere, 50,000 g olacak şekilde hassas terazide tartıldı. Örnekler blender içerisinde 150 ml metanol ile birlikte 3 dakika düşük devirde homojenize edildi. Daha sonra filtre kâğıdından süzülerek 50 ml metanol ilavesiyle birlikte mezüre (dereceli kap) aktarıldı. Toplanan 200 ml örnek üzerine 60 ml %10'luk amonyum sülfat eklendi. Tekrar filtre kâğıdından süzülerek yaklaşık 200 ml olan süzüntüye 8°C sıcaklıkta 50 ml saf su eklendi. Son olarak 2 ayrı ayırma hunisine ayrılan ekstraksiyonların her biri 40 ml kloroform ilavesiyle birlikte 2 dakika boyunca ayırma hunilerinde çalkalandı. Çalkalama işlemi

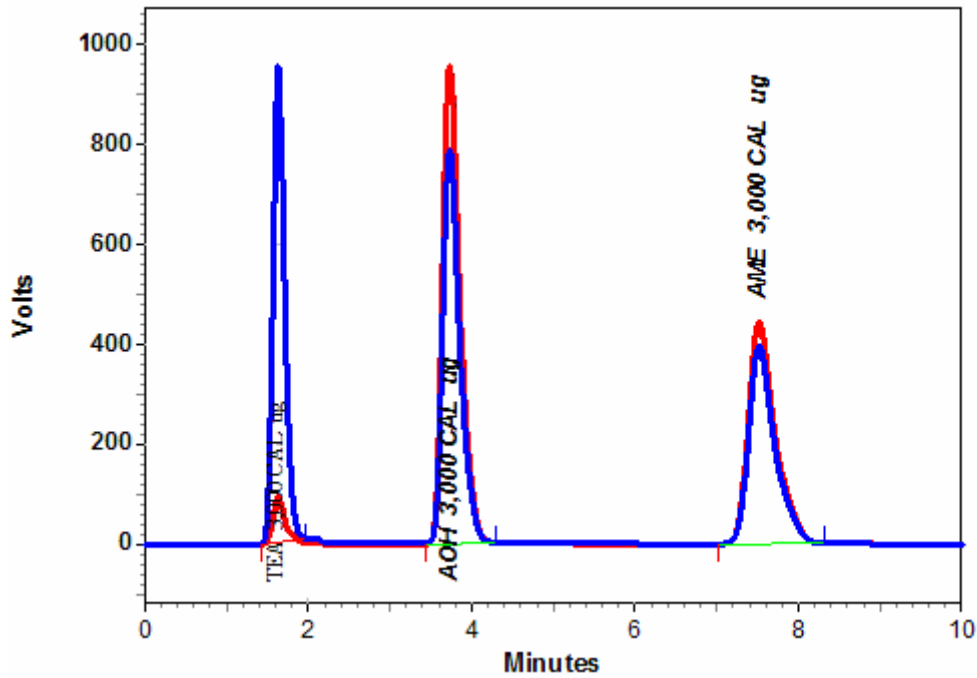
sonunda ayırma hunilerinin alt kısmında toplanan kloroform, dereceli beherlere aktarılarak çalkalayıcı etüvde 35°C’de uçuruldu [116]. Kalıntılar, 2 ml metanol ile çözülüp sodyum sülfat ile filtre edildikten sonra, HPLC’de kantitatif analiz için otomatik pipetler vasıtasıyla viallere (numune kabı) aktarıldı. Çalışma her bir örnek için 3 kez tekrarlandı.

2.2.4.HPLC’de Kantitatif Analiz

50 ppm’lik AME ve AOH ile 100 ppm’lik TEA standartlarının optimize edilen şartlarda HPLC’ye enjeksiyonu ile önce her bir standarda ait dalga boyu ve alıkonma süresi belirlendi [116]. Elde edilen verilere ait kromatogramlar tek grafik halinde birleştirildi.

Çalışma süresince hesaplamalarda bu kromatogramda her bir standardın pik yükseklikleri esas alınarak örneklere ait madde miktarları aşağıdaki formüller kullanılarak örneklerdeki AME, AOH ve TEA miktarları $\mu\text{g/g}$ olacak şekilde hesaplandı. Hesaplamalarda direkt karşılaştırma yöntemi uygulandı.

Cihazda pompa olarak LC-10ADVP, UV dedektör olarak SPD-10AVP, kolon fırını olarak CTO-10ASVP, oto-sampler olarak SIL-10ADVP, degasser olarak DGU-14AVP üniteleri kullanıldı. Hesaplamalar Class VP Software (6.12) programı ile yapıldı.



Şekil 2. TEA, AOH ve AME standartlarına ait kromatogramlar

Hesaplamalar sırasıyla **AOH**, **AME** ve **TEA** için aşağıdaki formüller oluşturularak yapıldı.

$$\frac{50 \text{ ppm AOH (Standt)}}{\text{Örnekteki AOH Miktarı}} \times \frac{2 \text{ ml vial (Standt)}}{2 \text{ ml vial (Örnek)}} \times \frac{6 \mu\text{l Enjeksiyon (Standt)}}{50 \mu\text{l Enj. Örnek}} \times \frac{\text{Örnek Pik Yüksk}}{953090 (\text{SPY})^*} = 1$$

$$\frac{50 \text{ ppm AME (Standt)}}{\text{Örnekteki AME Miktarı}} \times \frac{2 \text{ ml vial (Standt)}}{2 \text{ ml vial (Örnek)}} \times \frac{6 \mu\text{l Enjeksiyon (Standt)}}{50 \mu\text{l Enj. Örnek}} \times \frac{\text{Örnek Pik Yüksk}}{442660 (\text{SPY})^*} = 1$$

$$\frac{100 \text{ ppm TEA (Standt)}}{\text{Örnekteki TEA Miktarı}} \times \frac{2 \text{ ml vial (Standt)}}{2 \text{ ml vial (Örnek)}} \times \frac{6 \mu\text{l Enjeksiyon (Standt)}}{50 \mu\text{l Enj. Örnek}} \times \frac{\text{Örnek Pik Yüksk}}{241445 (\text{SPY})^*} = 1$$

***: Standart pik yüksekliği.**

Microsoft Excel 2003 programı kullanılarak aritmetik ortalama ve standart sapmalar (SD) hesaplandı. Yapılan hesaplamalar sonucunda elde edilen değerler domates salçaları için Tablo 5, domates suları için Tablo 6 ve elma suları için Tablo 7’ de verildi.

3. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

3.1. Sonuçlar

Çalışmalarımız sonunda domates salçaları, domates suları ve elma sularında bulunan AOH, AME ve TEA miktarları ppm ($\mu\text{g/g}$ veya $\mu\text{g/ml}$) olarak aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

Tablo 5. Domates salçalarındaki AOH, AME ve TEA miktarlarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları

Domates salçaları (Firma no)	AOH miktarı (ppm)	AME miktarı (ppm)	TEA miktarı (ppm)
1	0,1971 $\pm$ 0,0329	(-)	4,5068 $\pm$ 0,7511
2	0,1572 $\pm$ 0,0314	(-)	2,5991 $\pm$ 0,4332
3	0,0430 $\pm$ 0,0071	(-)	1,2491 $\pm$ 0,2498
4	0,2768 $\pm$ 0,0461	(-)	(-)
5	0,0343 $\pm$ 6,86 $\times 10^{-3}$	(-)	(-)
6	0,0886 $\pm$ 0,0177	0,0813 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 0,0135 $\times 10^{-3}$	(-)
7	0,1197 $\pm$ 0,0199	(-)	2,8849 $\pm$ 0,4808
8	0,4175 $\pm$ 0,0835	(-)	10,9377 $\pm$ 1,8229
9	(-)	(-)	(-)
10	(-)	(-)	(-)
Aritmetik ort.	0,1667	0,0813 $\times 10^{-3}$	4,4355

(-) : Toksin tespit edilmedi

Tablo 6. Domates sularındaki AOH, AME ve TEA miktarlarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları

Domates suları (Firma no)	AOH miktarı (ppm)	AME miktarı (ppm)	TEA miktarı (ppm)
1	5,2502 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 0,8750 $\times 10^{-3}$	(-)	(-)
2	6,1001 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 1,0167 $\times 10^{-3}$	10,3826 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 2,0765 $\times 10^{-3}$	1,2582 $\pm$ 0,2097
5	8,2657 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 1,6531 $\times 10^{-3}$	3,3208 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 0,6641 $\times 10^{-3}$	2,3841 $\pm$ 0,3973
11	5,9868 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 1,1974 $\times 10^{-3}$	2,2771 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 0,4554 $\times 10^{-3}$	1,1366 $\pm$ 0,1894
12	7,9320 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 1,3220 $\times 10^{-3}$	42,8048 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 7,1341 $\times 10^{-3}$	1,0439 $\pm$ 0,2088
13	(-)	(-)	0,7595 $\pm$ 0,1266
16	(-)	(-)	0,4895 $\pm$ 0,0816
19	1,9515 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 0,3903 $\times 10^{-3}$	0,7319 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 0,1220 $\times 10^{-3}$	(-)
20	4,2871 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 0,7145 $\times 10^{-3}$	0,1219 $\times 10^{-3}$ $\pm$ 0,0244 $\times 10^{-3}$	0,7768 $\pm$ 0,1554
21	(-)	(-)	1,2727 $\pm$ 0,2545
Aritmetik ort.	5,6819 $\times 10^{-3}$	9,9398 $\times 10^{-3}$	1,1401

(-) : Toksin tespit edilmedi

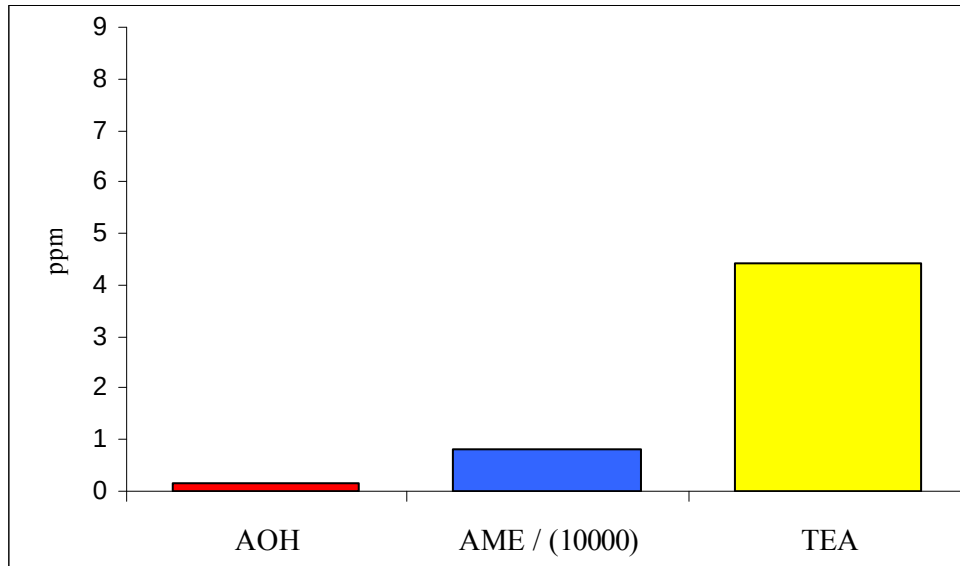
Tablo 7. Elma sularındaki AOH, AME ve TEA miktarlarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları

Elma suları (Firma no)	AOH miktarı (ppm)	AME miktarı (ppm)	TEA miktarı (ppm)
1	$4,9229 \times 10^{-3} \pm 0,9846 \times 10^{-3}$	$0,2710 \times 10^{-3} \pm 0,0542 \times 10^{-3}$	$0,2604 \pm 0,0434$
2	$246,8895 \times 10^{-3} \pm 41,1482 \times 10^{-3}$	$0,2033 \times 10^{-3} \pm 0,0339 \times 10^{-3}$	$2,5725 \pm 0,4287$
11	$0,6106 \times 10^{-3} \pm 0,1018 \times 10^{-3}$	(-)	$0,3213 \pm 0,0535$
12	$49,6196 \times 10^{-3} \pm 8,2699 \times 10^{-3}$	(-)	(-)
13	$84,2564 \times 10^{-3} \pm 16,8513 \times 10^{-3}$	$3,9172 \times 10^{-3} \pm 0,6528 \times 10^{-3}$	$7,7272 \pm 1,2878$
14	$2,1467 \times 10^{-3} \pm 0,4293 \times 10^{-3}$	$0,9081 \times 10^{-3} \pm 0,1816 \times 10^{-3}$	$1,3443 \pm 0,2240$
15	$76,2047 \times 10^{-3} \pm 12,7007 \times 10^{-3}$	(-)	$9,6189 \pm 1,9237$
16	$27,7308 \times 10^{-3} \pm 4,6218 \times 10^{-3}$	(-)	$6,0096 \pm 1,0016$
17	$16,7581 \times 10^{-3} \pm 3,3516 \times 10^{-3}$	(-)	$1,5815 \pm 0,3163$
18	$1,1457 \times 10^{-3} \pm 0,1905 \times 10^{-3}$	$0,5421 \times 10^{-3} \pm 0,1084 \times 10^{-3}$	$0,8897 \pm 0,1482$
Aritmetik ort.	$51,0285 \times 10^{-3}$	$1,1683 \times 10^{-3}$	3,3694

(-) : Toksin tespit edilmedi

3.1.1. Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

On farklı marka domates salçasındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının genel aritmetik ortalaması Şekil 3 'te verilmiştir.

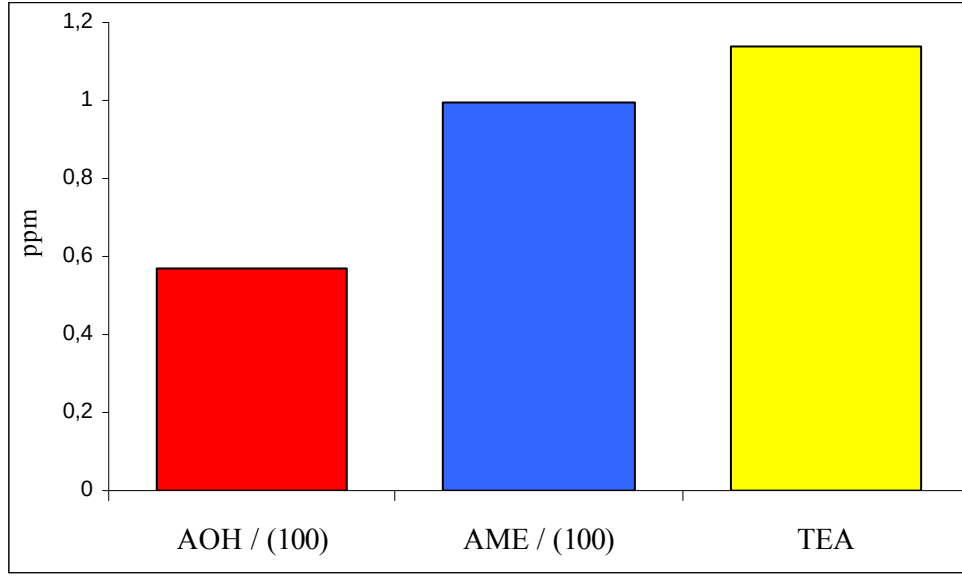


Şekil 3. Domates salçalarındaki ortalama mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının sütun grafiği

Domates salçalarında ortalama 0,1667 ppm AOH, $0,0813 \times 10^{-3}$ ppm AME ve 3,3694 ppm TEA (Şekil 3) tespit edilmiştir.

3.1.2. Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

On farklı marka domates suyundaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının genel aritmetik ortalaması Şekil 4'te verilmiştir.

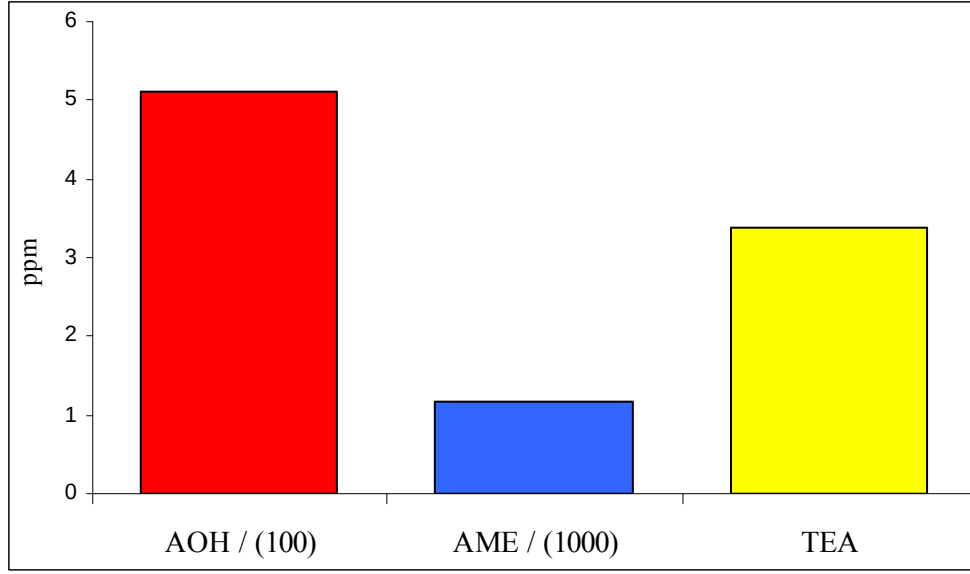


Şekil 4. Domates sularındaki ortalama mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının sütun grafiği

Domates sularında ortalama $5,6819 \times 10^{-3}$ ppm AOH, $9,9398 \times 10^{-3}$ ppm AME ve 1,1401 ppm TEA (Şekil 4) tespit edilmiştir.

3.1.3. Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

On farklı marka elma suyundaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının genel aritmetik ortalaması Şekil 5 'te verilmiştir.



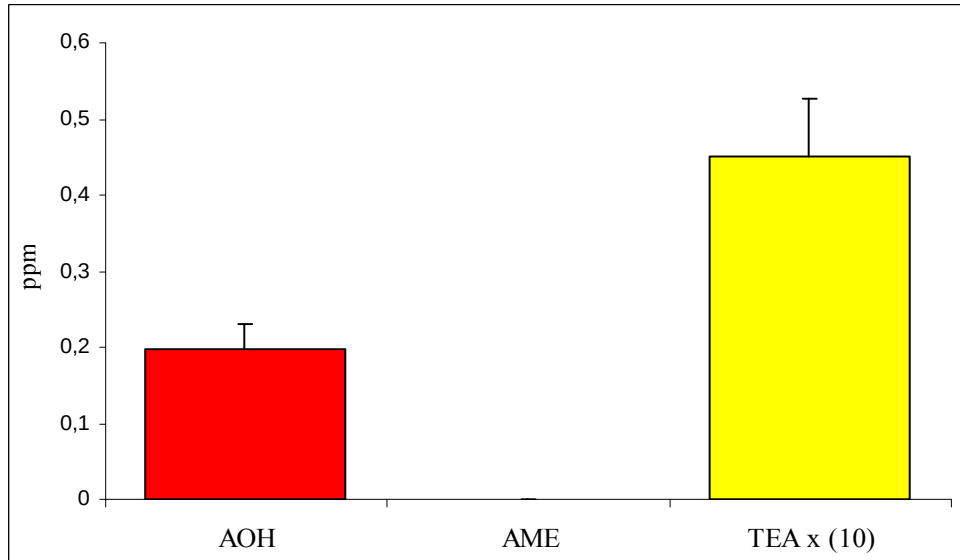
Şekil 5. Elma sularındaki ortalama mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının sütun grafiği

Elma sularında ortalama $51,0285 \times 10^{-3}$ ppm AOH, $1,1683 \times 10^{-3}$ ppm AME ve 3,3694 ppm TEA (Şekil 5) tespit edilmiştir.

3.1.4. Domates Salçalarındaki Mikotoksin Miktarları

3.1.4.1. Firma 1'e Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 1'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 6'da verilmiştir.

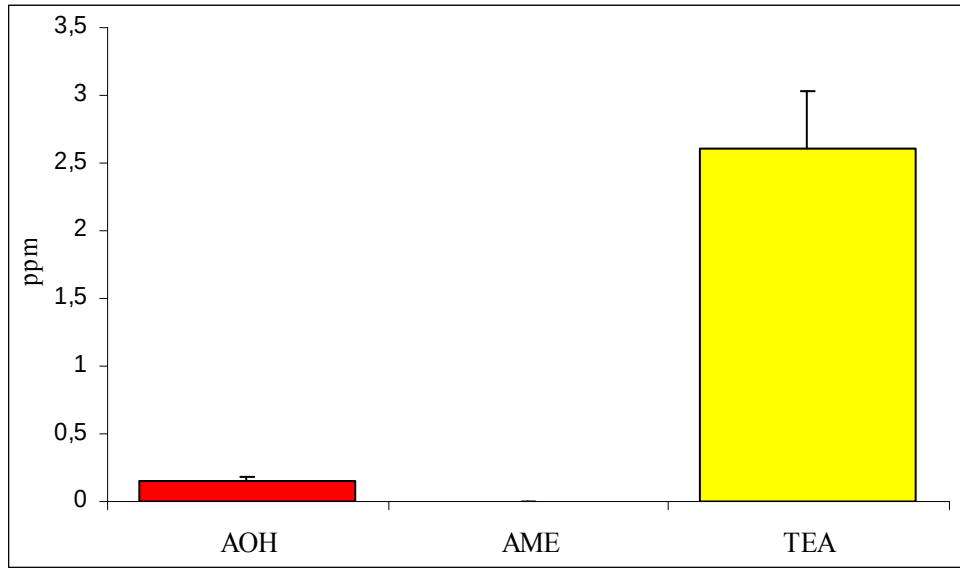


Şekil 6. Firma 1'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates salçalarında ortalama 0,1971 ppm AOH ve 4,5068 ppm TEA (Şekil 6) tespit edilmiştir. Bu firmaya ait domates salçalarında AME tespit edilmemiştir.

3.1.4.2. Firma 2'ye Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 2'ye ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 7'de verilmiştir.

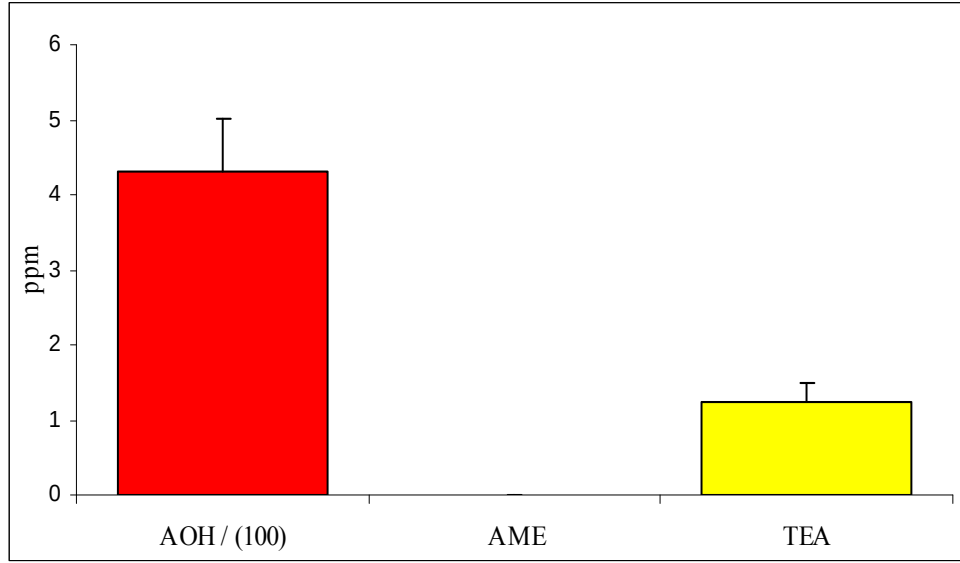


Şekil 7. Firma 2'ye ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates salçalarında ortalama 0,1572 ppm AOH ve 2,5991 ppm TEA (Şekil 7) tespit edilmiştir. Bu firmaya ait domates salçalarında AME tespit edilmemiştir.

3.1.4.3 Firma 3'e Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 3'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 8'de verilmiştir.

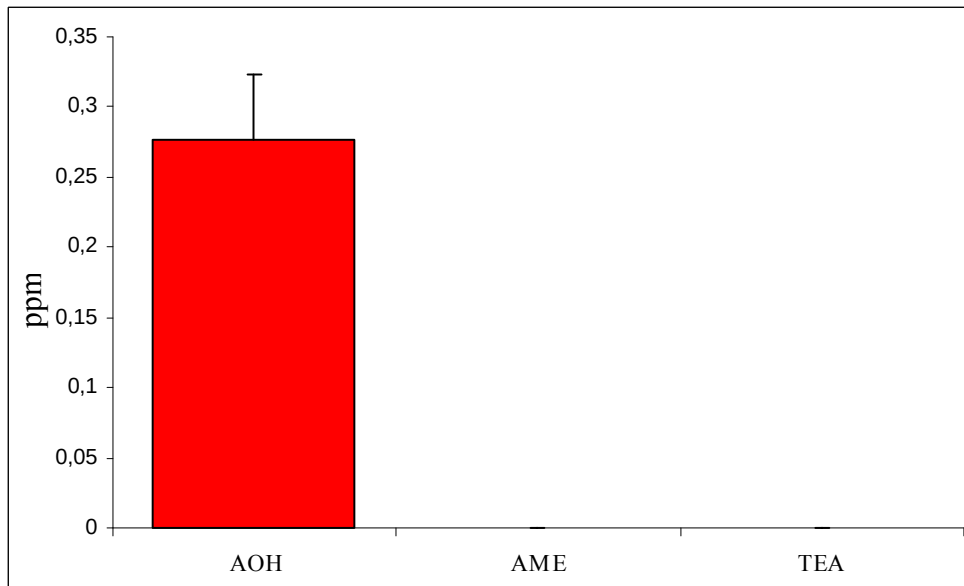


Şekil 8. Firma 3'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates salçalarında ortalama 0,0430 ppm AOH ve 1,2491 ppm TEA (Şekil 8) tespit edilmiştir. Bu firmaya ait domates salçalarında AME tespit edilmemiştir.

3.1.4.4. Firma 4'e Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 4'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 9'da verilmiştir.

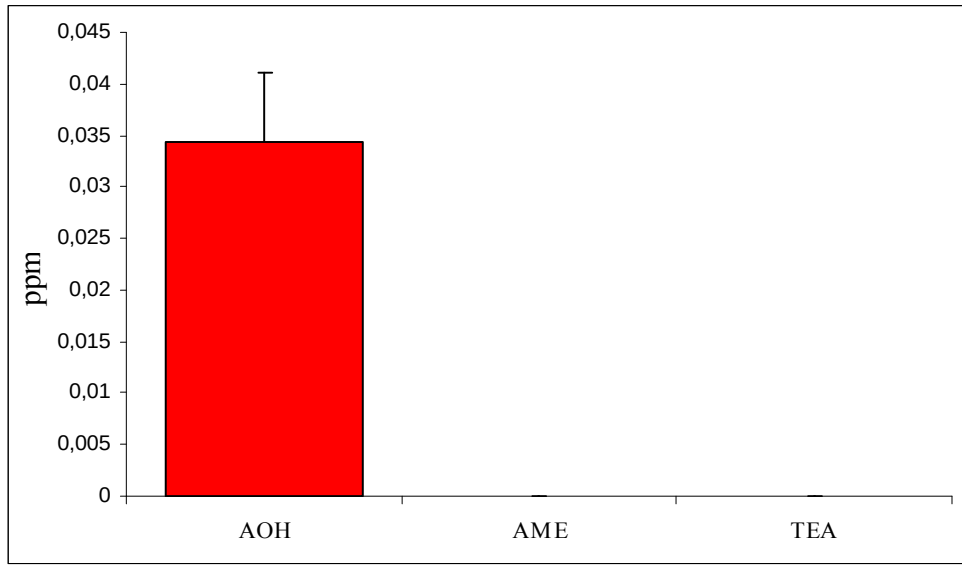


Şekil 9. Firma 4'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates salçalarında ortalama 0,2768 ppm AOH (Şekil 9) tespit edilmiştir. Bu firmaya ait domates salçalarında AME ve TEA tespit edilmemiştir.

3.1.4.5. Firma 5'e Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 5'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 10'da verilmiştir.

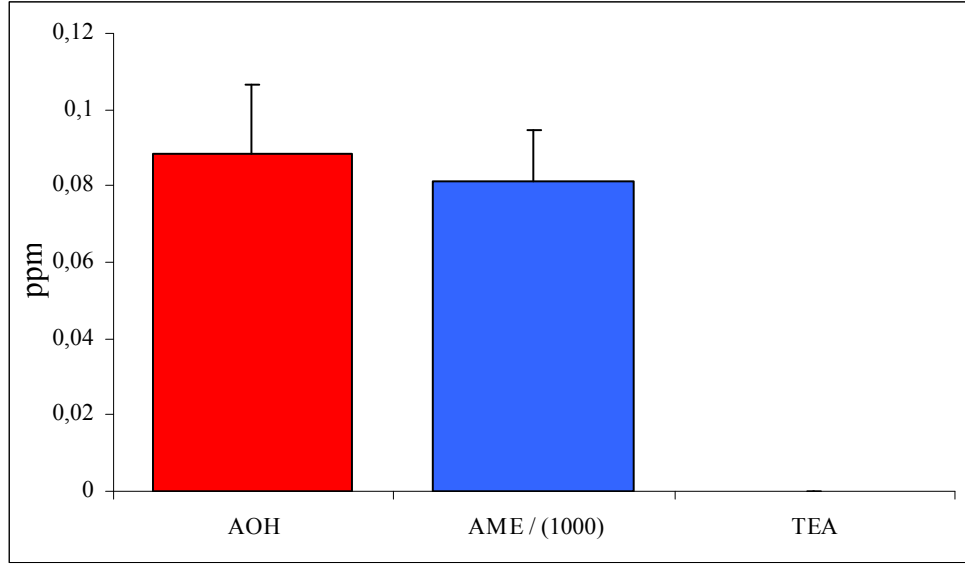


Şekil 10. Firma 5'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates salçalarında ortalama 0,0343 ppm AOH (Şekil 10) tespit edilmiştir. Bu firmaya ait domates salçalarında AME ve TEA tespit edilmemiştir.

3.1.4.6. Firma 6'ya Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 6'ya ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 11'de verilmiştir.

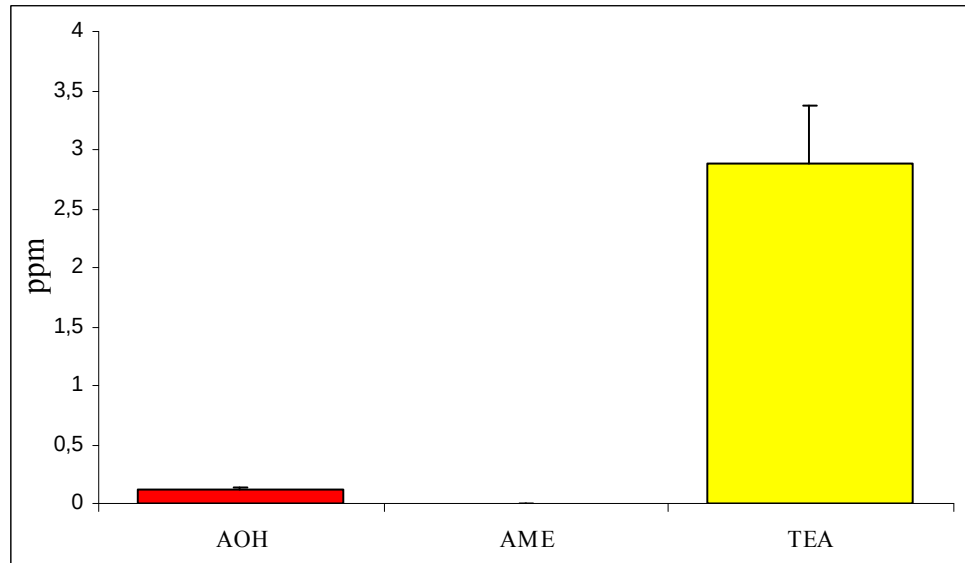


Şekil 11. Firma 6'ya ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates salçalarında ortalama 0,0886 ppm AOH ve 0,0813 ppm AME (Şekil 11) tespit edilmiştir. Bu firmaya ait domates salçalarında TEA tespit edilmemiştir.

3.1.4.7. Firma 7'ye Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 7'ye ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 12'de verilmiştir.

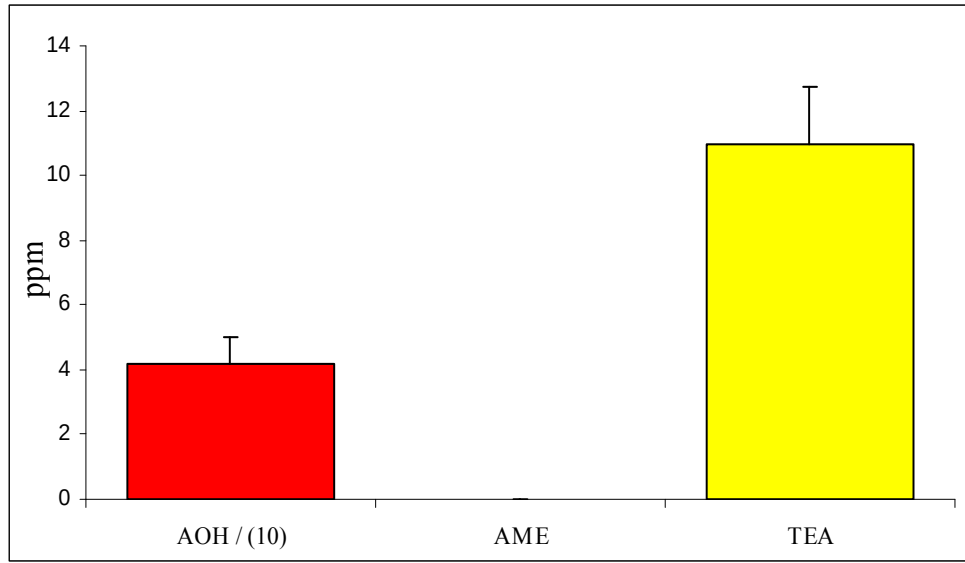


Şekil 12. Firma 7'ye ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates salçalarında ortalama 0,1197 ppm AOH ve 2,8849 ppm TEA (Şekil 12) tespit edilmiştir. Bu firmaya ait domates salçalarında AME tespit edilmemiştir.

3.1.4.8. Firma 8'e Ait Domates Salçalarındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 8'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 13'te verilmiştir.



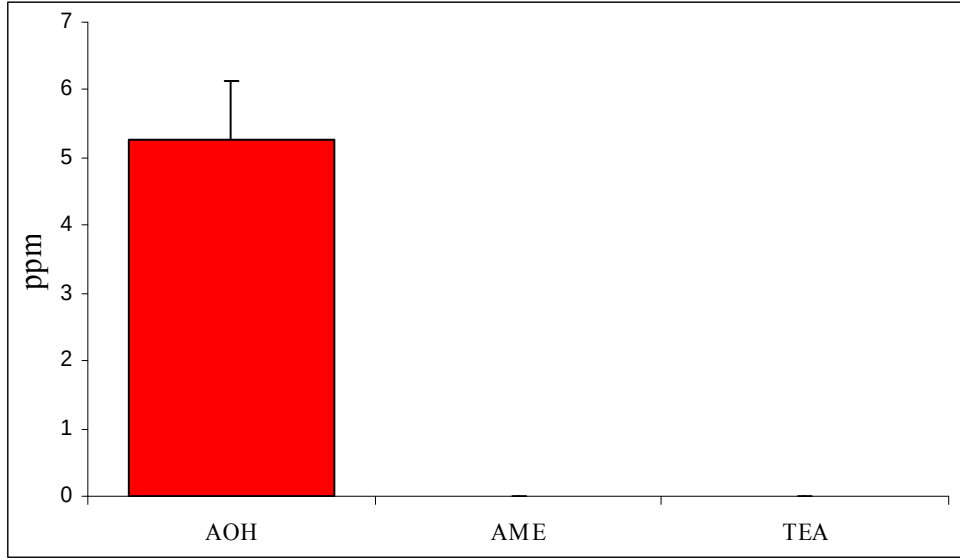
Şekil 13. Firma 8'e ait domates salçalarındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates salçalarında ortalama 0,4175 ppm AOH ve 10,9377 ppm TEA (Şekil 13) tespit edilmiştir. Bu firmaya ait domates salçalarında AME tespit edilmemiştir.

3.1.5. Domates Sularındaki Mikotoksin Miktarları

3.1.5.1. Firma 1'e Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 1'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 14'te verilmiştir.

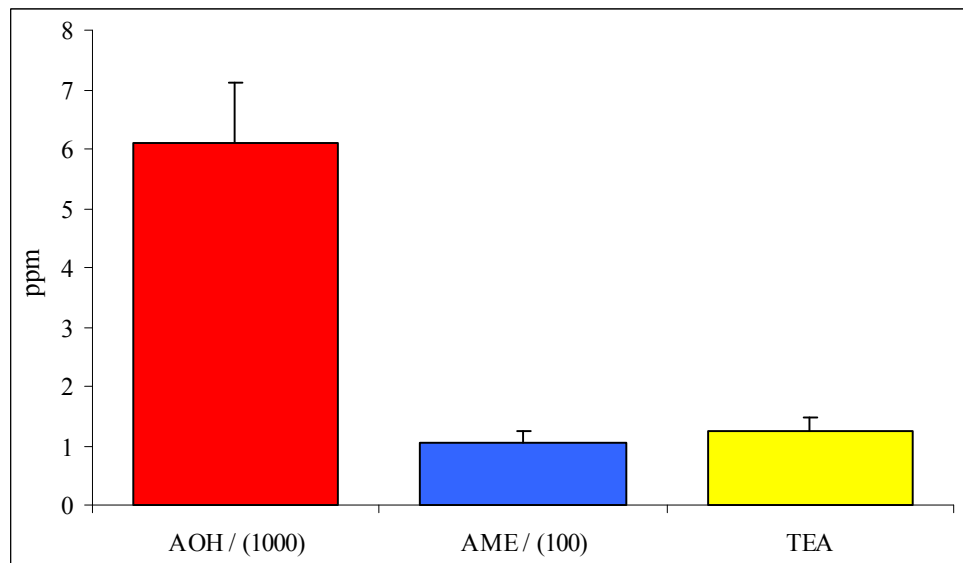


Şekil 14. Firma 1'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiğı

Domates sularında ortalama $5,2502 \times 10^{-3}$ ppm AOH (Şekil 14) tespit edilmiştir. Bu firmaya ait domates sularında AME ve TEA tespit edilmemiştir.

3.1.5.2 Firma 2'ye Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 2'ye ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 15'te verilmiştir.

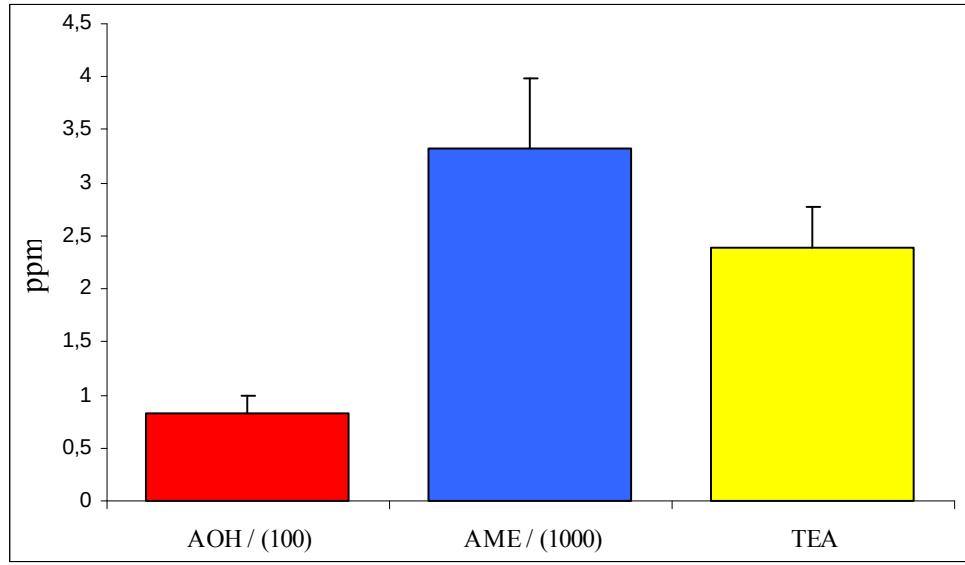


Şekil 15. Firma 2'ye ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiğı

Domates sularında ortalama $6,1001 \times 10^{-3}$ ppm AOH, $10,3826 \times 10^{-3}$ ppm AME ve 1,2582 ppm TEA (Şekil 15) tespit edilmiştir.

3.1.5.3. Firma 5'e Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 5'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 16'te verilmiştir.

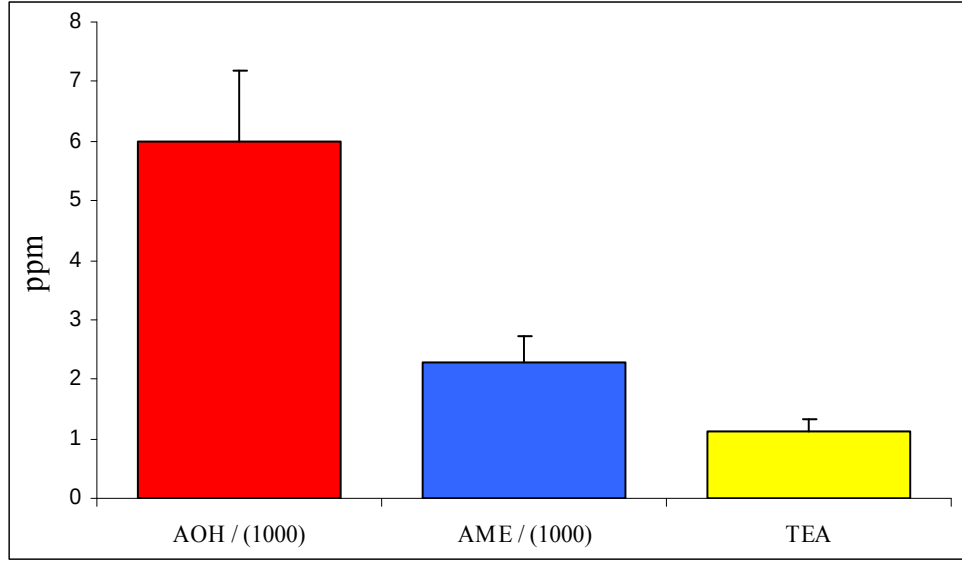


Şekil 16. Firma 5'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates sularında ortalama $8,2657 \times 10^{-3}$ ppm AOH, $3,3208 \times 10^{-3}$ ppm AME ve 2,3841 ppm TEA (Şekil 16) tespit edilmiştir.

3.1.5.4. Firma 11'e Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 11'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 17'de verilmiştir.

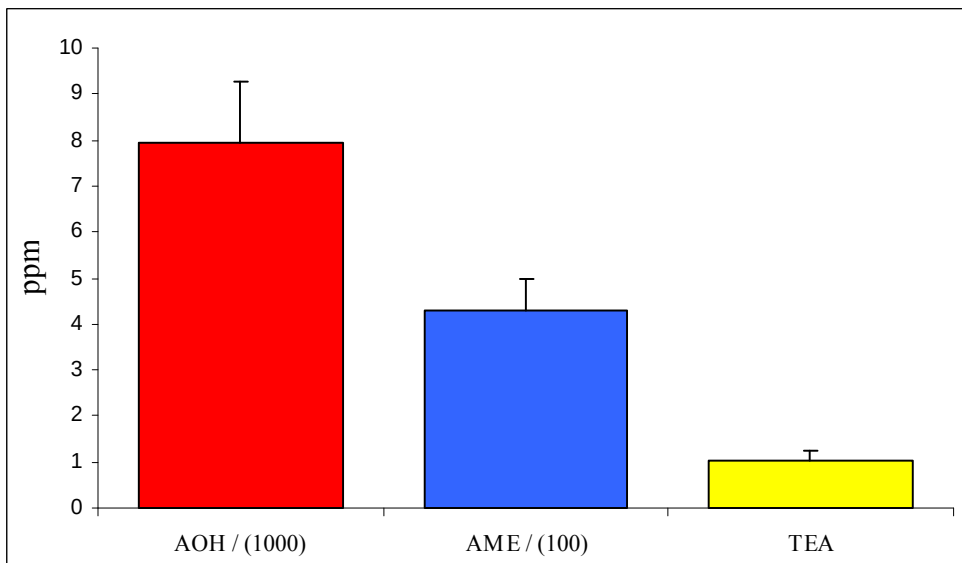


Şekil 17. Firma 11'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates sularında ortalama $5,9868 \times 10^{-3}$ ppm AOH, $2,2771 \times 10^{-3}$ ppm AME ve 1,1366 ppm TEA (Şekil 17) tespit edilmiştir.

3.1.5.5. Firma 12'ye Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 12'ye ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 18'de verilmiştir.

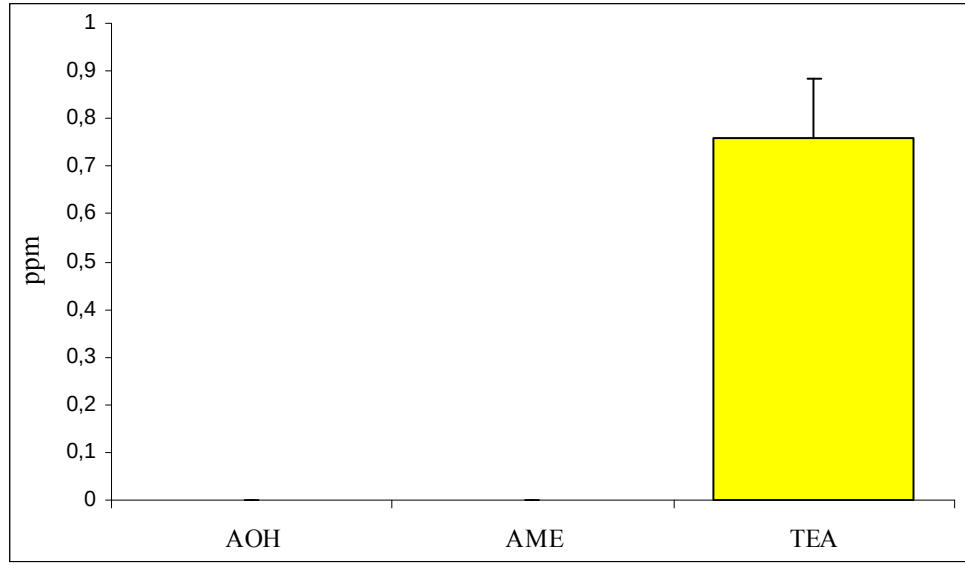


Şekil 18. Firma 12'ye ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates sularında ortalama $7,9320 \times 10^{-3}$ ppm AOH, $42,8048 \times 10^{-3}$ ppm AME ve 1,0439 ppm TEA (Şekil 18) tespit edilmiştir.

3.1.5.6. Firma 13'e Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 13'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 19'da verilmiştir.

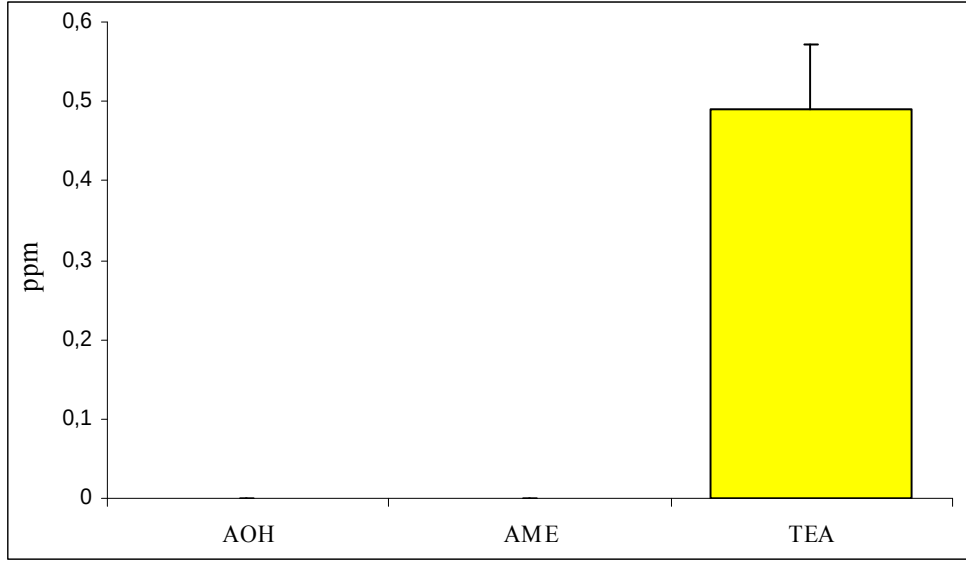


Şekil 19. Firma 13'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates sularında ortalama 0,7595 ppm TEA (Şekil 19) tespit edilmiştir. AOH ve AME tespit edilmemiştir.

3.1.5.7. Firma 16'ya Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 16'ya ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 20'de verilmiştir.

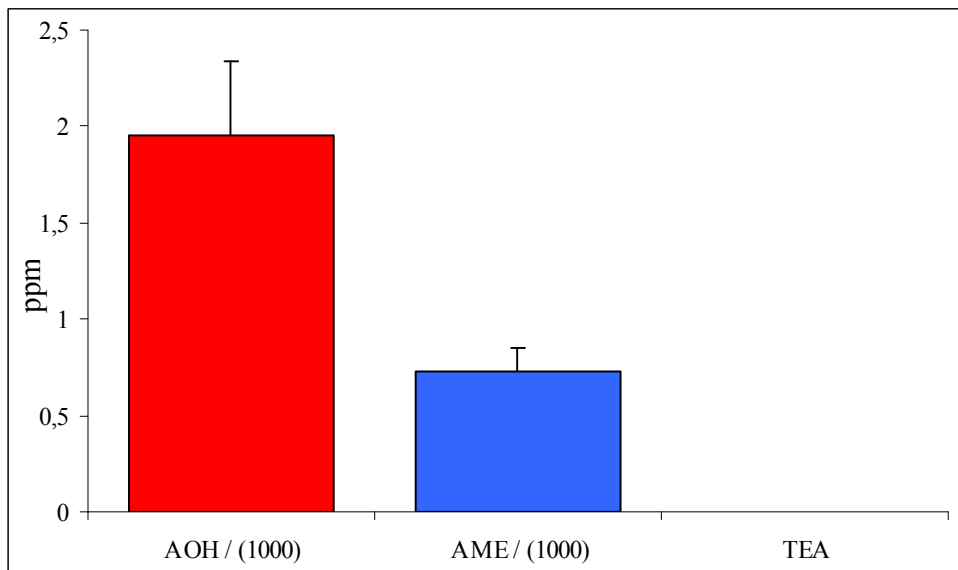


Şekil 20. Firma 16'ya ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates sularında ortalama 0,4895 ppm TEA (Şekil 20) tespit edilmiştir. AOH ve AME tespit edilmemiştir.

3.1.5.8. Firma 19'a Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 19'a ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 21'de verilmiştir.

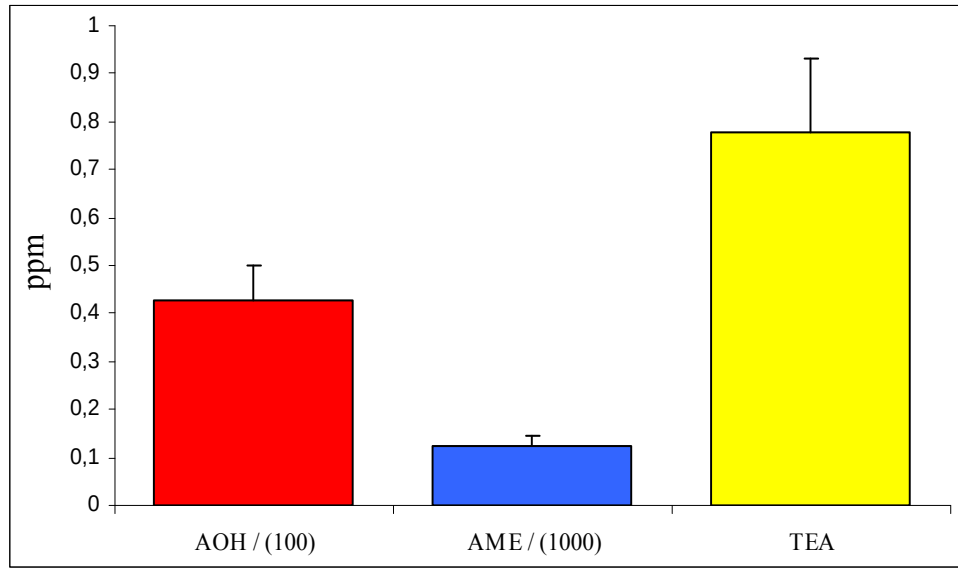


Şekil 21. Firma 19'a ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates sularında ortalama $1,9515 \times 10^{-3}$ ppm AOH ve $0,7319 \times 10^{-3}$ ppm AME (Şekil 21) tespit edilmiştir. TEA tespit edilmemiştir.

3.1.5.9. Firma 20'ye Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 20'ye ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 22'de verilmiştir.

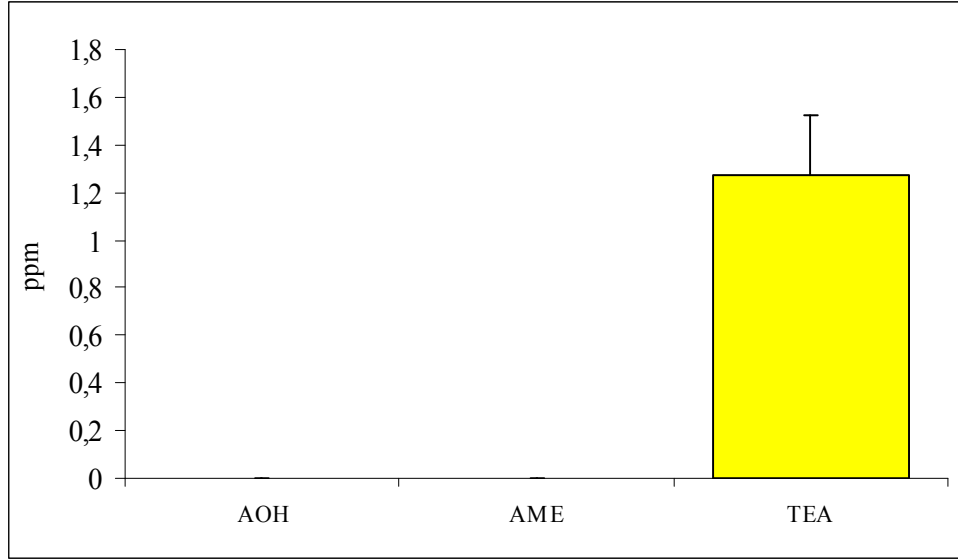


Şekil 22. Firma 20'ye ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates sularında ortalama $4,2871 \times 10^{-3}$ ppm AOH, $0,1219 \times 10^{-3}$ ppm AME ve 0,7768 ppm TEA (Şekil 22) tespit edilmiştir.

3.1.5.10. Firma 21'e Ait Domates Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 21'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 23'te verilmiştir.



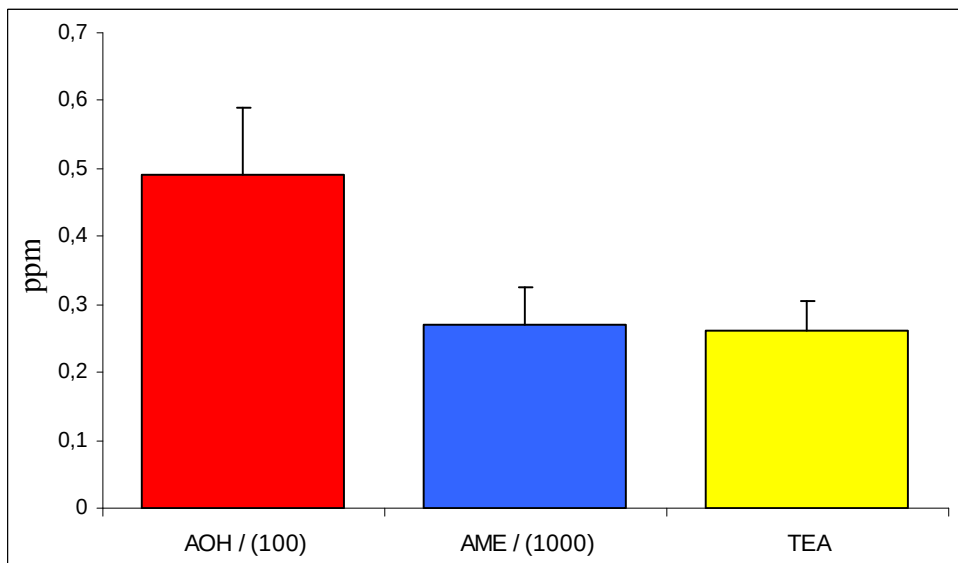
Şekil 23. Firma 21'e ait domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Domates sularında ortalama 1,2727 ppm TEA (Şekil 23) tespit edilmiştir. AOH ve AME tespit edilmemiştir.

3.1.6. Elma Sularındaki Mikotoksin Miktarları

3.1.6.1. Firma 1'e Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 1'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 24'te verilmiştir.

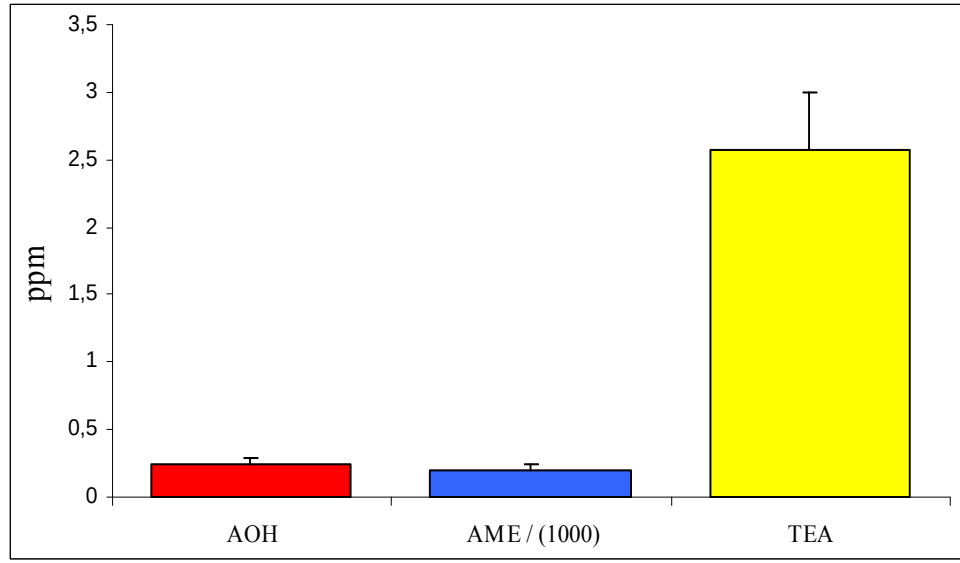


Şekil 24. Firma 1'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Elma sularında ortalama $4,9229 \times 10^{-3}$ ppm AOH, $0,2710 \times 10^{-3}$ ppm AME ve 0,2604 ppm TEA (Şekil 24) tespit edilmiştir.

3.1.6.2. Firma 2'ye Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 2'ye ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 25'te verilmiştir.

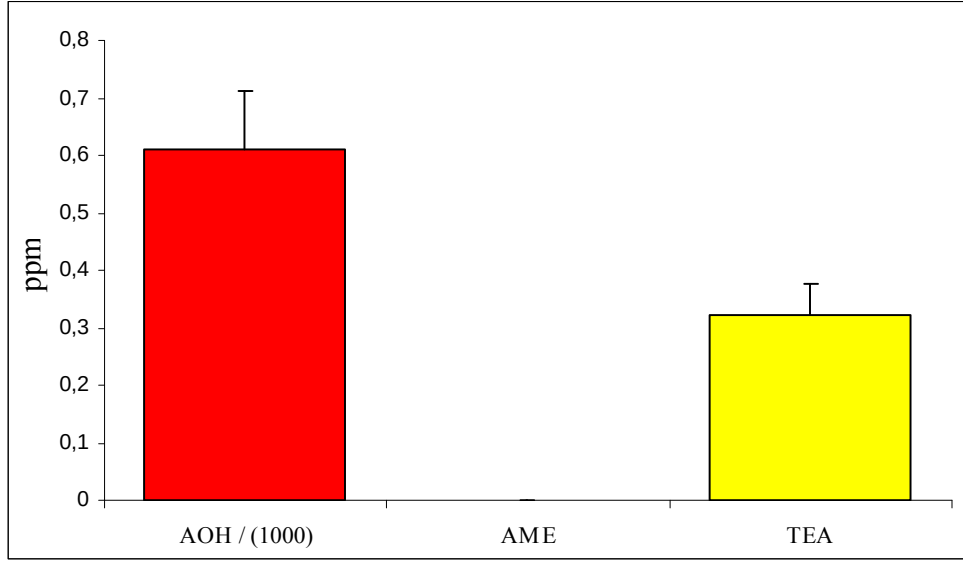


Şekil 25. Firma 2'ye ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Elma sularında ortalama $246,8895 \times 10^{-3}$ ppm AOH, $0,2033 \times 10^{-3}$ ppm AME ve 2,5725 ppm TEA (Şekil 25) tespit edilmiştir.

3.1.6.3. Firma 11'e Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 11'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 26'da verilmiştir.

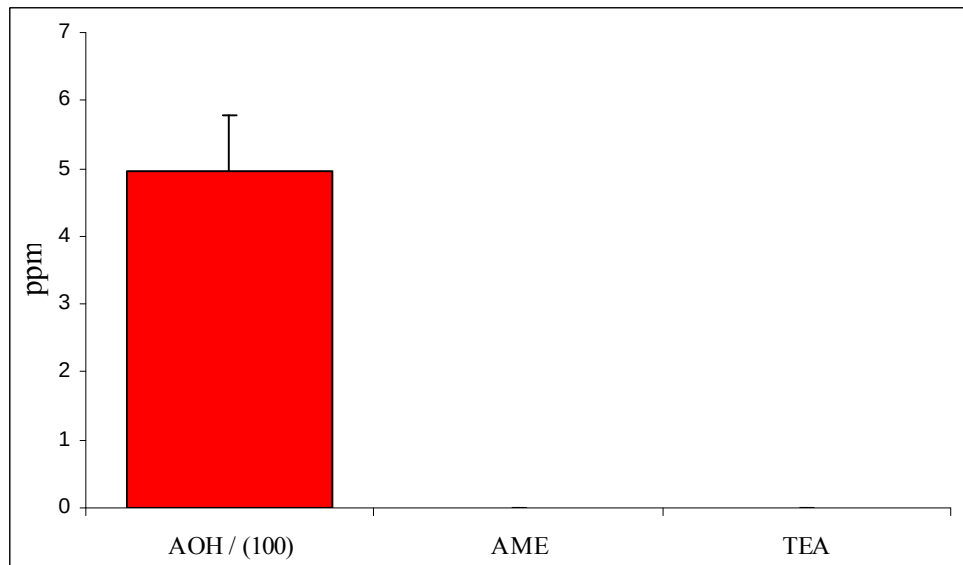


Şekil 26. Firma 11'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiğı

Elma sularında ortalama $0,6106 \times 10^{-3}$ ppm AOH ve 0,3213 ppm TEA (Şekil 26) tespit edilmiştir. AME tespit edilmemiştir.

3.1.6.4. Firma 12'ye Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 12'ye ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 21'de verilmiştir.

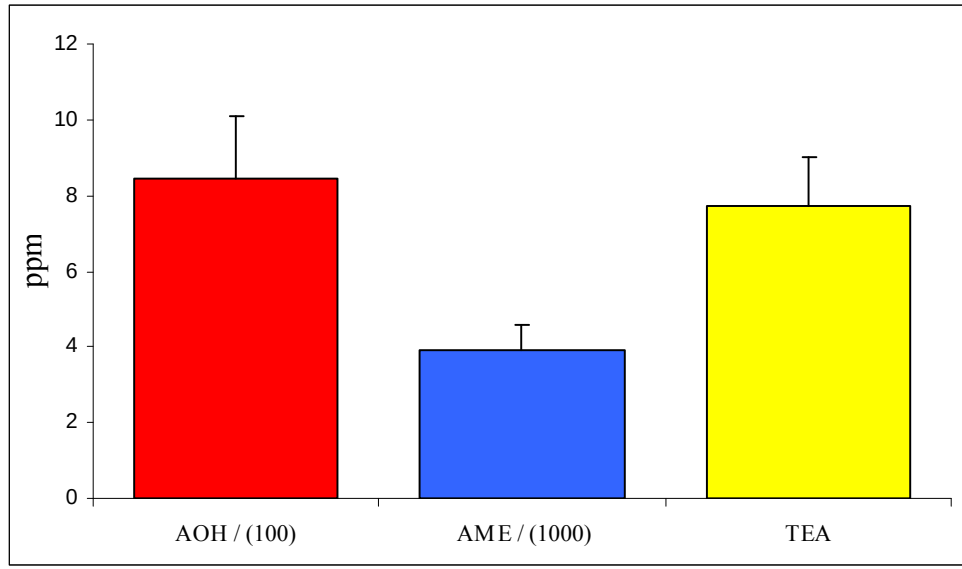


Şekil 27. Firma 12'ye ait elma domates sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiğı

Elma sularında ortalama $49,6196 \times 10^{-3}$ ppm AOH tespit (Şekil 27) edilmiştir. AME ve TEA tespit edilmemiştir.

3.1.6.5. Firma 13'e Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 13'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 28'de verilmiştir.

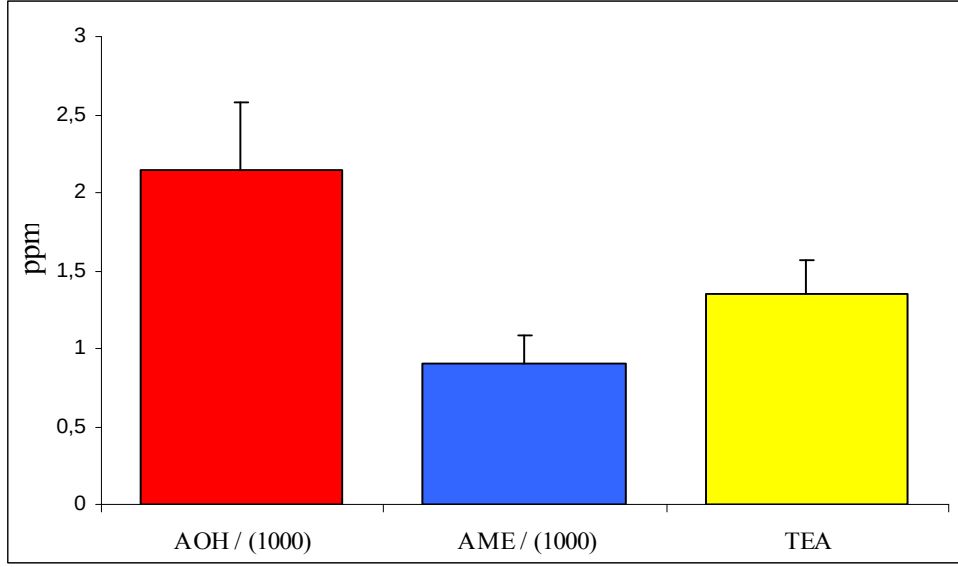


Şekil 28. Firma 13'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Elma sularında ortalama $84,2564 \times 10^{-3}$ ppm AOH, $3,9172 \times 10^{-3}$ ppm AME ve 7,7272 ppm TEA (Şekil 28) tespit edilmiştir.

3.1.6.6. Firma 14'e Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 14'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 29'da verilmiştir.

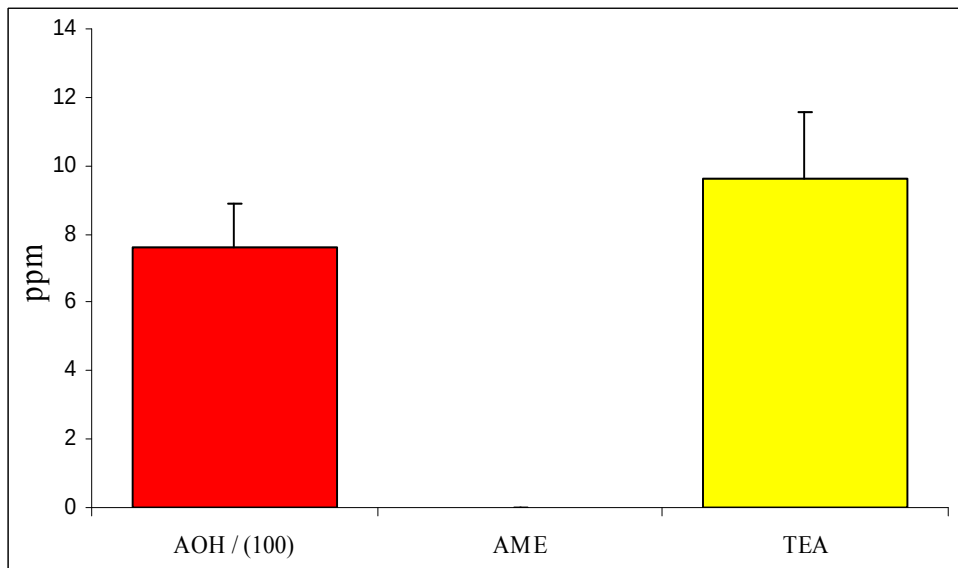


Şekil 29. Firma 14'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Elma sularında ortalama $2,1467 \times 10^{-3}$ ppm AOH, $0,9081 \times 10^{-3}$ ppm AME ve 1,3443 ppm TEA (Şekil 29) tespit edilmiştir.

3.1.6.7. Firma 15'e Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 15'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 30'da verilmiştir.

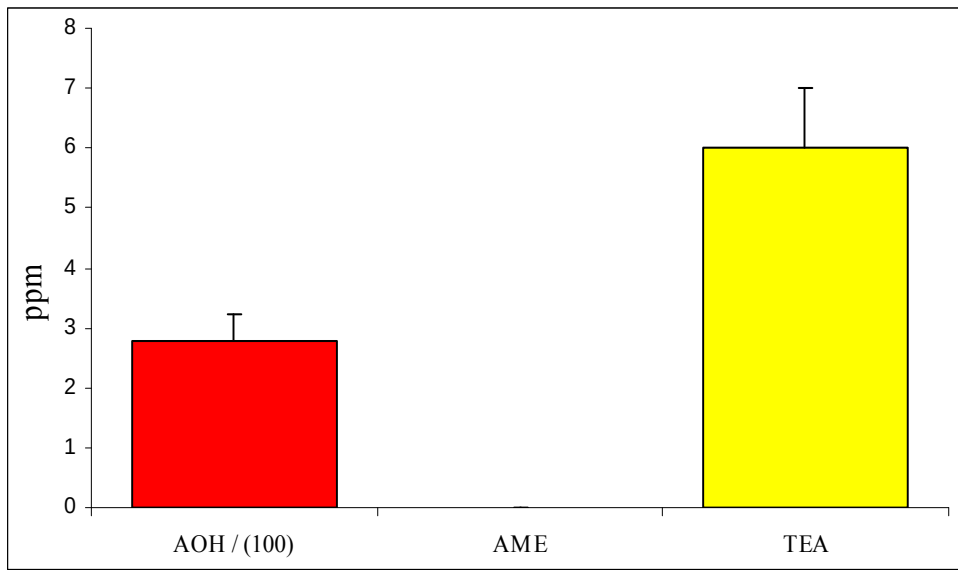


Şekil 30. Firma 15'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Elma sularında ortalama $76,2047 \times 10^{-3}$ ppm AOH ve 9,6189 ppm TEA (Şekil 30) tespit edilmiştir. AME (Şekil 30) tespit edilmemiştir.

3.1.6.8. Firma 16'ya Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 16'ya ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 31'de verilmiştir.

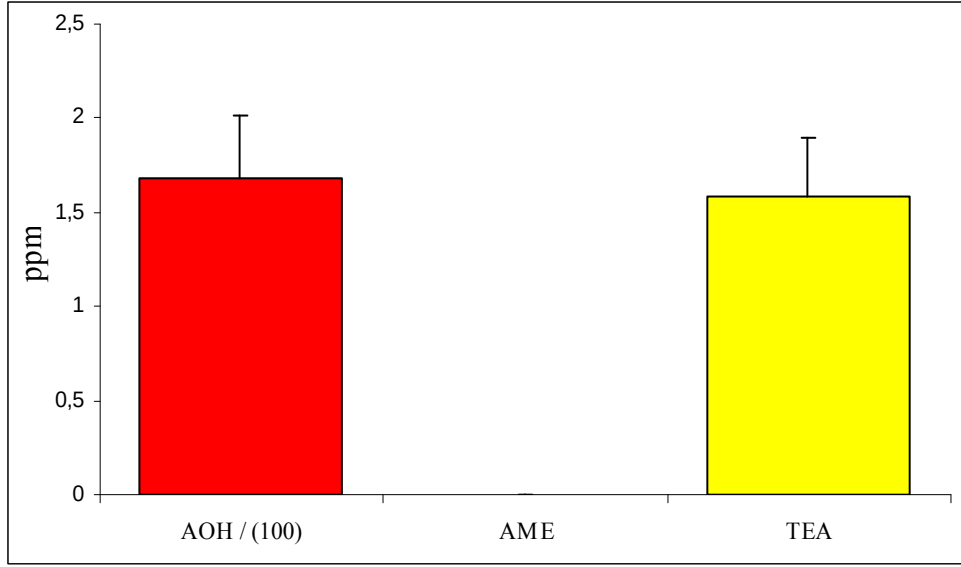


Şekil 31. Firma 16'ya ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Elma sularında ortalama $27,7308 \times 10^{-3}$ ppm AOH ve 6,0096 ppm TEA (Şekil 31) tespit edilmiştir. AME tespit edilmemiştir.

3.1.6.9. Firma 17'ye Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 17'ye ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 32'de verilmiştir.

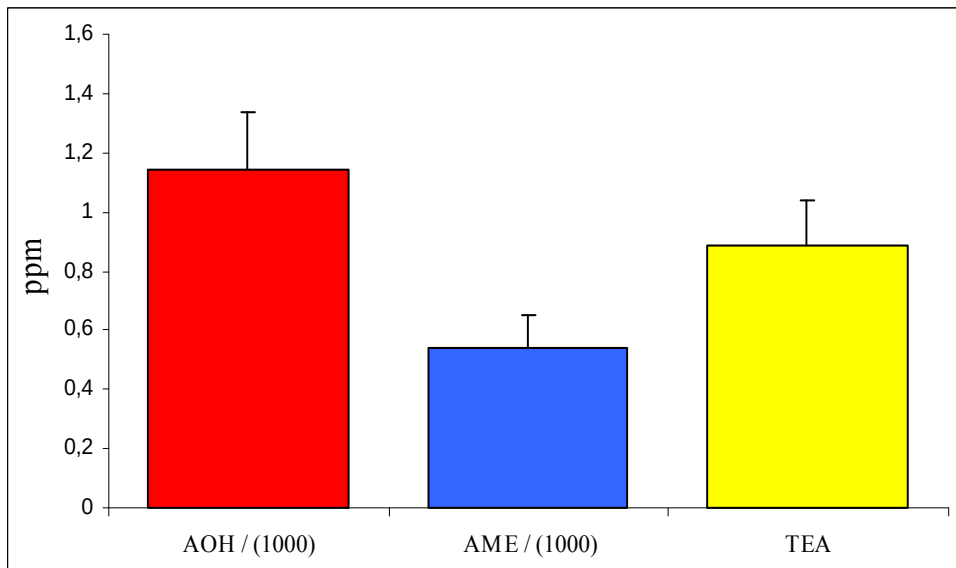


Şekil 32. Firma 17'ye ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Elma sularında ortalama $16,7581 \times 10^{-3}$ ppm AOH ve 1,5815 ppm TEA (Şekil 32) tespit edilmiştir. AME tespit edilmemiştir.

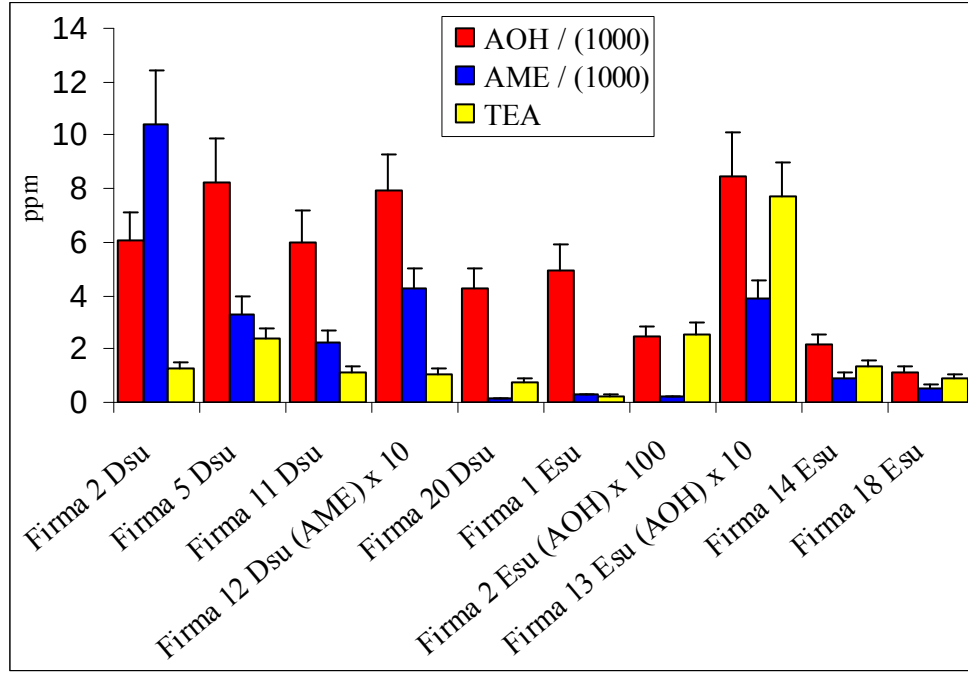
3.1.6.10. Firma 18'e Ait Elma Sularındaki Ortalama Mikotoksin (AOH, AME, TEA) Miktarları

Firma 18'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarlarının aritmetik ortalaması ve standart sapmaları Şekil 33'te verilmiştir.



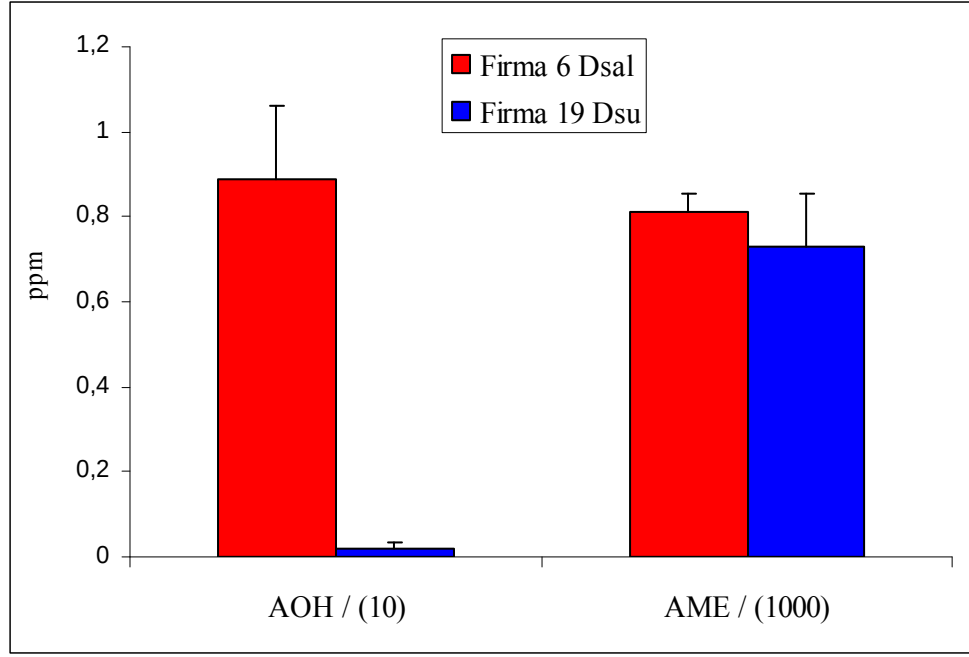
Şekil 33. Firma 18'e ait elma sularındaki mikotoksin (AOH, AME, TEA) miktarları ve standart sapmalarına ait sütun grafiği

Elma sularında ortalama $1,1457 \times 10^{-3}$ ppm AOH, $0,5421 \times 10^{-3}$ ppm AME ve 0,8897 ppm TEA (Şekil 33) tespit edilmiştir.

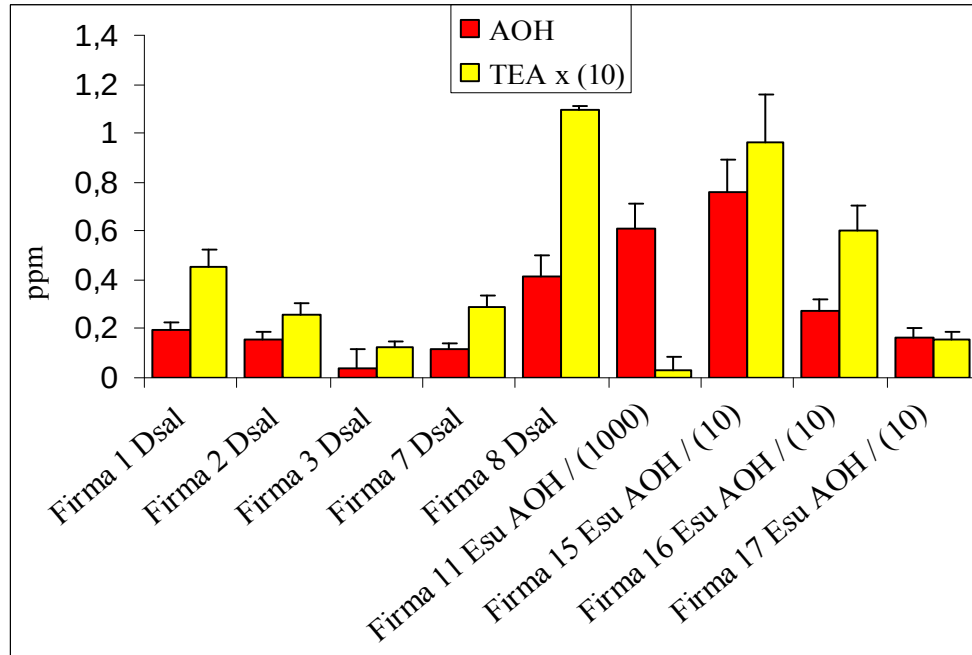


Şekil 34. AOH, AME ve TEA'nın birlikte görüldüğü gıda örnekleri ve bu örneklerdeki toksin miktarları

(Dsu : Domates suyu, Esu : Elma suyu)

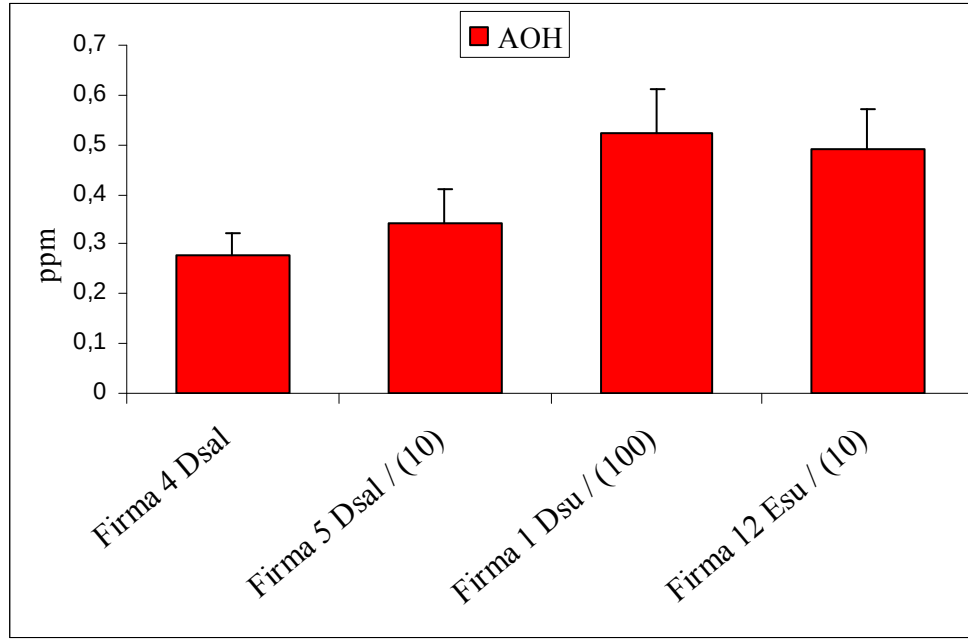


Şekil 35. AOH, AME'nin birlikte görüldüğü gıda örnekleri ve bu örneklerdeki toksin miktarları
(**Dsal** : Domates salçası, **Dsu** : Domates suyu)



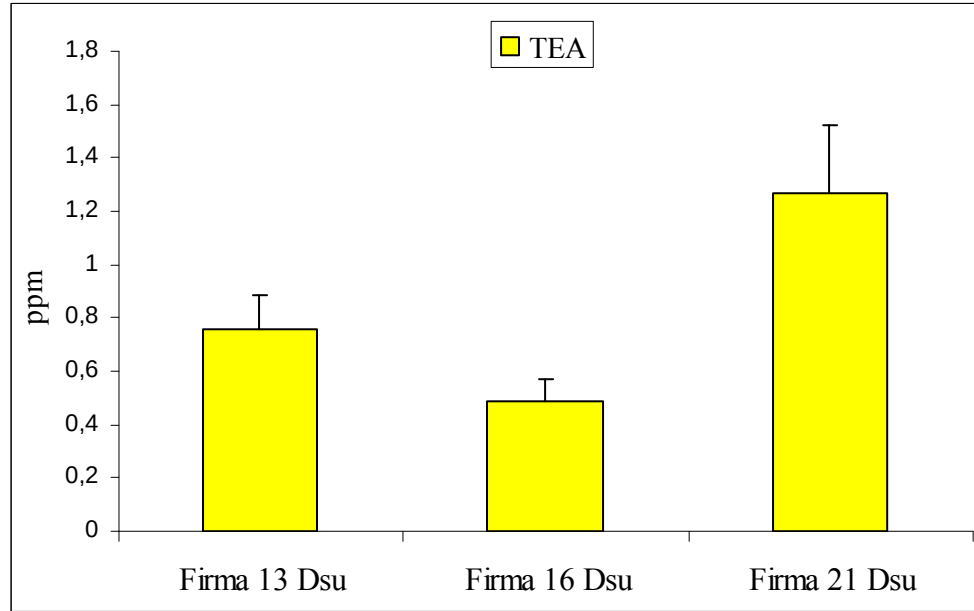
Şekil 36. AOH, TEA'nın birlikte görüldüğü gıda örnekleri ve bu örneklerdeki toksin miktarları

(**Dsal** : Domates salçası, **Esu** : Elma suyu)



Şekil 37. Sadece AOH'n görüldüğü gıda örnekleri ve bu örneklerdeki toksin miktarları

(**Dsal** : Domates salçası, **Dsu** : Domates suyu, **Esu** : Elma suyu)



Şekil 38. Sadece TEA'nın görüldüğü gıda örnekleri ve bu örneklerdeki toksin miktarları

(**Dsu** : Domates suyu)

3.2.Tartışma

Hemen hemen tüm tarım ürünlerinde *Alternaria* toksinlerine rastlamak mümkündür. *Alternaria* toksinleri domates, mandalina, salatalık, portakal, limon, kavun, biber, elma ve zeytinde tespit edilmiştir [93,97]. Tournes, Stack ve Stinson, çalışmalarında AOH, AME, TEA ve ALT toksinlerinin elma, domates, üzüm, portakal, limon ve bunların tohumlarında üretilebileceğini göstermişlerdir [96,97,100]. Yapılan bir araştırmada zeytinde, 2300 ppb AOH, 2900 ppb AME ve 1400 ppb ALT (altenuene) tespit edilmiştir. AOH ve TEA miktarlarının portakallarda 5200 ve 173900 ppb seviyelerinden daha az ve eşit olduğu görülmüştür [99]. Szczesna ve Chelkowski adlı araştırmacılar Polonya’da yetiştirilen buğdayların %94’ünde 160-1000 ppm aralığında TEA, %100’ünde 1-128 ppm aralığında AOH ve %100’ünde 1-320 ppm aralığında AME olduğunu belirtmişlerdir [117]. Visconti, Sibilia ve Sabia, otoklavlanmış toprakta kültüre edilmiş zeytin tohumu kolzalarında 12000 ppm TEA, 200 ppm AOH ve 200 ppm AME tespit etmişlerdir [118].

Çalışmalarımızda elde edilen bulgularımızda toplam 30 adet gıda örneğinden 28’inde (%93,3’ü) *Alternaria* toksini (Tablo 5, 6, 7) tespit edilmiştir. Bu gıda örnekleri içerisinde, AOH’nın 30 gıda örneğinden 25’inde (%83,3’ünde) $0,6106 \times 10^{-3}$ -0,1971 ppm (0,6106–197,1 ppb) aralığında, AME’nin 30 gıda örneğinden 12’sinde (%40’ında) $0,1219 \times 10^{-3}$ -42,8048 $\times 10^{-3}$ ppm (0,1219-42,8048 ppb) aralığında, yine TEA’nın 30 gıda örneğinden 24’ünde (%80’inde) 0,3213-10,9377 ppm (321,3-10937,7 ppb) aralığında olduğu belirlenmiştir.

Fente, Jaimez ve Vazquez [109], domates salçalarında mikotoksinlerin (AOH) HPLC ile belirlenmesinde ise lineer çalışma aralığının 5.2-196 ppb arasında olduğu rapor etmiştir. Aynı şekilde, domates salçaları, domates suları ve domates pürelerindeki AME ve AOH’nın HPLC de DAD dedektörü kullanılarak belirlenmesinde minimum değerin AME için 2.0 ppb ve AME için 5.0 ppb olduğu belirlenmiştir [119].

Arjantin’de 80 domates kökenli ürün (ketçap, salça, domates suyu gibi) üzerinde yapılan bir çalışmada örneklerin 39’unda (%49) *Alternaria* toksini tespit edilmiştir. TEA; 39-4021 ppb aralığında toplam 23 örnekte (%29), AOH; 187-8756 ppb aralığında toplam 5 örnekte (%6), AME ise 84-1734 ppb aralığında toplam 21 örnekte (%26) tespit edilmiştir. Altı örneğe TEA ve AME, 2 örneğe TEA ve AOH, 2 örneğe de AME ve AOH olmak üzere toplam 10 örnekte, 2 *Alternaria* toksini belirlenmiştir [120]. Bulgularımızda AOH ($0,6106 \times 10^{-3}$ -0,1971 ppm) ile AME ($0,1219 \times 10^{-3}$ -42,8048 $\times 10^{-3}$ ppm) bu literatüre göre daha düşük, TEA (0,3213-10,9377 ppm) ise daha yüksek bulunmuştur.

İtalya’da hasat zamanı tarlada yetiştirilen bahçe domateslerinde 4750 ppm TEA, 600 ppm AOH ve 100 ppm AME olduğu belirlenmiştir [78]. Toksin üretimi üzerine yapılan bir başka çalışmada 74 izolatta her üç toksinin (AOH, AME, TEA) olduğu, 30 izolatta AOH ve AME’nin her ikisinin olduğu, 5 izolatta TEA ve AME’nin olduğu ve 2 izolatta ise TEA ve AOH olduğu tespit edilmiştir. Onbir izolattan sadece 7 tanesinde TEA, 3 tanesinde AME ve 1 tanesinde AOH olduğu görülmüştür [121,122].

Çalıştığımız otuz farklı gıda örneğinden 10 tanesinde AOH, AME ve TEA toksinlerinin hepsi tespit edilmiştir (Şekil 34). Yine bu gıda örneklerinin 2 tanesinde sadece AOH ve AME (Şekil 35), 9 tanesinde sadece AOH ve TEA (Şekil 36), 4 tanesinde sadece AOH (Şekil 37), 3 tanesinde sadece TEA (Şekil 38), 2 tanesinde de AOH, AME ve TEA’nın varlığı belirlenmiştir (Tablo 5).

Bu gıda örnekleri içerisinde 10 farklı domates salçasının 8 tanesinde (%80) AOH, 1 tanesinde AME (%10) ve 5 tanesinde de (%50) TEA olduğu saptanmıştır. Yapılan bir araştırmada domates salçalarına ait örneklerin %10’undan daha azında TEA’ya rastlanmıştır [109]. Araştırmamızda ise bu oran % 50 olarak bulunmuştur.

Domates salçalarında elde edilen bulgular doğrultusunda en fazla AOH miktarı firma 1’de (Şekil 6), en düşük AOH miktarı ise firma 5’te (Şekil 10) tespit edilmiştir. AME sadece firma 6’da (Şekil 11) iken, en fazla TEA miktarı firma 8’de (Şekil 13), en düşük TEA miktarı ise firma 3’te (Şekil 8) tespit edilmiştir. Firma 9 ve firma 10’a ait domates salçalarında ise AOH, AME ve TEA tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda domates salçalarında AOH miktarı 34,3-417,5 ppb, TEA miktarı 1249,1-10937,7 ppb, AME miktarı ise 81,3 ppb olarak bulunmuştur. Scott [96], yaptığı araştırmada, elmada 58800 ppb’den daha az TEA, domateste ise 5300 ppb AOH ve 139000 ppb TEA tespit etmiştir. Bulgularımızla karşılaştırıldığında domateste AOH miktarının aralığı literatürle uyumlu iken, TEA miktarı literatüre göre daha düşük bulunmuştur.

Çalışmamızda domates sularında AOH miktarı 1,9515-8,2657 ppb, AME miktarı 0,1219-42,8048 ppb, TEA miktarı ise 489,5-2384,1 ppb aralığında bulunmuştur. 10 farklı domates suyunun 7 tanesinde AOH, 6 tanesinde AME ve 8 tanesinde TEA olduğu saptanmıştır. Domates sularında elde edilen bulgular doğrultusunda en fazla AOH miktarı firma 5’te (Şekil 16), en düşük AOH miktarı ise firma 19’da (Şekil 21) tespit edilmiştir. AME, en fazla firma 12’de (Şekil 18), en düşük firma 20’de (Şekil 22) tespit edilmiştir. En fazla TEA miktarı firma 5’te (Şekil 16), en düşük TEA miktarı ise firma 16’da (Şekil 20) tespit edilmiştir.

Brezilya’da konserve domates sularında, domates özünde, domates püresinde, domates salçasında ve pişirilmiş domateslerde en fazla TEA miktarı 178 ppb olarak tespit edilmiştir [119]. Çalışmamızda kullandığımız domates salçalarında Motta vd., [119] buldukları miktardan daha yüksek miktarda TEA (321,3-10937,7 ppb) bulunmuştur.

Araştırmamızda ise elma sularında AOH miktarı 0,6106-246,8895 ppb, AME miktarı 0,2033-3,9172 ppb, TEA miktarı ise 321,3-9618,9 ppb aralığında bulunmuştur. On farklı elma suyun 10 tanesinde (%100) AOH, 5 tanesinde (%50) AME ve 9 tanesinde (%90) TEA olduğu saptanmıştır. Elma sularında elde edilen bulgular doğrultusunda en fazla AOH miktarı firma 2’de (Şekil 25), en düşük AOH miktarı ise firma 11’de (Şekil 26) tespit edilmiştir. AME, en fazla firma 13’te (Şekil 28), en düşük firma 2’de (Şekil 25) tespit edilmiştir. En fazla TEA miktarı firma 15’te (Şekil 30), en düşük TEA miktarı ise firma 11’de (Şekil 26) tespit edilmiştir.

Genel olarak Tablo 5, 6 ve 7 incelendiğinde AOH miktarı, firma 1’e ait domates sularında (Şekil 6) en yüksek ($5,2502 \times 10^{-3}$ ppm) değerle ilk sırayı almıştır. En düşük AOH miktarının ($0,6106 \times 10^{-3}$ ppm) ise firma 11’e ait elma sularında (Şekil 26) olduğu tespit edilmiştir. AME miktarı en yüksek ($42,8048 \times 10^{-3}$ ppm) firma 12’ye ait domates sularında (Şekil 18), en düşük ($0,7319 \times 10^{-3}$ ppm) ise firma 20’ye ait domates sularında (Şekil 22) olduğu tespit edilmiştir. TEA miktarı en fazla (10,9377 ppm) firma 8’e ait domates salçalarında (Şekil 13), en düşük (0,3213 ppm) ise firma 11’e ait elma sularında (Şekil 26) olduğu tespit edilmiştir.

Araştırmamızda ve diğer araştırmalarda, gıda örneklerinde tespit edilen toksin değerleri oldukça önemlidir. Özellikle *Alternaria* toksinlerinin gıda maddelerindeki miktarı canlılar üzerine olan etkilerinden dolayı büyük önem taşımaktadır.

Yemek borusu kanserinin görüldüğü yüksek morbiditeye (belirli bir nüfustaki hasta sayısının, toplam nüfusa oranı) sahip bölgelerde mısırın *Alternaria alternata* ile kontaminasyon düzeyi, düşük morbiditeye sahip bölgelere göre daha yüksektir [123]. Bu nedenle, *A. alternata* ile kontamine olmuş gıda maddelerinin tüketimi daha yüksek düzeyde yemek borusu kanseri insidansı (belirli bir nüfusta, belirli bir zaman dilimi içerisinde, belirli bir hastalık veya hastalıkların yeni olgularının sayısı) şeklinde yorumlanmıştır [84]. *A. alternata* ekstraktlarının, HeLa hücreleri ve laboratuvar hayvanları için toksik özellikte olduğu bulunmuştur [124-126]. *A. alternata* ile küflenmiş gıdalar, sıçanlarda iştahsızlık ve tümörlerine sebep olmuştur [123].

AME karaciğer homojenatı tarafından AOH'a demetile (genin aktif kalabilmesi için bunların metillenmemiş durumda korunması) olabilir [127]. Sıçanlar ve tavuklar üzerinde 21 gün boyunca yapılan bir araştırmada AOH ile beslenen sıçanlarda ve tavuklarda herhangi bir zehirlenme belirtisine rastlanmamıştır [126]. Önceleri, AOH'un rekabetçi bir şekilde sıçan beyinde asetil kolin esterazları *in vitro* olarak inhibe ettiği, *in vitro* olarak fetal özofagusun epitelyimunda lipid peroksidasyona (yağların yükseltgenmesi sonucu bozulması) neden olduğu, fitotoksik ve DNA-ekleyici olduğu ve UV ışınlarının varlığında *E. coli* ile DNA çapraz bağlayıcı olduğu, kapalı sirküler çift suşlu aşırı sargılı DNA'da DNA tek suşlu kırılmalarına neden olduğu ve birincil sıçan hepatositlerine kültür uyguladığı rapor edilmiştir [123,128-130]. Yapılan diğer araştırmalar, AOH'un metabolik etkinliği olan ve olmayan TA98 ve TA100 suşlarına mutajenik olmadığını göstermiştir [131,132]. Memeli sistemlerde AOH'un genotoksik aktivitesiyle ilgili bir kaç rapor, epidermal büyüme faktörü reseptör genin çoğalması insana ait fetal özofagal epitelyumda *in vitro* olarak hücrel ras geninin kodon 12'sinde mutasyonlar ve hücrel FL hücrelerinde AOH tarafından DNA eklentileri oluşturulduğunu göstermiştir [133].

Bir başka araştırmada AOH'un *in vitro* olarak östrojenik potansiyel sergilediğini bildirilmiştir. Ayrıca AOH, hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ve V79 hücrelerinde güçlü bir klastojen olduğu kanıtlanmıştır [134].

Alternaria toksinleri *in vitro* olarak memelilere ve bakteri hücrelerinde sitotoksiktir, farelerde ve hamsterlerde fetotoksik ve teratojeniktirler (hehangi bir ürünün (ilacın) hamile bir hastaya verilmesi durumunda hastanın o hamilelikten doğacak bebeğinin bu ürünün kullanımından dolayı belirgin zarar görmesi) [118]. Bu toksinler, bu bakımdan fumonisin B1 kadar aktif olmasalar da oran kısıtlayıcı seramid sentaz enzimlerini inhibe ederek sfingolipid sentezini bloke ederler [135,136]. *A. alternata* grubu bitkiye özgü fitotoksinleri de üretir [136]. AAL toksini yapısal olarak fumonisin B1'e benzerdir ve genetik olarak duyarlı domates hatlarında nekrotik lezyonlara neden olmaktadır [137,138].

Alternaria, sağlıklı bireylerin enfeksiyonlarında *Aspergillus* ve *Fusarium* kadar yaygın bir şekilde görülmemektedir. *Alternaria alternata* ve *Alternaria tenuissima* insanlarda enfeksiyonunun en sık görülen ajanlarıdır, fakat bunlardan başka etkili olan altı tür daha vardır [139]. *Alternaria alternata*'nın sağlıklı bireylerde onikomikoz (tırnakta yerleşen mantar hastalığı) ürettiği bilinmektedir [140-143]. Ancak en yaygın *Alternaria* enfeksiyonları immünitesi zayıflamış hastalarda görülmektedir. Bu tür hastalarda, *A.*

alternata ve *A. tenuissima* cilt enfeksiyonlarına, keratomikoz (korneanın mantarlı hali), ve sinonasal enfeksiyonlara neden olabilir [144-147].

Alternaria alternata'nın neden olduğu sensitizasyon iç ve dış ortamlarda özellikle sıcak iklimlerde Tip-I alerjileri üreten ve en çok gözlenen küflerden birisidir [148]. *A. tenuis*'un yanı sıra bu küfün dünya çapında astıma ve alerjik konjunktivite (gözün iltihaplanması) neden olduğu bilinmektedir [149-151]. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar, Birleşik Devletler ve İskandinavya'da incelenen hastaların yüzde üçü ve dördü arasında bir kısmının, *A. alternata*'ya karşı olumlu reaksiyon gösterse de *A. alternata*'ya karşı sensitizasyonun yaygın olduğunu ortaya çıkarmıştır [152,153].

Alternaria spp. kümes hayvanlarının hemorajik sendromu diye adlandırılan bir hastalığın ortaya çıkmasında etkili olmuştur. *Alternaria* kültürlerinin ekstraktları veya *Alternaria spp.*'nin kültürünün yapıldığı miktarlar tavuk embriyoları ve günlük civcivler için toksik olduğu gözlenmiştir [125,154-155]. Bir çalışmada çok sayıda farklı *Alternaria* izolatlarıyla küflenmiş tahıllar toksin içeriği bakımından analiz edilmiştir [125]. Bu küflerde dört toksinin tümü bulunsun da, sadece TEA içeren diyetler toksisite göstermiştir. Safleştirilmiş TEA tavuk embriyolarında ve günlük civcivlerde mortaliteye de neden olmuştur [156,157]. Her bir yumurtaya uygulanan AOH, AME, ve ALT'nin maksimum dozları sırasıyla 1,000, 500 ve 1,000 µg olmuştur, burada limitler dimetil sülfoksitteki metabolitlerin çözünürlüğüne göre belirlenmiştir. Test edilen dozların hiçbirinde kontrollere kıyasla mortalite açısından ve yumurtadan çıkan civcivlerin ağırlığında veya görünüşü bakımından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir [157].

TEA, yumurta başına 150 µg'dan 1500 µg'a kadar doza bağlı mortalite yanıtları ortaya çıkarmıştır. [156].

Tavuk embriyo deneyi, diğer bileşenlerin yanı sıra sıklıkla mikotoksinlerin toksisitesinin uygun bir deneyi olarak kullanılmıştır [156,158,159]. Bu çalışmanın sonuçları AOH, AME ve ALT'nin bu sistemde kullanılan maksimum dozlarda herhangi bir toksik etkiye neden olmadığını göstermiştir. Mortalite olmadığı gibi bu metabolitler gelişen embriyo üzerinde herhangi önemli bir teratojenisiteye (fetüste gelişimsel anomaliler) yol açmamıştır. Test edilen doz aralığında mortaliteye neden olmasına rağmen TEA ölümcül ve subletal doz seviyelerinde önemli bir teratojenik etkiye yol açmamıştır [158,159].

Tenuazonik asit (TEA), Crofton weed (*Eupatorium adenophorum*) diye anılan kahverengi yaprak nokta hastalığına neden olan bir fitotoksindir [160,161]. Ispanaklar

üzerinde yapılan bir çalışmada, TEA'nın fotosistem II'nin etkinliğini (PSII) inhibe ettiği ve L50-değerinin 48 µg/ml olduğu gösterilmiştir [161]. Klorofil floresanlardan elde edilen kanıtlar, TEA'nın PSII'nin alıcı tarafında yer alan QA ve QB arasındaki elektron aktarımını kesintiye uğrattığını PSII'nin donör tarafında yer alan oksijen-geliştirme kompleksi (OEC) olan anten pigmentleri üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Floresan indüksiyon kinetiği ve 14C-Atrazin ile yapılan deneyler arasındaki rekabet deneyimleri esas alındığında, TEA'nın ortak eylem hedeflerine rağmen atrazin ile aynı bağlayıcı ortamı yani QB-alanını paylaşmadığı gösterilmiştir. TEA'nın PSII inhibitörlerinin yeni sınıfının bir üyesi olduğu sonucuna ulaşılmıştır [160-165].

Progesteron (P4) sentezi üzerine yapılan bir çalışmada 0.8 µM AOH ve AME'nin P4 sentezini inhibe ettiğini ve hücre canlılığının düşmesine sebep olduğu gösterilmiştir. Aynı dozda TEA ise ne canlılığı bozmakta ne de P4 salgısını engellemektedir [166].

Hücresiz koşullarda AOH ve AME topoizomera I ve IIα'yı inhibe ettiği görülmüştür [165]. Çin hamsterlerin akciğer fibroblastlarındaki V79 hücrelerinde, HepG2 hepatosellüler karsinom hücrelerinde ve HT-29 insana ait kolon adenokarsinom hücrelerinde yapılan çalışmada, AOH ve AME'nin DNA suş-kırıcı aktivitesini düşürdüğü belirlenmiştir [167].

Bu sonuçlar, funguslar için uygun şartlar sağlandığında meyvelerin potansiyel olarak toksinlerle kontamine olduklarını göstermiştir. Bundan dolayı tüketiciler, üzerine toprak bulaşmış veya çürümüş meyveleri satın almamalıdır. İşlenmiş meyveler, işlemeden veya paketlemeden önce toprağı temizlenmemiş ya da çürük olanları çıkarılmamışsa, bu meyveler de insan besinlerinde ciddi düzeylerde toksin üretebilir. Bu nedenle taze meyve tüketen insanların daha az miktarda *Alternaria* toksinlerine maruz kaldıklarına inanılmaktadır. Bu yöndeki çalışmalar insanların *Alternaria* toksinlerinden büyük ölçüde etkilendiklerini göstermektedir. Bunun önüne geçebilmek veya en aza indirebilmek için gıda ürünlerinin tarlada yetiştirilmesi, toplanması, nakil edilmesi, istiflenmesi, depolanması ve işlenmesi aşamalarında dikkat edilmesi gereken hususlara riayet edilmelidir.

Sonuç olarak, küflerin hemen hepsi su ve toprakta bulunmaktadır. Buna bağlı olarak bitkilerdeki küflerin bulaşma kaynağı su ve topraktır. Öyleyse ürün yetiştirilme aşamasında sulama suyu önem taşımaktadır. Ayrıca ürünün toprakla teması en aza indirilmelidir.

Hasat sırasında ürünler dikkatlice toplanmalıdır. El ile toplama oluyorsa mutlak suretle eldiven giyilmeli, mikotoksin ihtiva eden çürümüş veya çürümeye yüz tutmuş hasarlı meyveler toplanmamalıdır. Kontaminasyonu önlemek amacıyla bu tip meyveler ortamdaki uzaklaştırılarak imha edilmeli sağlam olanlarla temas ettirilmemelidir.

Toplanan ürünler devamlı aynı kaplarda istifleniyorsa bu kaplarda kontaminasyon riski artacaktır. Bunu önlemek için tek kullanımlık kaplar kullanılmalı, üzeri streç filmle kapatılmalıdır. Büyük çapta olan kaplar da, ardı ardına kullanımlarda dezenfekte edilmelidir.

İstiflenmiş ürünlerin bulunduğu yerler nem rutubetin minimuma indirildiği yerler olmalıdır. Ayrıca ortamın serin ve havalandırılmasına dikkat edilmelidir.

Nakil esnasında ise mümkün olduğu kadar soğutuculu araçlarla nakil yapılmalı ürünler ezilmeden kısa sürede yerine ulaştırılmalıdır.

Depolamada ise fiziki şartlar yerine getirilmeli ürünün cinsine göre ısı, hava, nem ve istif miktarları mikotoksin çoğalmasını minimuma indirecek şekilde olmalıdır.

Ürünün işlenmesi Türk Gıda Kodeksi'ne uygun ölçümlerden geçirilerek yapılmalıdır. Bu şartlarda üretilmeyen ürünler satın alınmamalıdır. Tüketicilere ulaşan bu gıdalar insanlar tarafından raf ömrü bitmeden tüketilmelidir. İnsanlar bu konuyla ilgili daha fazla araştırma ve çalışma yapılarak halk bilinçlendirilmelidirler.

KAYNAKLAR

- [1] **Tunail, N.**, 2000. Funguslar ve Mikotoksinler, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını, Sim Matbaası, Ankara, 13, **03**, 522.
- [2] **Anonymous.**, 1979. Environment Health Criteria 11: Mycotoxins, W.H.O., Geneva; 127.
- [3] **Herford, O.**, 1998. Introduction To Global Change I-Lecture Notes, America Poet/Humorist Allan: SNRE 110/AOSS 171 Introduction to Global Change.
- [4] **Basmacıoğlu, H., Ergül, M.**, 2003. Yemlerde Bulunan Toksinler ve Kontrol Yolları, Hayvansal Üretim, **44**(1): 9-17.
- [5] **Küçük, Ç., Kıvanç, M., Kınacı, E., Kınacı, G.**, 2003. Antifungal peptidler, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 01, **10**, 1-8.
- [6] **Ito, K., Tanaka, T., Hatta, R., Yamamoto, M., Akimitsu, K. and Takashi, T.**, 2004. Dissection of the host range of the fungal plant pathogen *Alternaria alternata* by modification of secondary metabolism Molecular Microbiology, **52**(2), 399–411.
- [7] **Smith, J.E., Moss, M.O.**, 1985. Mycotoxins: Formation, Analysis and Significance, John Wiley and Sons, Chichester, 36-41.
- [8] **Flaoyen, A., Froslie, A.**, 1997. Photosensitization disorders In: D’Mello, J.P.F. (Ed.), Handbook of Plant and Fungal Toxicants, CRC Press, Boca Raton, FL, 191-204.
- [9] **Van Egrnond, H.P.**, 1989. Aflatoxin M₁: occurrence, toxicity, regulation. In: van Egrmond, H.P. (Ed.), Mycotoxins in Dairy Products. Elsevier Applied Science, London, 11-55.
- [10] **Smith, J.E.**, 1997. Aflatoxins. In: D’Mello, J.P.F. (Ed.), Handbook of Plant and Fungal Toxicants. CRC Press, Boca Raton, FL, 269-285.
- [11] **Scott, P.M.**, 1989. The natural occurrence of trichothecenes. In: Beasley, V.D. (Ed.), Trichothecene Mycotoxicosis: Pathophysiologic Effects, Vol.1. CRC Press, Boca Raton, FL, 1-26.
- [12] **D’Mello, J.P.F., Porter, J.K., Macdonald, A.M.C., Placinta, CM.**, 1997. Fusarium mycotoxins, In: D’Mello, J.P.F. (Ed.), Handbook of Plant and Fungal Toxicants, CRC Press, Boca Raton, FL, 287-301.
- [13] **Flannigan, B.**, 1991. Mycotoxins. In: D’Mello, J.P.F., Duffus, C.M., Duffus, J.H. (Eds.), Toxic Substances in Crop Plants. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 226-257.

- [14] **Doko, M.B., Rapior, S., Visconti, A., Schjoth, J.E.,** 1995. Incidence and levels of fumonisin contamination in maize genotypes grown in Europe and Africa. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 429-434.
- [15] **Joost, R.E.,** 1995. Acremonium in fescue and ryegrass: Boon or Bane? A review. *J. Anim. Sci.*, **73**, 881-888.
- [16] **Cheeke, P.R.,** 1995. Endogenous toxins and mycotoxins in forage grasses and their effects on livestock, *J. Anim. Sci.*, **73**, 909-918.
- [17] **Cross, D.L., Redmond, L.M., Strickland, J.R.,** 1995. Equine fescue toxicosis: signs and solutions, *J. Anim. Sci.*, **73**, 899-908.
- [18] **Paterson, J., Frocherio, C., Larson, B., Samford, M., Kerley, M.,** 1995. The effects of fescue toxicosis on beef cattle productivity, *J. Anim. Sci.*, **73**, 889-898.
- [19] **Porter, J.K.,** 1995. Analysis of endophyte toxins: fescue and other grasses toxic to livestock, *J. Anim. Sci.*, **73**, 871-880.
- [20] **Porter, J.K.,** 1997. Endophyte alkaloids. In: D'Mello, J.P.F. (Ed.), *Handbook of Plant and Fungal Toxicants*, CRC Press, Boca Raton, FL, 51-62.
- [21] **Strange, R.N.,** 1991. Natural occurrence of mycotoxins in groundnuts, cottonseed, soya and cassava. In: Smith, J.E., Henderson, R.S. (Eds.), *Mycotoxins and Animal Foods*, CRC Press, Boca Raton, FL, 341-362.
- [22] **Shotwell, O.L.,** 1991. Natural occurrence of mycotoxins in corn. In: Smith, J.E., Henderson, R.S. (Eds.), *Mycotoxins and Animal Foods*, CRC Press, Boca Raton, FL, 325-340.
- [23] **Yoshizawa, T.,** 1991. Natural occurrence of mycotoxins in small grain cereals (wheat, barley, rye, oats, sorghum, millet, rice). In: Smith, J.E., Henderson, R.S. (Eds.), *Mycotoxins and Animal Foods*, CRC Press, Boca Raton, FL, 301-324.
- [24] **Marasas, W.F.O.,** 1995. Fumonisin: their implications for human and animal health, *Nat. Toxins*, **3**, 193-198.
- [25] **Van Egrnond, H.P.,** 1991. Limits and regulations for mycotoxins in raw materials and animal feeds. In: Smith, J.E., Henderson, R.S. (Eds.), *Mycotoxins and Animal Foods*, CRC Press, Boca Raton, FL, 423-436.
- [26] **Campbell, K.W., White, D.G.,** 1995. Evaluation of corn genotypes for resistance to *Aspergillus* ear rot, kernel infection and aflatoxin production, *Plant Dis.*, **79**, 1039-1045.
- [27] **Schaafsma, A.W., Miller, J.D., Savard, M.E., Ewing, R.J.,** 1993. Ear rot development and mycotoxin production in corn in relation to inoculation method, corn hybrid and species of *Fusarium*, *Can. J. Plant Pathol.*, **15**, 185-192.

- [28] **Brown, R.L., Cleveland, T.E., Payne, G.A., Woloshuk, C.P., Campbell, K.W., White, D.G.,** 1995. Determination of resistance to aflatoxin production in maize kernels and detection of fungal colonization using an *Aspergillus* flaws transformant expressing *Escherichia coli* B-glucuronidase, *Phytopathology*, **85**, 983-989.
- [29] **D'Mello, J.P.F., Macdonald, A.M.C., Cochrane, M.P.,** 1993. A preliminary study of the potential for mycotoxin production in barley grain, *Aspects Appl. Biol.*, **36**, 375-382.
- [30] **Farrar, J.J., Davis, R.M.,** 1991. Relationships among ear morphology, western flower thrips and *Fusarium* ear rot of corn, *Phytopathology*, **81**, 661-666.
- [31] **Badii, F., Moss, M.O.,** 1988. The effect of the fungicides tridemorph, fenpropimorph and fenarimol on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* Speare, *Lett. Appl. Microbial.*, **7**, 37-39.
- [32] **Diekman, M.A., Green, M.L.,** 1992. Mycotoxins and reproduction in domestic livestock, *J. Anim. Sci.*, **70**, 1615-1627.
- [33] **Charmley, E., Trenholm, H.L., Thompson, B.K., Vudathala, D., Nicholson, J.W.G., Prelusky D.B., Charmley L.L.,** 1993. Influence of level of deoxynivalenol in the diet of dairy cows on feed intake, milk production and its composition, *J. Dairy Sci.*, **76**, 3580-3587.
- [34] **Prelusky, D.B., Rotter, B.A., Rotter, R.G.,** 1994. Toxicology of mycotoxins. In: Miller, J.D., Trenholm, H.L. (Eds.), *Mycotoxins in Grain, Compounds Other Than Aflatoxin*. Eagen Press, St. Paul, 359-403.
- [35] **Mirocha, C.J., Schauerhamer, B., Pathre, S.V.,** 1974. Isolation, detection and quantification of zearalenone in maize and barley, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **57**, 1104-1110.
- [36] **Weaver, G.A., Kurtz, H.J., Behrens, J.C., Robison, T.S., Seguin, B.E., Bates, F.Y., Mirocha, C.J.,** 1986. Effect of zearalenone on the fertility of virgin dairy heifers. *Am. J. Vet. Res.*, **47**, 1395-1397.
- [37] **Towers, N.R., Sprosen, J.M.,** 1993. Zearalenone-induced infertility in sheep and cattle in New Zealand, *N.Z. Vet. J.*, **41**, 223-224.
- [38] **Porter, J.K., Thompson, F.N.,** 1992. Effects of fescue toxicosis on reproduction in livestock, *J. Anim. Sci.*, **70**, 1594-1603.
- [39] **Gregory, P.H.,** 1973. *The Microbiology of the Atmosphere* (2nd ed.) Great Britain: Leonard Hill.
- [40] **Rotem, J.,** 1994. *The Alternaria*, St. Paul, MN: APS Press.

- [41] **Gallagher, P.F., Walker, B., Edgar, J.A.,** 1994. Quantitative analysis of phomopsins in Phomopsis- resistant and Phomopsis-susceptible lupin stubbles. In: Colegate, SM., Rorling, P.R. (Eds.), *Plant- Associated Toxins*. CAB International, Wallingford, 155-160.
- [42] **Barkai-Golan, R.,** 2001. *Post-Harvest Diseases of Fruits and Vegetables, Development and Control*. Amsterdam: Elsevier.
- [43] **Barkai-Golan, R.,** 2002. An Annotated Check-List of Post-Harvest Fungal Diseases of Fruits and Vegetables in Israel, 2nd ed. In Department of Postharvest Science of Fresh Produce, Bet Dagan, Israel: ARO, the Volcani Center.
- [44] **Neergaard, P.,** 1945. *Danish Species of Alternaria and Stemphylium*, London: Oxford University Pres.
- [45] **Ellis, M.B.,** 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*, London, Kew, UK: Commonwealth Mycological Inst.
- [46] **Ellis, M.B.,** 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. London, Kew, UK: Commonwealth Mycological Inst.
- [47] **Kwasna, H.A.,** 1992. Ecology and nomenclature of *Alternaria*, In *Alternaria Biology, Plant Diseases and Metabolites, Topics in Secondary Metabolism* (J. Chelkowski and A. Visconti, eds), Amsterdam: Elsevier, **3**, 63–100.
- [48] **Simmons, E.G.,** 1992. *Alternaria* taxonomy: current status, viewpoint, challenge, In *Alternaria Biology, Plant Diseases and Metabolites* (J. Chelkowski and A. Visconti, eds), Amsterdam: Elsevier, 1–35.
- [49] **Roberts, R.G., Reymond, S.T., and Andersen, B.,** 2000. RAPD fragment pattern analysis and morphological segregation of small-spored *Alternaria* species and speciesgroups, *Mycol. Res.*, **104**, 151–160.
- [50] **Andersen, B. and Thrane, U.,** 1996. Differentiation of *Alternaria infectoria* and *Alternaria alternata* based on morphology, metabolite profiles, and cultural characteristics, *Can. J. Microbiol.*, **42**, 685–689.
- [51] **Panigrahi, S.,** 1997. *Alternaria* toxins, In *Handbook of Plant and Fungal Toxicants* (J.P.F.D’Mello, ed.), 319–337. Boca Raton, FL: CRC Press.
- [52] **Sommer, N.F.,** 1985. Role of controlled environments in suppression of postharvest Diseases, *Can. J. Plant Pathol.*, **7**, 331–339.
- [53] **Dennis, C.,** 1983. Soft fruits. In *Post-Harvest Pathology of Fruits and Vegetables* (C. Dennis, ed.), New York: Academic Pres, 23–42.
- [54] **Morris, P.F., Connolly, M.S., and St. Clair, D.A.,** 2000. Genetic diversity of *Alternaria alternata* isolated from tomato in California assessed using RAPOs, *Mycol. Res.*, **104**, 286–292.

- [55] **Fallik, E., Aharoni, Y., Grinberg, S., Copel, A., Klein, J.D.,** 1994. Postharvest hydrogen peroxide treatment inhibits decay in eggplant and sweet red pepper, *Crop. Prot.*, **13**, 451-454.
- [56] **Tran-Dinh, N. and Hocking, A.,** 2006. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers for *Alternaria alternata*. *Molec. Ecol. Notes*, **6**, 405–407.
- [57] **Logrieco, A., Bottalico, A., Mule', G., Moretti, A., Perrone, G.,** 2003. Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops, *Eur. J. Plant Pathol.*, **109**, 645–667.
- [58] **Andersen, B. and Frisvad, J.-C.,** 2004. Natural occurrence of fungi and fungal metabolites in moldy tomatoes, *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 7507–7513.
- [59] **Pose, G., Ludemann, V., Segura, J., and Fernandez-Pinto, V.,** 2004. Mycotoxin production by *Alternaria* strains isolated from tomatoes affected by Blackmold in Argentina, *Mycotoxin Res.*, **20**, 80–85.
- [60] **Filtenborg, O., Frisvad, J.C., and Samson, R.A.,** 2002. Specific association of fungi to foods and influence of physical environmental factors, In *Introduction to Food-Borne Fungi* (R.A. Samson, E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad, and O. Filtenborg, eds), Centraalbureau voor Schimmeltcultures, Baarn, the Netherlands, 306–320.
- [61] **Snowdon, A.L.,** 1992. *Post-Harvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables*, Vegetables, Boca Raton: FL: CRC Press, **2**.
- [62] **Droby, S., Prusky, D., Dinooor, A., and Barkai-Golan, R.,** 1984. *Alternaria alternata*: A new pathogen on stored potatoes, *Plant Dis.*, **68**, 160–161.
- [63] **Snowdon, A.L.,** 1990. *Post-Harvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables*, General Introduction and Fruits, Boca Raton: FL: CRC Press, **1**.
- [64] **Serdani, M., Kang, J.-C., Andersen, B., and Crous, P.W.,** 2002. Characterization of *Alternaria* species-groups associated with core rot of apples in South Africa, *Mycol. Res.*, **106**, 561–569.
- [65] **Prusky, D., Ben-Arie, R., and Guelfat-Reich, S.,** 1981. The black spot – Etiology and histology of *Alternaria* rot of persimmon fruits, *Phytopathology*, **71**, 1124–128.
- [66] **Eckert, J.W. and Ogawa, J.M.,** 1988. The chemical control of postharvest diseases: deciduous fruits, berries, vegetables and root/tuber crops, *Ann. Rev. Phytopathol.*, **26**, 433–469.
- [67] **Hewitt, W.B.,** 1974. Rots and bunch rots of grapes, *Bull. Calif. Agric. Street No. 868*, 52.

- [68] **Magnoli, C., Violante, M., Combina, M., Palacio, G., Dalcero, A.,** 2003. Mycoflora and ochratoxin producing strains of *Aspergillus* section *Nigri* in wine grapes in Argentina, *Lett. Appl. Microbiol.*, **37**, 179–184.
- [69] **Wright, E.R., Rivera, M.C., Esperon, J., Cheheid, A., Rodríguez, A.,** 2004. *Alternaria* leaf spot, twig blight and fruit rot of highbush blueberry in Argentina, *Plant Dis.*, **88**, 1383.
- [70] **Prusky, D., Fuchs, Y., and Yanko, U.,** 1983. Assessment of latent infections as a basis for control of postharvest disease of mango, *Plant Dis.*, **67**, 816–818.
- [71] **Timmer, L.W., Peever, T.L., Solel, Z., and Akimitsu, K.,** 2003. *Alternaria* diseases of Citrus-novel pathosystems. *Phytopathol. Mediterr.*, **42**, 99–112.
- [72] **Peever, T.L., Carpenter-Boggs, L., Timmer, L.W., Carris, L.M., Bhatia, A.,** 2005. Citrus black rot is caused by phylogenetically distinct lineages of *Alternaria alternata*. *Phytopathology*, **95**, 512–518.
- [73] **Eckert, J.W. and Eaks, I.L.,** 1989. Postharvest disorders and diseases of citrus fruit, In *The Citrus Industry* (W. Reuther, W.C. Calavan, and G.E. Carman, eds), Oakland: University of California, Div. Agric. Sci, **5**, 179–260.
- [74] **Visconti, A., Logrieco, A., and Bottalico, A.,** 1986. Natural occurrence of *Alternaria* mycotoxins in olives – Their production and possible transfer into the oil, *Food Addit. Contam.*, **3**, 323–330.
- [75] **Scott, P.M.,** 2004. Other mycotoxins, In *Mycotoxins in Food* (N. Magan and M. Olsen, eds), Boca Raton: CRC press, 406–441.
- [76] **Bottalico, A. and Logrieco, A.,** 1998. Toxigenic *Alternaria* species of economic importance, In *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety* (K.K. Sinha and D. Bhatnagar, eds), New York: Marcel Dekker, 65–108.
- [77] **Ramm, K., Ramm, M., Liebermann, B., and Reuter, G.,** 1994. Studies of the biosynthesis of tentoxin by *Alternaria alternata*, *Microbiology*, **12**, 3257–3266.
- [78] **Combina, M., Dalcero, A., Varsavsky, E., Torres, A., Etcheverry, M., Rodríguez, M., Gonzalez, Q.H.,** 1999. Effect of heat treatments on stability of alternariol, alternariol monomethyl ether and tenuazonic acid in sunflower flour, *Mycotoxin Res.*, **15**, 33–38.
- [79] **Schrader, T.J., Cherry, W., Soper, K., Langlois, I.,** 2001. Examination of *Alternaria alternata* mutagenicity and effects of nitrosylation using the Ames Salmonella test, *Teratogen, Carcinogen. Mutagen.*, **21**, 261–274.
- [80] **Stack, M.E. and Prival, M.J.,** 1986. Mutagenicity of *Alternaria* metabolites altertoxin I, II and III. *Appl. Environ. Microbiol.*, **52**, 718–722.

- [81] **Liu, G.T., Qian, Y.Z., Zhang, P., Dong, Z.M., Shi, Z.Y., Zhen, Y.Z., Miao J. and Xu, Y.M.,** 1991. Relationships between *Alternaria alternata* and esophageal cancer, In Relevance to Human Cancer of N-Nitroso Compounds, Tobacco Smoke and Mycotoxins (I.K. O'Neill, J. Chen, and H. Bartsch, eds), Lyon, France: Int. Agency for Research on Cancer, 258–262.
- [82] **Brugger, E.M., Wagner, J., Schumacher, D.M., Koch, K., Podlech, J., Metzler, M., Lehmann, L.,** 2006. Mutagenicity of the mycotoxin alternariol in cultured mammalian cells, *Toxicol. Lett.*, **164**, 221–30.
- [83] **Lehmann, L., Wagner, J., and Metzler, M.,** 2006. Estrogenic and clastogenic potential of the mycotoxin alternariol in cultured mammalian cells, *Food Chem. Toxicol.*, **4**, 398–408.
- [84] **Vin˜as, I., Bonet, J., and Sanchis, V.,** 1992. Incidence and mycotoxin production by *Alternaria tenuis* in decayed apples, *Lett. Appl. Microbiol.*, **14**, 284–287.
- [85] **Yekeler, H., Bitmis, K., Ozcelik, N., Doymaz, M.Z., Calt, M.,** 2001. Analysis of toxic effects of *Alternaria* toxins on esophagus of mice by light and electron microscopy, *Toxicol. Pathol.*, **29**, 492–497.
- [86] **Harvan, D.J., and Pero, R.W.,** 1976. The structure and toxicity of the *Alternaria* metabolites, *Adv. Chem. Ser.*, **149**, 344–355.
- [87] **Chelkowski, J. and Visconti, A.,** 1992. *Alternaria* Biology, Plant Diseases and Metabolites, Amsterdam: Elsevier, 449–557.
- [88] **Mass, M.R., Woody, M.A., and Chu, F.S.,** 1981. Production of alternariol and alternariol methyl ether by *Alternaria* spp. *J. Food Safety*, **3**, 39–47.
- [89] **Wei, C.I. and Swartz, D.D.,** 1985. Growth and production of mycotoxins by *Alternaria alternata* in synthetic, semi-synthetic and rice media, *J. Food Prot.*, **48**, 306–311.
- [90] **Hasan, H.A.H.,** 1995. *Alternaria* mycotoxins in black rot lesion of tomato fruit: conditions and regulation of their production, *Mycopathologia*, **130**, 171–177.
- [91] **Özcelik, S., Özcelik, N., and Beuchat, L.R.,** 1990. Toxin production by *Alternaria alternata* in tomatoes and apples stored under various conditions and quantization of the toxins by high-performance liquid chromatography, *Int. J. Food Microbiol.*, **11**, 187–194.
- [92] **Harwig, J., Scott, P.M., Stoltz, D.R., and Blanchfield, B.J.,** 1979. Toxins and molds from decaying tomato fruit. *Appl. Environ. Microbiol.*, **38**, 267–274.
- [93] **Stinson, E.E., Bills, D.D., Osman, S.F., Siciliano, J., Ceponis, M.J, Heisler, EG.,** 1980. Mycotoxin production by *Alternaria* species grown on apples, tomatoes and blueberries, *J. Agric. Food Chem*, **28**, 960-3.

- [94] **Stinson, E.E., Osman, S.F., Heisler, E.J., Siciliano, J., Bills, D.D.**, 1981. Mycotoxin production in whole tomatoes, apples, oranges and lemons. *J. Agric. Food Chem.*, **29**, 790–2.
- [95] **HyangBurm, L. and SeungHun, Y.**, 1995. Incidence of *Alternaria* species in red pepper and sesame from Korea and their ability to produce mycotoxins, *Korea J. Plant Pathol.*, **11**, 1–8.
- [96] **Scott, P.M.**, 2001. Analysis of agricultural commodities and foods for *Alternaria* mycotoxins, *J. AOAC Int.*, **84**, 1809–1817.
- [97] **Tournas, V.H., and Stack, M.E.**, 2001. Production of alternariol and alternariol methyl ether by *Alternaria alternata* grown on fruits at various temperatures, *J. Food Prot.*, **64**, 528–532.
- [98] **Romero, S.M., Comerio, R.M., Larumbe, G., Ritieni, A., Vaamonde, G., Fernández, P.V.**, 2005. Toxigenic fungi isolated from dried vine fruit in Argentina, *Int. J. Food Microbiol.*, **104**, 43–49.
- [99] **Logrieco, A., Visconti, A., and Bottalico, A.**, 1990. Mandarin fruit rot caused by *Alternaria alternata* and associated mycotoxins, *Plant Dis.*, **74**, 415–417.
- [100] **Schroeder, H.W., and Cole, R.J.**, 1977. Natural occurrence of alternariols in discolored pecans, *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 204–206.
- [101] **Bottalico, A. and Logrieco, A.**, 1993. Mycotoxins in *Alternaria* infected olive fruits and their possible transfer into oil, *Bull. OEPP*, **23**, 473–479.
- [102] **Singh, Y.P., and Geeta, Sumbaly**, 2004. Occurrence of tenuazonic acid-producing strains of *Alternaria alternata* in natural rots of apple. *Indian Psychopathol*, **57**, 68–69.
- [103] **Solfrizzo, M., de Girolamo, A., Vitti, C., Visconti, A., Bulk, R.**, 2004. Liquid chromatographic determination of *Alternaria* toxins in carrots, *J. AOAC Int*, **87**, 101–106.
- [104] **Lauren, S., Jackson and Fadwa, Taher, A.**, 2008. Factors Affecting Mycotoxin Production in Fruits, *Mycotoxins in Fruits and Vegetables* Edited by Rivka Barkai-Golan and Nachman Paster, 408.
- [105] **Lugauskas, A., Raudoniene, V., and Sveistyte, L.**, 2005. Toxin producing micromycetes on imported products of plant origin, *Ann. Agric. Environ. Med.*, **12**, 109–118.
- [106] **Robiglio, A.L., and Lopez, S.E.**, 1995. Mycotoxin production by *Alternaria alternata* strains isolated from Red Delicious apples in Argentina, *Int. J. Food Microbiol.*, **24**, 413–417.

- [107] **Stack, M.E., Mislivec, P.B., Roach, J.A.G., and Pohland, A.E.,** 1985. Liquid chromatographic determination of tenuazonic acid and alternariol methyl ether in tomatoes and tomato products, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **68**, 640–642.
- [108] **Giryn, H., and Szteke, B.,** 1995. Determination of *Alternaria* mycotoxins in selected raw and processed fruit and vegetable products, *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.*, **46**, 129–133.
- [109] **Fente, C.A., Jaimez, J., Vazquez, B.I., Franco, C.M., Cepeda, A.,** 1998. Determination of alternariol in tomato paste using solid phase extraction and high performance liquid chromatography with fluorescence detection, *Analyst*, **123**, 2277–2280.
- [110] **Da Motta, S., and Soares, L.M.V.,** 2001. Survey of Brazilian tomato products for alternariol, alternariol monomethyl ether, tenuazonic acid and cyclopiazonic acid, *Food Addit. Contam.*, **18**, 630–634.
- [111] **Scott, P.M., and Kanhere, S.R.,** 1980. Liquid chromatographic determination of tenuazonic acid in tomato paste, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **63**, 612–621.
- [112] **Scott, P.M., Weber, D., and Kanhere, S.R.,** 1997. Gas chromatography-mass spectrometry of *Alternaria* mycotoxins, *J. Chromatog. A*, **765**, 255–263.
- [113] **Lau, B.P.Y., Scott, P.M., Lewis, D.A., Kanhere, S.R., Cl  roux, C., Roscoe, V.A.,** 2003. Liquid chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry of the *Alternaria* mycotoxins alternariol and alternariol monomethyl ether in fruit juices and beverages, *J. Chromatog. A*, **998**, 119–131.
- [114] **Delgado, T., and Gomez-Cordoves, C.,** 1998. Natural occurrence of alternariol and alternariol methyl ether in Spanish apple juice concentrates, *J. Chromatog. A*, **815**, 93–97.
- [115] **Scott, P.M., Lawrence, G.A., and Lau, B.P.Y.,** 2006. Analysis of wines, grape juices and cranberry juices for *Alternaria* toxins, *Mycotoxin Res.*, **22**, 142–147.
- [116] **Scott, P.M., and Kanhere, S.R.,** 2001. Stability of *Alternaria* toxins in fruit juices and wine, *Mycotoxin Res.*, **17**, 9–14.
- [117] **Grabarkiewicz-Szczesna, J., Chelkowski, J.,** 1992. Metabolites produced by *Alternaria* species and their natural occurrence in Poland, In: Chelkowski, J., Visconti, A. (Eds.), *Alternaria* Biology, Plant Diseases And Metabolites, Elsevier, Amsterdam, 363–380..
- [118] **Visconti, A., Sibilia, A.,** 1994. *Alternaria* toxins. In: Miller, J.D., Trenholm, H.L. (Eds.), *Mycotoxins in Grain: Compounds Other Than Aflatoxin*. Eagan, St. Paul, M.N., 315–336.

- [119] **Da Motta, S., Lucia M. Soares, L.M.V.,** 2000. A MEthod For The Determination Of Two *Alternaria* Toxins, Alternariol And Alternariol Monomethyl Ether, In Tomato Products, Brazilian Journal of Microbiology, **31**:315-320.
- [120] **Terminiello, L., Patriarca, A., Posez, G., Pinto V.F.,** 2006. Occurrence of alternariol, alternariol monomethyl ether and tenuazonic acid in Argentinean tomato puree, Mycotoxin Research **22/4**, 236-240.
- [121] **Dalcero, A., Chulze, S., Etcheverry, M., Farnochi, C., Varsavsky, E.,** 1989. Aflatoxins in sunflower seeds: influence of *Alternaria alternata* on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*, Mycopathologia **108**, 31–35.
- [122] **Hiltunen, M., Söderhäll, K.,** 1992. Inhibition of poliketide synthesis in *Alternaria alternata* by the fatty acid synthesis inhibitor cerulenin, Applied and Environmental Microbiology **58**, 1043–1045.
- [123] **Liu, G.T., Qian, Y.Z., Zhang, P., Dong, W.H., Qi, Y.M., Guo, H.T.,** 1992. Etiological role of *Alternaria alternata* in human esophageal cancer. Chin. Med. J. (Engl.) **105**, 394–400.
- [124] **Ohtsubo, K., Saito, M., Ishiko, T., Umeda, M., Sekita, S., Yoshihira, K., Natori, S., Sakabe, F., Udagawa, S., Kurata, H.,** 1978. Toxicity to mice and HeLa cells and preliminary chemical examination of five fungi isolated from foods. Japan. J. Ex. Med. **48**, 257–264.
- [125] **Sauer, D.B., Seitz, L.M., Burroughs, R., Mohr, H.E., West, J.L., Milleret, R.J., Anthony, H.D.,** 1978. Toxicity of *Alternaria* metabolites found in weathered sorghum grain at harvest. J. Agric. Food Chem. **26**, 1380–1383.
- [126] **Younis, S.A., Al-Rawi, F.I.,** 1988. Studies on the fetotoxic effect of *Alternaria alternata* metabolites in mice. J. Biol. Sci. Res. **19**, 245–253.
- [127] **Dong, Z.G., Liu, G.T., Qian, Y.Z., Dong, Z.M., Yang, H.Y., An, Y.H., Miao, J., and Zhen, Y.Z.,** 1988. Study on mutation in V79 cells and transformation in NIH/3T3 cells induced by the extract 261-B₂-3 of *Alternaria alternata*, Chin. J. Pathophysiol., **4**, 204–207.
- [128] **Olsen, M., Visconti, A.,** 1988. Metabolism of alternariol monomethyl ether by porcine liver and intestinal mucosa *in vitro*. Toxicol. *in vitro* **2**, 27–29.
- [129] **Mohammed, Y.S., Osman, M., Gabr, Y.,** 1974. Alternariol, a new fungal anticholinesterase drug. Arzneimittelforschung, **24**, 121–122.
- [130] **Di Cosmo, F., Straus, N.A.,** 1985. Alternariol, a dibenzopyrone mycotoxin of *Alternaria* spp., is a new photosensitizing and DNA cross-linking agent. Experientia, **41**, 1188–1190.

- [131] **Xu, D.S., Kong, T.Q., Ma, J.Q.**, 1996. The inhibitory effect of extracts from *Fructus lycii* and *Rhizoma polygonati* on *in vitro* DNA breakage by alternariol. *Biomed. Environ. Sci.*, **9**, 67–70.
- [132] **Davis, V.M., Stack, M.E.**, 1994. Evaluation of alternariol and alternariol methyl ether for mutagenic activity in *Salmonella typhimurium*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 3901–3902.
- [133] **Shan, J., Hou, W., He, X., An, Y., Zhao, Q., Li, J.**, 2000. EGFr and Rb gene amplification in fetal esophageal epithelium treated by alternariol. *Henan Yike Daxue Xuebao*, **35**, 51–53.
- [134] **Wang, L., Yu, Y., Chen, X.**, 1994. DNA adduct formation of rape oil condensates (RC) and alternariol (AOH) by 32P-postlabeling assay. *Zhongguo Bingli Shengli Zazhi*, **10**, 571–573.
- [135] **Gregory, F., Griffin and Fun, Chu, S.**, 1983. Alternariol, Alternariol Methyl Ether, Alternuene, and Tenuazonic Acid in the Chicken Embryo Assay, *Applied and Environmental Microbiology*, **46**, p. 1420-1422.
- [136] **Van der Westhuizen, L., Shephard, GS., Snyman, SD., Abel, S., Swanevelder, S.**, 1998. Gelderblom WC. Inhibition of sphingolipid biosynthesis in rat primary hepatocyte cultures by fumonisin B1 and other structurally related compounds. *Food Chem Toxicol.*, **36**, 497-503.
- [137] **Otani, H., Kodama, M., Kohmoto, K.**, 1996. Physiological and molecular aspects of *Alternaria* host-specific toxin and plant interactions. Chapter 22. In: Mills D, Kunoh H, Keen NT, Mayama S (Eds.) *Molecular Aspects of Pathogenicity and Resistance: Requirement for Signal Transduction*. St. Paul, APS Press, 257-267.
- [138] **Gilchrist, D.G., Ward, B., Moussata, V., Mirocha, C.J.**, 1992. Genetic and physiological response to fumonisin and AAL-toxin in intact tissue of a higher plant. *Mycopathologia*, **117**, 57-64.
- [139] **Mirocha, C.J., Gilchrist, DG., Shier, W.T., Abbas, H.K., Wen, Y., Versonder, R.F.**, 1992. AAL toxins, fumonisins (biology and chemistry) and host-specificity concepts. *Mycopathologia*, **117**, 47-56.
- [140] **Brandt, M.E., Warnock, D.W.**, 2003. Epidemiology, clinical manifestations, and therapy of infections caused by dematiaceous fungi. *J Chemother*, **15** (Suppl 2): 36-47.
- [141] **Arrese, J.E., Piérard-Franchimont, C., Piérard, G.E.**, 1996. Onychomycosis and keratomycosis caused by *Alternaria* spp. *Am J Dermatopathol*, **18**: 611-613.
- [142] **Gianni, C., Cerri, A., Crosti, C.**, 1997. Ungual phaeochoomycosis caused by *Alternaria alternata*. *Mycoses*, **40**: 219-221.

- [143] **Romano, C., Paccagnini, E., Difonzo, D.,** 2001. Onychomycosis caused by *Alternaria* spp. in Tuscany from 1985 to 1999. *Mycoses*, **44**: 73-76.
- [144] **Singh, S.M., Naidu, J., Pouranik, M.,** 1990. Ungual and cutaneous phaeohyphomycosis caused by *Alternaria alternata* and *Alternaria chamidopsora*. *J Med Vet Mycol.*, **28**: 275-278.
- [145] **Acland, K.M., Hay R.J., Groves R.,** 1998. Cutaneous infection with *Alternaria alternata* complicating immunosuppression: successful treatment with itraconazole. *Br J Dermatol.*, **138**, 354-356.
- [146] **Romero, C, Vanzi, L., Massi, D., Difonzo, E.M.,** 2005. Subcutaneous alternariosis. *Mycoses*, **48**, 408-412.
- [147] **Zahra, L.V., Mallia, D., Hardie, J.G., Bezzina, A., Fenech, T.,** 2002. Case report: Keratomycosis due to *Alternaria alternata* in a diabetic patient. *Mycoses*, **45**, 512-514.
- [148] **Morrison, V.A, Weisdorf, D.J.,** 1993. *Alternaria*: a sinonasal pathogen of immunocompromised hosts. *Clin Infect Dis.*, **16**, 265-270.
- [149] **Lizaso, M.T, Martínez, A., Asturias, J.A., Algorta, J., Madariaga, B., Labarta, N., Tabar, A.I.,** 2006. Biological standardization and maximum tolerated dose estimation of an *Alternaria alternata* allergenic extract. *J Investig Allergol Clin Immunol*, **16**, 94-103.
- [150] **Halomen, M., Stern, D.A., Wright, A.L., Taussig, L.M., Martinez, F.D.,** 1997. *Alternaria* as a major allergen for asthma in children raised in a desert environment. *Am J Respir Crit Care*, **155**, 1356-1361.
- [151] **Liu, B.H., Yu, F.Y., Chan, M.H., Yang, Y.L.,** 2002 The effects of mycotoxins, fumonisin B1 and aflatoxin B1 on primary swine alveolar macrophages. *Toxicol Appl Pharmacol.*, **180**, 197-204.
- [152] **Mimura, T., Yamagami, S., Amano, S., Funatsu, H., Arimoto, A., Usui, T., Ono, K., Araie, M., Okamoto, S.,** 2005 Allergens in Japanese patients with allergic conjunctivitis in autumn. *Eye*, **19**, 995-999.
- [153] **Germen, P.J., Turkeltaub, P.C., Kovar, M.G.,** 1987. The prevalence of skin test reactivity to eight common aeroallergens in the US population: results from the second National Health and Nutrition Examination Survey. *J Clin Immunol*, **80**, 669-679.
- [154] **López, M., Salvaggio, J.E.,** 1985. Mold sensitive asthma. *Clin Rev Allergy*, **3**, 183-196.
- [155] **Diener, U.L., Morgan-Jones G., Wagener, R.E., and Davis, N.D.,** 1981. Toxicogenicity of fungi from grain sorghum. *Mycopathologia*, **75**, 23-26.

- [156] **Doupnik, B., Jr., and Sobers, E.K.,** 1968. Mycotoxicosis: toxicity to chicks of *Alternaria longipes* isolated from tobacco. *Appl. Microbiol.*, **16**, 1596-1597.
- [157] **Davis, N.D., Diener, U.L. and Morgan-Jones, G.,** 1977. Tenuazonic Acid Production by *Alternaria alternata* and *Alternaria tenuissima* Isolated from Cotton, Copyright © 1977 American Society for Microbiology, Printed in U.S.A, *Applied And Enviromental Microbiology*, . **34**, 155-157.
- [158] **Giambrone, J.J., Davis, N.D., and Diener, U.L.,** 1978. Effect of tenuazonic acid on young chickens. *Poultry Sci.*, **57**, 1554-1558.
- [159] **Verrett, M.J., Scott, E., W.F., Reynaldo, G., Alterman, E.K., and Thomas. C.A.,** 1980. Toxicity and teratogenicity of food additive chemicals in the developing chicken embryo. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **56**, 265-273.
- [160] **Archer, M.,** 1974. Detection of mycotoxins in foodstuffs by use of chick embryos. *Mycopathol. Mycol. Appl.*, **54**, 453-467.
- [161] **Chen, S., Yin, C., Dai, X., Qiang, S.,** 2007. Action of tenuazonic acid, a natural phytotoxin, on photosystem II of spinach, *Environmental and Experimental Botany*, **62**, (2008) 279–289.
- [162] **Wan, Z.X., Qiang, S., Xu, S.C., Shen, Z.G., Dong, Y.F.,** 2001a. Culture conditions for production of phytotoxin by *Alternaria alternata* and plant range of toxicity. *Chin. J. Biol. Cont.* **17**, 10–15.
- [163] **Wan, Z.X., Zhu, J.J., Qiang, S.,** 2001b. The pathogenic mechanism of toxin of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler to *Eupatorium adenophorum*. *J. Plant Resour. Environ.* **10**, 47–50.
- [164] **An, C.F.,** 2003. The potential to use metabolites of *Alternaria alternata* as a bio-source herbicide. Master Thesis, Nanjing Agricultural University, China.
- [165] **Fehr, M., Pahlke, G., Fritz, J., Makro, D.,** 2007. Alternariol acts as a topoisomerase poison. 29 th Mycotoxin Workshop, Fellbach, Germany. Abstract Book 123.
- [166] **Tiemann, U., Tomek, W., Schneider, F., Müller, M., Pöhland R., Vanselow, J.,** 2009. The mycotoxins alternariol and alternariol methyl ether negatively affect progesterone synthesis in porcine granulosa cells *in vitro*, *Toxicol Lett.*, **186/2**, 139-45.
- [167] **Pfeiffer, E., Eschbach, S., Metzler, M.,** 2007. *Alternaria* toxins: DNA strand-breaking activity in mammalian cells *in vitro*, *Mycotoxin Research*, **23/3**, 152-157.

ÖZGEÇMİŞ

14-05-1979 yılında Elazığ'da doğdum. İlköğrenimimi Elazığ Evren Paşa İlkokulu'nda, orta öğrenimimi ve lise öğrenimimin 1. sınıfını Elazığ Anadolu Lisesi'nde, lise öğrenimimin kalan kısmını ise Elazığ Mehmet Akif Ersoy Lisesi'nde tamamladım. 1998 yılında Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazandım ve 2002 yılında mezun oldum. Eylül 2002'de Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladım. 2004 yılında yüksek lisansımı tamamlayarak aynı yıl Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında doktora öğrenimime başladım.

Aykut TOPDEMİR