

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PİRİNÇLE TAŞINAN MİKROFUNGUSLAR
ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Dönüş KÖKVER

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman:

Prof. Dr. Ahmet ASAN

2012-EDİRNE

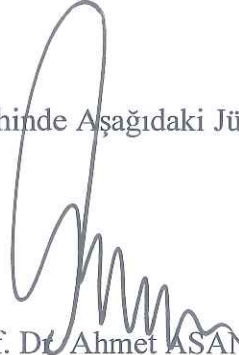
T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PIRİNÇLE TAŞINAN MİKROFUNGUSLAR ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez ..03/07/2012 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Tarafından Kabul Edilmiştir.



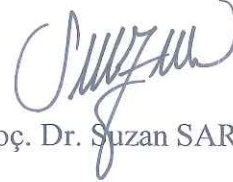
Prof. Dr. Ahmet ASAN

(Danışman)



Doç. Dr. Figen ERTAN İNCEOĞLU

(Üye)



Yrd. Doç. Dr. Suzan SARICA ÖKTEN

(Üye)

Yüksek Lisans Tezi
Pirinçle Taşınan Mikrofunguslar Üzerinde Araştırmalar
T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada, Edirne’de satılan 5 farklı marka ambalajlı pirinçten alınan pirinç taneleri üzerinde gelişen tohumla taşınan mikrofungusların tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Her bir marka pirinç paketindeki pirinç taneleri, su agarı besi yeri ile petri kabı içerisinde bulunan ve distile su ile sulandırılmış kurutma kağıdı üzerine, steril bir pens yardımıyla yerleştirilmiştir. 25°C’de, 15 gün inkübasyonda bırakılan pirinç taneleri üzerinden izole edilen mikrofungusların teşhisi yapılmıştır.

Su agarı besiyerine yerleştirilen pirinç tanelerinde üreyen mikrofungusların büyük bir bölümünü *Penicillium* türleri (% 60) oluştururken, distile su ile sulandırılmış kurutma kâğıdı üzerine yerleştirilen pirinç taneleri üzerinde üreyen mikrofungusların büyük bölümünü *Aspergillus* türleri (% 63.16) oluşturmuştur. Ayrıca *Mucor* cinsleri (% 22.86) de görülmüştür. Çalışmada, su agarı besi yerinde en fazla üreyen ilk üç mikrofungus türü; *Aspergillus wentii* (% 26.6), *Penicillium italicum* (% 26.6) ve *Penicillium aurantiogriseum* (% 13.3) iken, kurutma kâğıdında en fazla üreyen ilk üç mikrofungus türü, *Aspergillus flavus* (% 26.31), *Aspergillus wentii* (% 21.05) ve *Aspergillus clavatus* (% 15.79)’tur.

Yıl : 2012

Sayfa sayısı : 54

Anahtar Kelimeler : Pirinç, Mikrofungus, Mikotoksin, Su agarı, Kurutma kâğıdı.

Master's Thesis
Research on Rice-Borne Microfungi
Trakya University Institute of Naturel Sciences
Department of Biology

ABSTRACT

In this research, it was aimed to specify the rice-borne microfungi developing on the rice grains taken from five different brands sales in Edirne market.

Using sterilized pliers, the rice grains in each brand's rice packages were placed on the blotting paper watered with distilled water in a petri dish and on the water agar. The microfungi isolated over the rice grains left in incubation at 25⁰C for 15 days were identified.

While a large part of the microfungi reproducing on the rice grains placed in the water agar was *Penicillium* species (60 %), a large part of the microfungi reproducing on the rice grains placed on the blotting paper watered with distilled water were *Aspergillus* species (63.16 %). In addition, *Mucor* species (22.86%) were also observed. In the research it was found that the first three microfungi species which reproduced most on the water agar medium were *Aspergillus wentii* (26.6 %), *Penicillium italicum* (26.6 %), *Penicillium aurantio-griseum* (13.3 %) while the first three microfungi species which reproduced most on the blotting paper were *Aspergillus flavus* (26.31 %), *Aspergillus wentii* (21.05 %) and *Aspergillus clavatus* (15.79 %).

Year : 2012

Number of Pages : 54

Keyword : Rice, Microfungi, Mycotoxin, Water Agar, Blotting Paper.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasında elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dönüş KÖKVER

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmalarım boyunca beni yönlendiren, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, her türlü desteğini ve yardımını benden esirgemeyen değerli tez hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ASAN (Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü)' a sonsuz teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Bana Mikrobiyoloji'yi sevdiren ve Mikrobiyoloji ile ilgili temel bilgilere sahip olmamı sağlayan hocam Sayın Prof. Dr. Metin DIĞRAK (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü)' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin hazırlanmasında ve laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Araş. Gör. Dr. Burhan ŞEN (Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü)' e ve arkadaşım Biyoloji Öğretmeni Gülay FIRILDAK (Edirne Anadolu Öğretmen Lisesi)' a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteğini üzerimden eksik etmeyen babam Arslan KÖKVER, annem Nedime KÖKVER ve kardeşim Yunus KÖKVER' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi ve tecrübesi ile manevi desteğini esirgemeyen Uzman Dr. Sayın Oğuz BAK (Kırıkkale Hacı Hidayet Doğruer Devlet Hastanesi)' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER	Sayfa No
ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
BEYAN.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLO LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
SİMGELER	x
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOD.....	8
2.1. Materyal.....	8
2.2. İzole Edilen Türlerin Teşhisi İçin Kullanılan Besiyerleri	8
2.2.1. Su Agarı Besi Yeri	8
2.2.2. Patates Dekstroz Agar (PDA).....	8
2.2.3. Malt Extract Agar (MEA-Klich 2002)	8
2.2.4. Malt Extract Agar (MEA-Pitt 1979)	9
2.2.5. Czapek Dox Agar (Klich 2002).....	9
2.2.6. Czapek Yeast Agar (CYA- Pitt 1979).....	10
2.2.7. % 25 Glycerol Nitrate Agar (G ₂₅ N –Pitt 1979).....	10

2.3. Besiyerlerini Hazırlamada ve Mikrofungusları Mikroskopik Olarak İncelemede Kullanılan Çözeltiler	10
2.3.1. Czapek Konsantresi (CC-Klich 2002).....	10
2.3.2. Lakto-Pamuk Mavisi Çözeltisi (Lacto-Cotton Blue Mounting Medium-LCB Mounting Medium-Sime vd.2002)	11
2.4. Metod.....	11
2.5. Teşhis.....	12
3. BULGULAR	14
3.1. Çalışmada Tanımlanan Mikrofungusların Makroskopik ve Mikroskopik Fotoğrafları	15
3.2. Elde Edilen Mikrofungusların Dağılımı.....	32
4. TARTIŞMA	35
5. KAYNAKLAR	40

TABLO LİSTESİ**Sayfa No**

Tablo 1.1. Önemli mikotoksinler, üreticileri, etkileri ve buldukları ürünler (Tunail, 2000).....	5
Tablo 3.1. Su agarı besi yerine ekilen 5 farklı marka pirinçten izole edilen türler ve koloni sayılarının (CFU) dağılımı	32
Tablo 3.2. Kurutma kâğıdına yerleştirilen 5 farklı marka pirinçten izole edilen türlerin dağılımı.....	33
Tablo 3.3. Su agarı ve kurutma kağıdında (tüm markalardaki pirinçlerden) gelişen mikrofungus türlerinin koloni sayıları (CFU) ve yüzdesi (%).....	33
Tablo 3.4. Bu çalışmada izole edilen ve çeşitli mikotoksinleri üreten mikrofunguslar ile bu mikotoksinlerin canlılar üzerindeki etkileri.....	38

ŞEKİL LİSTESİ**Sayfa No**

Şekil 3.1. Su agarı besi yerinde 5 farklı marka pirincin üzerinde üreyen küfler	14
Şekil 3.2. Kurutma kağıdında 5 farklı marka pirincin üzerinde üreyen küfler	15
Şekil 3.3. <i>Aspergillus clavatus</i> ' un CYA, MEA, G ₂₅ N, CZ Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	16
Şekil 3.4. <i>Aspergillus flavus</i> ' un CYA, MEA, G ₂₅ N, CZ Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	17
Şekil 3.5. <i>Aspergillus pseudoglaucus</i> ' un CYA, MEA, G ₂₅ N, CZ Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	18
Şekil 3.6. <i>Aspergillus terreus</i> ' un CYA, MEA, G ₂₅ N, CZ Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	19
Şekil 3.7. <i>Aspergillus wentii</i> ' nin CYA, MEA, G ₂₅ N, PDA ve CZ Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	20
Şekil 3.8. <i>Penicillium aurantiogriseum</i> ' un CYA, MEA, G ₂₅ N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	21
Şekil 3.9. <i>Penicillium brevicompactum</i> ' un CYA, MEA, G ₂₅ N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	22
Şekil 3.10. <i>Penicillium chrysogenum</i> ' un CYA, MEA, G ₂₅ N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	23
Şekil 3.11. <i>Penicillium citrinum</i> ' un CYA, MEA, G ₂₅ N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	24
Şekil 3.12. <i>Penicillium daleae</i> ' nin CYA, MEA, G ₂₅ N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	25
Şekil 3.13. <i>Penicillium griseofulvum</i> ' un CYA, MEA, G ₂₅ N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	26

Şekil 3.14. <i>Penicillium italicum</i> ' un CYA, MEA, G ₂₅ N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	27
Şekil 3.15. <i>Penicillium puberulum</i> ' un CYA, MEA, G ₂₅ N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	28
Şekil 3.16. <i>Penicillium viridicatum</i> ' un CYA, MEA, G ₂₅ N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ve Mikroskopik görünümü	29
Şekil 3.17. <i>Mucor sp.</i> 1 ' in MEA ve PDA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü ..	30
Şekil 3.18. <i>Mucor sp.</i> 2 ' nin MEA ve PDA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü	30
Şekil 3.19. <i>Mucor sp.</i> 3 ' ün MEA ve PDA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü .	31
Şekil 3.20. <i>Mucor sp.</i> 4 ' ün MEA ve PDA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü .	31
Şekil 3.21. Su agarı besi yeri ve kurutma kâğıdı üzerine yerleştirilen pirinçlerde üreyen mikrofungus cinslerinin dağılımı	32

SİMGELER

CC	Czapek Konsantresi
CA	Czapek-Dox Agar
CFU	Colony Forming Unit (Koloni Oluşturan Ünite)
CY ₂₀ S	Czapek Yeast % 20 Sucrose Agar
CYA	Czapek Yeast Autolysate Agar
CZ	Czapek Agar
G ₂₅ N	% 25 Glyserol Nitrate Agar
LCB	Lacto Coton Blue
MEA	Malt Extract Agar
PDA	Patates Dekstroz Agar
RBCA	Rose-Bengal Chloramphenicol
TGK	Türk Gıda Kodeksi
µm	Mikrometre
atm	Atmosfer basıncı

1. GİRİŞ

Günümüzde karşılaşılan en önemli problemlerden biri, giderek artan dünya nüfusuna yetecek oranda hijyenik ve sağlık açısından güvenilir nitelikte gıda maddesi üretebilmektir. Bu amaçla tarımsal alanda verim artışını sağlamak ve yetiştirilen ürünlerdeki hasarları önlemek için, kimyasal maddelerin kullanımı her geçen gün artmaktadır. Bitki yetiştirilmesi, gıda üretiminde uygulanan teknolojik işlemler, katkı maddeleri kullanımı, ambalajlama ve depolama sırasında oluşan mikrobiyolojik ve kimyasal kontaminasyonlar nedeniyle, gıdasal öğelerin yapısında önemli ve insan sağlığı açısından sakıncalı değişimler olabilmektedir (Gül ve Önal, 2008)

Mikroorganizmalar çeşitli yerlerde bulunurlar, buldukları yerlerden çoğalarak bulaşır ve hastalığa neden olurlar. Bunları önlemek için besinlerin sağlık ve temizlik kurallarına uygun olarak işlem görmesi gerekir.

Tarımsal gıdaların tarladan sofraya yaklaşımı düşünüldüğünde tüketiciler gıda güvenliği zincirinin en önemli öğelerinden biridir. Bu zincirde tüketicilere düşen en önemli görev gıda güvenliğini olumsuz etkileyen etmenler ile ilgili bilinçli olmak ve gıdaların satın alınmasından tüketimine kadar her aşamada hijyen ve sanitasyon kurallarına uymaktır (Bekar ve Kılıç, 2011)

Gıda sanayi içinde ambalaj sanayinin çok önemli bir yeri bulunmaktadır. Bu önem ambalajın besin maddelerini dış etkilerden korumasında taşıma, depolama, dağıtım, tanıtma gibi pazarlama işlevlerini kolaylaştırılmasından kaynaklanmaktadır. Ambalajlamanın gıda sanayinde önemini arttıran bir diğer etmen de besin maddelerinin halk sağlığı ile yakından ilgili olmasıdır. Besin maddeleri en iyi bir biçimde hazırlansa bile yanlış bir ambalajlama üretimi bozacağı gibi insan sağlığını da tehdit edecektir. Ambalaj besinin güvenliği ve hijyen için gereklidir. Besindeki bozulma etkenlerinin kontrol altına alınması için, besinler çeşitli ambalajlar içinde tüketiciye sunulur. Besin ambalajı yapmak üzere cam, metal, plastik, selüloz lifleri (karışık/katkı) malzemeler kullanılır.

Ambalaj malzemesi; istenilen fonksiyonları yerine getirirken, içine konan gıda maddesi ile etkileşim göstermemeli ve kullanılan ambalaj materyali, hijyenik olmalı, toksik olmamalı, insan sağlığına zarar vermemesi istenir (Altuğ vd. 1994).

Ambalaj teknolojisi müşteri ihtiyaçlarının tatmin edilmesi doğrultusunda gelişim göstermektedir (Adebanjo, 2000).

Ambalaj, işlenmemiş taze ürünleri taze halde, işlenmiş ürünleri ise işlem sonrası özelliklerini koruyarak istenilen kalitede tüketiciye ulaştırmayı sağlamaktadır (Gül ve Ark. 1999).

Ambalajlar mikrobiyal bulaşmayı sınırlayan veya önleyen koruyucu bir örtü olarak hizmet görürler. Ancak mikrobiyal üremeyi önlemezler. Ambalajlama gıdanın ambalajlamadan önceki mikrobiyal yükünü sınırlamak veya bulaşmaları önlemek için kullanılır. Ayrıca ambalajlama ile depolama ve dağıtım esnasında bütünlüğün devamı sağlanır (Erkmen, 2010).

Mikrofunguslar, uygun sıcaklık ve nem koşullarında sert kabuklu meyvelerde, yağlı tohumlarda, tahıllarda, baklagillerde ve sebze-meyvelerde mikotoksin üretebilirler. Mikotoksin üreten gıda kaynaklı küflerin başında *Fusarium*, *Penicillium* ve *Aspergillus* gelmektedir. Hayvansal ürünlerin mikotoksinlerle kontaminasyonu ise çoğunlukla kontamine yemlerin tüketilmesinden kaynaklanmaktadır (Gül ve Ark., 2008).

Küfler pek çok gıda maddesi için sorun teşkil ederken, üründe bulunan küf sayısı, üretim teknolojisi gereği açık hava ile teması fazla olan, yıkama işlemi yapılmaksızın örgütülerek paketlenen gıdalar açısından çok daha önemli bir kalite kriteri olarak görülmektedir (Halkman, 2005).

Hububat ve baklagillerde depolama aşamasında önem arz eden 2 küf cinsi (*Aspergillus* ve *Penicillium*) daha çok görülmektedir (Gökten ve Tunçel, 2001).

Aspergillus cinsi küfler özellikle hububatlarda, fındıkta, yağlı tohumlarda, kuru gıdalarda, meyve, sebze, et ve diğer pek çok gıdada yaygın olarak bulunur (Bullerman, 2003). Bu cinsin bazı türleri kanserojen özellikte aflatoksin üretirlerken, bazıları endüstride proteaz enzimi veya sitrik asit üretiminde kullanılmaktadır. *A. flavus*, *A. paraciticus* ve *A. nominus* aflatoksin oluşturmaktadırlar. Aflatoksin , bu tür mantarlar tarafından meydana getirilen bir grup toksik küf metabolitinin genel ismidir (Lovell, 1993). *A. oryzae* ise nontoksiktir ve pirinçten sake içkisinin yapılmasında, soya sosu yapımında ve amilaz üretiminde kullanılır. *A. niger* meyvelerde siyah küf çürümesine,

ekmeklerde sarı pigment oluşumuna ve incir, hurma, pamuk gibi tarım ürünlerinde değişik bozulmalara neden olmakta aynı zamanda endüstride sitrik asit, glukonik asit, amilaz, proteinaz, pektinaz ve lipaz elde edilmesinde de kullanılmaktadır (Özçelik, 2004).

Penicillium cinsi küfler de gıdalar açısından önem taşıyan ve yaygın olarak görülen bir küf cinsidir.

Penicillium'ları hemen hemen her türlü gıda maddesi üzerinde görmek mümkündür. Toprak, hava, toz, unlu gıdalar, meyveler üzerinde yaygın olarak bulunurlar. Endüstriyel küflerden üzerinde en çok çalışılan *Penicillium* türleridir. Bu cinse ait birçok tür gıdaların bozulmasında önemli rol oynarken, bazı türleri peynir ve antibiyotik gibi çeşitli ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca bazı *Penicillium* türleri de mikotoksin üreticisi olarak halk sağlığı açısından önem taşımaktadır (Ünlütürk vd.,1999). Birçok önemli *Penicillium* türü bulunmaktadır. *P. verrucosum*, *P. viridicatum* ve *P. aurantiogriseum* hububatlarda yaygın olarak bulunur. Bunlar okratoksin ve penisillik asidi içeren birçok mikotoksini üretirler. *P. martensii*, *P. aurantiogriseum*'un sinonimidir, yüksek nem içerikli mısırlarda bulunur ve penisillik asit üretir (Bullerman, 2003). *P. expansum* elmada, *P. italicum* ve *P. digitatum* ise turunçgillerde yumuşak çürümeye neden olmaktadır (Özçelik, 2004). *Penicillium*'un diğer türlerinin birçoğu çeşitli ürünlerin üretiminde kullanılır. Örneğin *P. camembertii*, *P. roquefortii* küflü peynir, *P. purpurogenum* glukonik asit, *P. chrysogenum* ve *P. notatum* penisilin üretiminde kullanılır (Özçelik, 2004; Ünlütürk vd., 1999).

Mikroorganizmanın cinsi ve miktarı kalite ve hijyen açısından önemli bir kriterdir. İnsan ve hayvanların yiyecek ve yemleri fungusların istilasına açıktır. Gıdalar tüketiciye ulaşana kadar geçen zaman içinde çeşitli funguslar tarafından bozulmaya uğrayabilirler. Yine depolama esnasında deponun ve depolanan besinde oluşan mikroorganizmalar besinde geniş ölçüde zarara neden olurlar (Özkaya ve Cömert, 2008).

Besinlerde üreyen mikrofunguslar, insan sağlığını tehdit etmektedir. Yapılan çalışmalarda besinlerin üretiminden tüketim aşamasına kadar hijyenik şartlara uyulması gerektiğini göstermektedir.

Gıda endüstrisinde fungal floranın yapısı ve miktarı; gerek kalite gerekse hijyen açısından önemli bir ölçüttür. Rokfort ve kamembert peyniri üretimi gibi kimi endüstrilerde küfler istenen organizmalar olsalar da insan beslenmesinde temel olan gıda ve yem maddelerinin üzerinde yüksek sayılarda bulduklarında bu gıdaların bozulmasına neden olarak ekonomik kayıplara yol açmaktadırlar. Ayrıca oluşturdukları sekonder metabolizma ürünleri olan mikotoksinlerle hayvan ve insan sağlığı açısından büyük tehlike oluşturmaktadırlar (Topal, 1984).

Pirinç taneleriyle taşınan çeşitli mikrofungus türlerinin tespit edilmesi, söz konusu pirinçlerde potansiyel olarak mikotoksin bulunma olasılığını artırır. Mikotoksinler 360⁰ C sıcakta bile yaşamaya dayanabilen maddelerdir ve uzun süreli olarak insan vücuduna geçmesi halinde, karaciğerde sağlık sorunlarına neden olabilmektedirler. Bu nedenle, pirinç tanelerinde mikrofungus bulunup bulunmaması önem taşımaktadır.

Mikotoksin içeren gıdanın tüketilmesi ile bu mikotoksinler insanlara geçer ve sonuçta ciddi sağlık sorunları ortaya çıkmaktadır. Önemli mikotoksinler, üreticileri, etkileri ve buldukları ürünler tabloda verilmiştir (Tablo 1.1.).

Tablo 1.1. Önemli mikotoksinler, üreticileri, etkileri ve buldukları ürünler (Tunail, 2000).

Mikotoksin	Toksini üreten fungus türleri	Memeli hayvanlara etkileri	Bulunduğu ürünler
Aflatoksin	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	hepatotoksik, kanserojen, teratojen (AFB1).	yer fıstığı, fındık vb. yem, süt, peynir
Bisoklamikasit	<i>Byssochlamys fulva</i> (<i>Paecilomyces variotii</i>)	kanama.	meyve suları
Sitrinin	<i>P. citrinum</i> , <i>A. terreus</i>	nefrotoksik, nörotoksik.	pirinç, arpa ve unları, fasulye
Siklopiazonikasit	<i>P. aurantiogriseum</i> (<i>P. cyclopium</i>), <i>P. griseofulvum</i> , <i>A. flavus</i>	hepatotoksik, kanserojen.	un, fasulye, yem, et ürünleri
İzlanditoksin	<i>P. islandicum</i>	hepatotoksik.	pirinç
Luteoksikrin	<i>P. islandicum</i> .	hepatotoksik, kanserojen.	pirinç, yem
Maltorisin	<i>A. oryzae</i>	hepatotoksik.	malt embriyosu
Okratoksin	<i>A. ochraceus</i> , <i>A. alutaceus</i> , <i>P. verrucosum</i> (<i>P. viridicatum</i>), <i>P. aurantiogriseum</i> (<i>P. cyclopium</i>)	nefrotoksik, hepatotoksik, teratojen, immunosupresif.	tahıllar, sebzeler, domuz eti, balık ürünleri, malt
Patulin	<i>P. expansum</i> , <i>P. patulum</i> , <i>A. clavatus</i> , <i>A. giganteus</i> ,	nörotoksik, hücreye toksik.	meyveler, meyve suları, malt embriyosu

	<i>Byssochlamys nivea</i>		
Penisilikasit	<i>P. martensii</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>P. aurantiogriseum</i> , <i>A. alutaceus</i>	Hepatotoksik, nefrotoksik, teratojen.	pirinç, pirinç unu
Psoralen	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	dermatotoksik, mutajen, nekroz oluşumu.	sebze (kereviz)
Rubratoksin	<i>P. rubrum</i> , <i>P. purpurogenum</i>	Hepatotoksik, teratojen.	tahıllar
Sporidesmin	<i>Pithomyces chartarum</i>	Hepatotoksik, dermatotoksik.	delice otu
Sterigmatosistin	<i>Bipolaris species</i> , <i>Eur. amstelodamii</i>	kanserojen.	buğday, yer fıstığı
Trikotesenler (Diasetoksisirpeno I, T-2 Toksin, Nivalenol)	<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>Myrothecium roridum</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Trichothecium roseum</i>	Alimentary Toxic Aleukia (ATA), düşük dozlarda kusma, lökopeni, deri nekrozları.	tahıllar, fasulye, meyve ve sebzeler
Zearalenon (F-2 Toksin)	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. equiseti</i>	östrojen benzeri etki.	mısır, buğday, fasulye, pirinç, yem.

Bu alışmada, Edirne piyasasında satılan ve 5 farklı markaya ait pirinçlerin üzerinde bulunabilecek mikrofungusların tespit edilmesi ve bu markaların birbiriyle kıyaslanması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

Araştırma materyali, marketten seçilen, beş farklı markaya ait 1 kg'lık pirinç paketleridir. Her bir paketten su agarı ve distile suyu ile ıslatılmış kurutma kâğıdı bulunan petri kaplarına pirinç taneleri konulmuştur. Bu çalışmalar esnasında 10 petri plağı kullanılmıştır. 5 tanesine su agarı, 5 tanesine kurutma kâğıdı kullanılmıştır. Petri kapları 25°C'de 15 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Seçilen pirinç paketlerinin markasına önem verilmemiştir.

2.2. İzole Edilen Türlerin Teşhisi İçin Kullanılan Besi Yerleri

Besi yerleri hazırlanırken; erlenmayere konulan toz besi yeri maddesi veya madde karışımları, distile su içinde homojenize edildikten sonra otoklavda 1 atm basınç altında 121°C'de 15 dakika süreyle tutularak sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıktıktan sonra 40-45 °C'ye kadar soğutulan besi yeri, steril petri plaklarına belirli hacimlerde dökülerek katılaşması beklenmiştir. Stok kültür için kullanılacak besi yerinin (PDA besi yeri) hazırlanması da benzer şekildedir. Bu amaçla distile su içinde homojenize edilen besi yeri, deney tüplerine 7-8 ml hacminde olacak şekilde paylaştırılmış ve ağızlarına pamuk tampon yerleştirilerek otoklavda steril edilmiştir. Kullanılan besi yerleri ve hangi amaçla kullanıldıkları aşağıda belirtilmiştir.

2.2.1. Su Agarı Besi Yeri

Toz halde bulunan Agar besi yerinden 1000 ml distile su için 17 g kullanılmıştır. Bu besi yeri izolasyon işleminde kullanılmıştır.

2.2.2. Patates Dekstroz Agar (PDA)

Toz halde bulunan PDA besi yerinden 1000ml distile su için 39 g kullanılmıştır (Merck). Bu besi yeri teşhis ve stok kültürleri saklamak amacıyla kullanılmıştır.

2.2.3. Malt Extract Agar (MEA-Klich 2002)

Malt Extract (Merck)	20 g
Pepton	1 g

Glukoz	20 g
Agar	20 g
Distile su	1 L

Bu besi yeri *Aspergillus* türlerini teşhis etmek amacıyla kullanılmıştır.

2.2.4. Malt Extract Agar (MEA-Pitt 1979)

Malt Extract (Merck)	20 g
Pepton	1 g
Glukoz	20 g
Agar	15 g
Distile su	1 L

Bu besi yeri *Penicillium* türlerini teşhis etmek amacıyla kullanılmıştır.

2.2.5. Czapek Dox Agar (Klich 2002)

Czapek Konsantresi (CC)	10.0 mL
K ₂ HPO ₄	1.0 g
Sükroz	30.0 g
Agar	17.5 g
Distile su	1 L

Bu besi yeri *Aspergillus* türlerini teşhis etmek amacıyla kullanılmıştır.

2.2.6. Czapek Yeast Agar (CYA- Pitt 1979)

Czapek Konsantresi (CC)	10.0 mL
K ₂ HPO ₄	1.0 g
Yeast Extract	30.0 g
Sukroz	30.0 g
Agar	17.5 g
Distile su	1 L

Bu besi yeri *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerini teşhis etmek amacıyla kullanılmıştır.

2.2.7. % 25 Glycerol Nitrate Agar (G₂₅N –Pitt 1979)

Czapek Konsantresi (CC)	7.5 mL
K ₂ HPO ₄	0.75 g
Yeast Extract	3.7 g
Gliserol	250.0 g
Agar	12.0 g
Distile su	750 L

Bu besi yeri *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerini teşhis etmek amacıyla kullanılmıştır.

2.3. Besi Yerlerini Hazırlamada ve Mikrofungusları Mikroskopik Olarak İncelemede Kullanılan Çözeltiler

2.3.1. Czapek Konsantresi (CC-Klich 2002)

NaNO ₃	30.0 g
KCl	5.0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	5.0 g

FeSO ₄ .7H ₂ O	0.1 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.1 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.05 g
Distile Su	100.0 mL

Bu çözelti *Aspergillus* türlerini teşhis etmek amacıyla kullanılan % 20 Sukrozlu Czapek Yeast Agar (CY₂₀S), Czapek Yeast Agar (CYA) ve Czapek Dox Agar (CZ) besi yerlerinin yapımında kullanılır.

2.3.2. Lakto-Pamuk Mavisı Çözeltisi (Lacto-Cotton Blue Mounting Medium-LCB Mounting Medium-Sime vd.2002)

Gliserol	250 mL
% 85'lik Laktik Asit	100 mL
Pamuk Mavisı Stok (Cotton Blue)	3 mL
Distile Su	50 mL

Pamuk mavisı çözeltisinin hazırlanışı iki aşamada gerçekleşir. Birinci aşamada; kuvvetli bir şekilde karıştırılan laktik asite (99 mL % 85'lik), Pamuk mavisı (Anilin) kristalleri (1 g) ilave edilir. Daha sonra bir Büchner hunisindeki # 50 Whatman 90 mm filtre kağıdından geçirilerek çözelti vakumla filtre edilir. Filtrasyondan sonra stok boya çözeltisinin berraklığı kontrol edilir. İkinci aşamada; distile su, laktik asit ve gliserin karıştırıcı üzerinde 1 saat karıştırılır. Bu karışıma 3 mL Pamuk Mavisı Stok çözeltisi homojen olarak ilave edilir ve 1 saat daha karıştırılır. Havadan herhangi bir bulaşmayı engellemek için erlenin ağzı parafilmle kapatılır (Sime vd. 2002).

2.4. Metod

Bu çalışmada marketlerden temin edilen 5 farklı marka pirinçte üreyen mikrofungusların teşhisi için izole işleminde agar agar besi yeri ve distile su ile ıslatılmış kurutma kâğıdı kullanılmıştır. Su agarı besi yeri için Agar, distile suda çözündü ve ağzı pamukla kapatılıp üzeri alüminyum folyo ile sarıldı. Petri kabının

ölçüsünce kesilmiş kurutma kâğıtları alüminyum folyoya sarıldı. Ayrıca kurutma kağıdını sulandırmak için kullanacağımız distile su ağzı pamukla kapatılıp alüminyum folyoya sarıldı. 1 atm. basınçta 121 °C`de 15 dakika otoklavda steril hale getirildi. Steril petrilere bir kısmına agar agar besi yeri döküldü, diğer kısmına kurutma kâğıtları yerleştirildi ve kurutma kâğıtlarının bulunduğu petrilere 1 ml. distile su konuldu. Her bir marka pirinç Su agarı besi yeri ve kurutma kâğıdı üzerine steril bir pens ile yerleştirildi. 25°C `de 15 gün inkübasyona bırakıldı. 15 günün sonunda pirinçler üzerinde üreyen küfler Patates Dextroz Agar (PDA) besi yerinin bulunduğu tüplere ayrı ayrı stok kültür haline getirildi.

Saflaştırma işleminde; Czapek Yeast Agar (CYA), Czapek-Doks Agar (CZ) , Malt Ekstrakt Agar (MEA), Patates dekstroz agar (PDA), % 25 Glycerol Nitrate Agar (G₂₅N) gibi besi yerleri kullanıldı. Her bir besi yerinin bulunduğu petriye, mikrofungusun cinsine göre ekim yapıldı (*Aspergillus* cinsi; CZ, CYA, MEA ve G₂₅N besi yerlerinin bulunduğu petrilere, *Penicillium* cinsi; CYA, MEA ve G₂₅N besi yerlerinin bulunduğu petrilere, *Mucor* cinsi; PDA ve MEA besi yerlerinin bulunduğu petrilere üç nokta ekim yöntemiyle ekildi).

2.5. Teşhis

İzole edilen *Aspergillus* cinsine ait türlerin CZ, CYA, G₂₅N ve MEA besi yerlerine nokta ekimleri yapılarak 25⁰C`de 7 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır (Klich 2002).

Penicillium cinsine ait türlerin tanımlanması için üç farklı besi yeri kullanılmıştır. Bunlar: CYA, G₂₅N ve MEA besi yerleridir. Her bir tür için 1 adet, içinde CYA besi yeri bulunan, 1 adet G₂₅N besi yeri bulunan ve 1 adet te MEA besi yeri bulunan, toplam 3 petri plağı kullanılmıştır (Pitt, 1979 ve 2000).

İnkübasyon süresi sonunda plaklardaki kolonilerin makroskopik olarak büyüklüğü (mm cinsinden), şekli, üstten ve alttan rengi, eksudasyon ve pigmentasyon olup olmadığı araştırılmıştır. Mikroskopik özellikleri ise Stereo mikroskop ile koloni tekstürü, konidial başlıkların tipi incelenmiştir. Işık mikroskobu ile konidioforun uzunluğu, genişliği, çeper özelliği, fiyalitlerin uzunluğu ve genişliği, konidinin şekli,

büyüklüğü, çeper özelliği tespit edilmiştir. Tüm bu özellikler değerlendirilip tanımlama yapılmıştır.

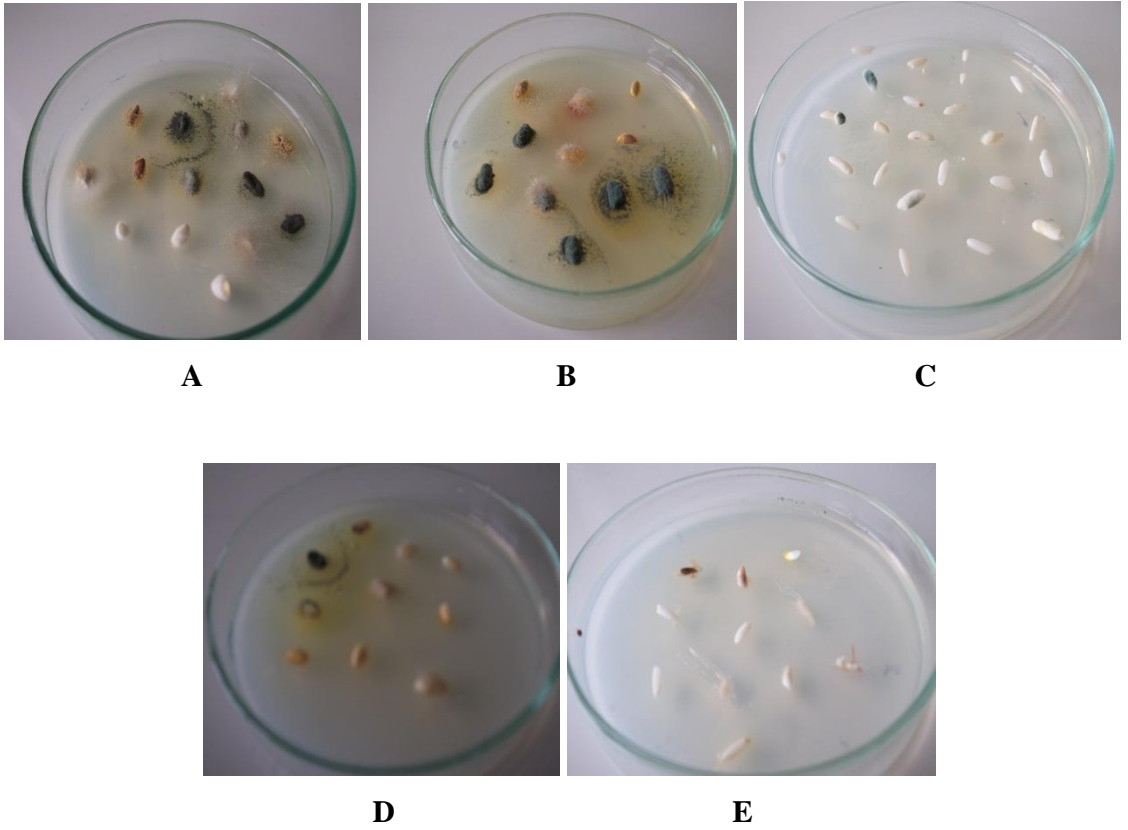
Penicillium türlerinin teşhisinde “The Genus *Penicillium* and Its Teleomorphic States *Eupenicillium* and *Talaromyces*” (Pitt, 1979), Pitt (2000)’in “A Laboratory Guide To Common *Penicillium* Species”, Samson vd. (2002)’nin “Integration of Modern Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification” adlı eserlerinden yararlanılmıştır.

Aspergillus türlerinin teşhisinde “The Genus *Aspergillus*” (Raper ve Fennel, 1965), “Identification of common *Aspergillus* species” (Klich, 2002) ve Samson vd. (2002)’nin “Introduction to Food and Airborne Fungi” adlı eserinden yararlanılmıştır.

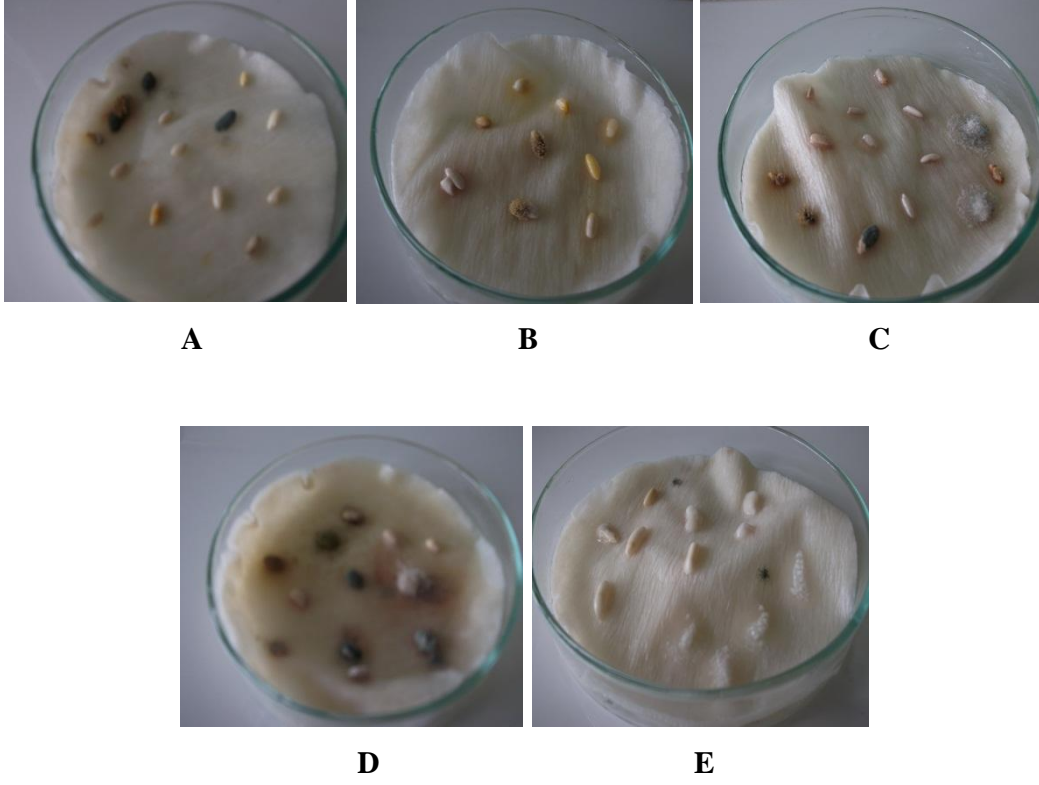
Mikrofungusların tür tayini için cins düzeyinde tanımlamada Barnett ve Hunter (1999)’in “Illustrated Genera of Imperfect Fungi” adlı kitabından yararlanılmıştır.

3. BULGULAR

5 farklı marka pirinçten alınan pirinç tanelerinde üreyen mikrofunguslar izole edilmiş ve çok sayıda tür tespit edilmiştir. Bunlardan 14'ü tür seviyesinde teşhisi yapılmıştır. Elde edilen izolatlar içerisinde tür zenginliği bakımından sırasıyla *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Mucor* cinsleri gelmektedir. Teşhis edilebilen türlerden 5'i *Aspergillus* türü, 9'u ise *Penicillium* türüdür. Ayrıca 1 *Aspergillus*, 19 *Penicillium*, 16 *Mucor* (4 *Mucor* türü) cinslerine ait türler teşhis edilememiştir. Cins olarak tanımlanmıştır.



Şekil 3.1. Su agarı besi yerinde 5 farklı marka pirincin üzerinde üreyen küfler.

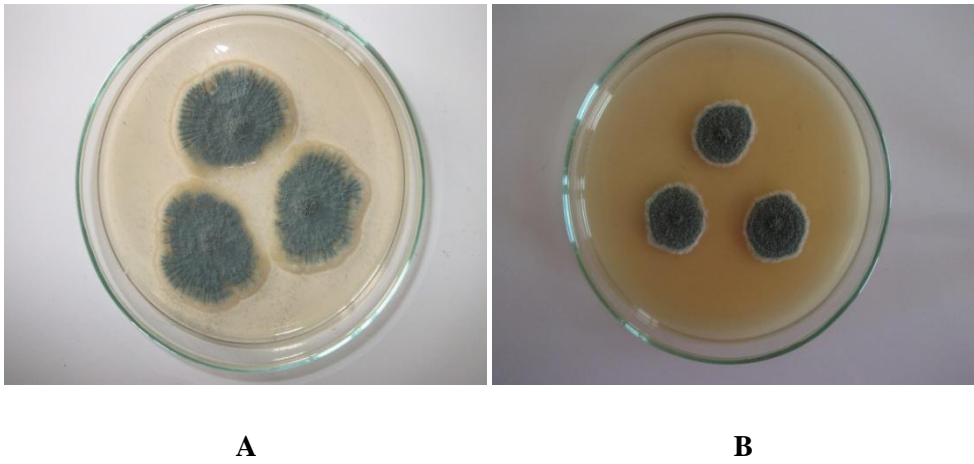


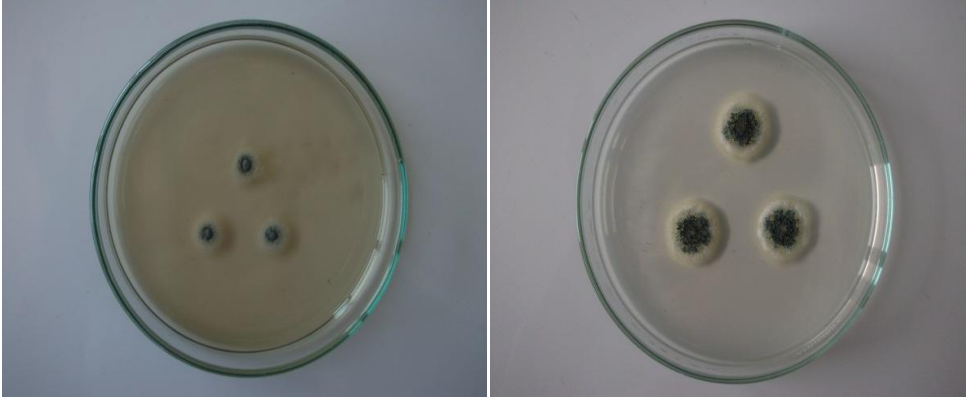
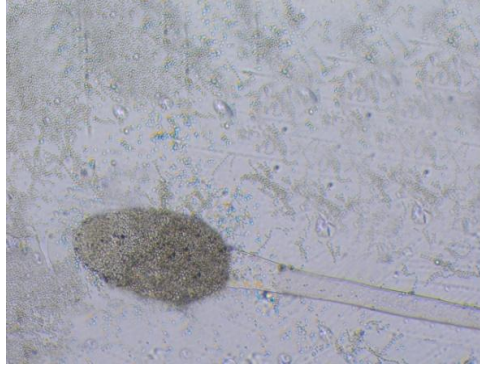
Şekil 3.2. Kurutma kağıdında 5 farklı marka pirincin üzerinde üreyen küfler.

3.1. Çalışmada Tanımlanan Mikrofungusların Makroskobik ve Mikroskobik Fotoğrafları

1. *Aspergillus clavatus* Desm. 1834

Yalnızca kurutma kâğıdı üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü.

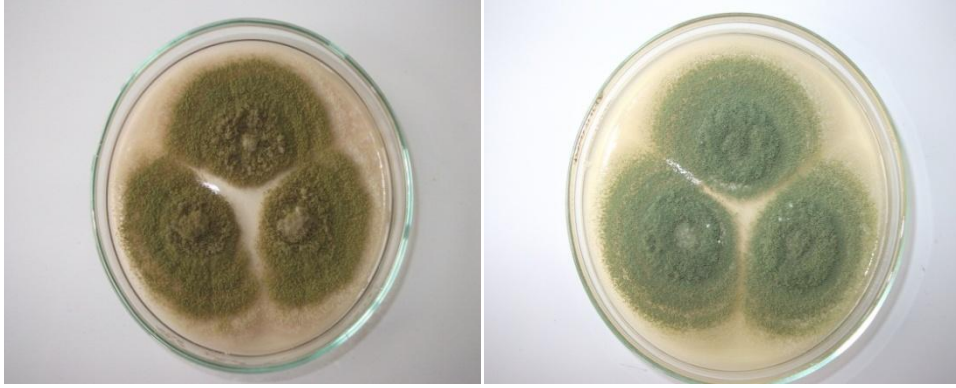
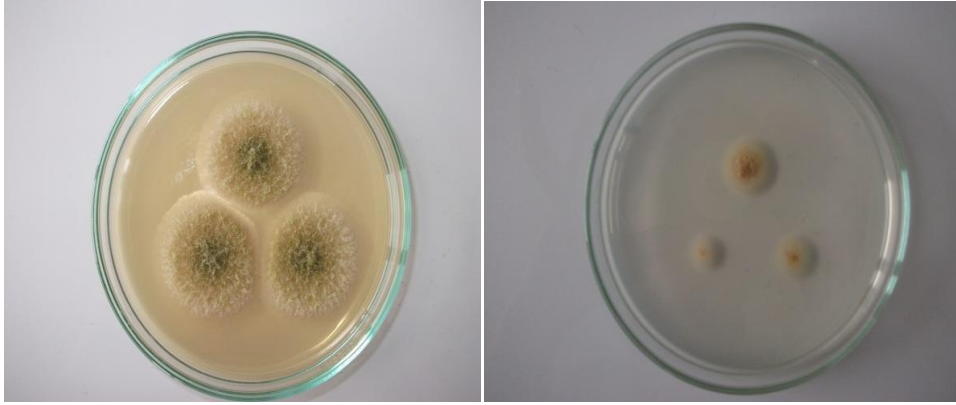
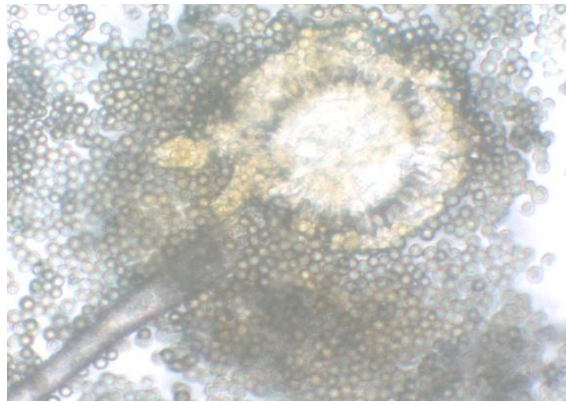


**C****D****E**

Şekil 3.3. *Aspergillus clavatus*; **A.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** G₂₅N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** CZ Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **E.** Mikroskopik Görünümü, x 400.

2. *Aspergillus flavus* Link 1821

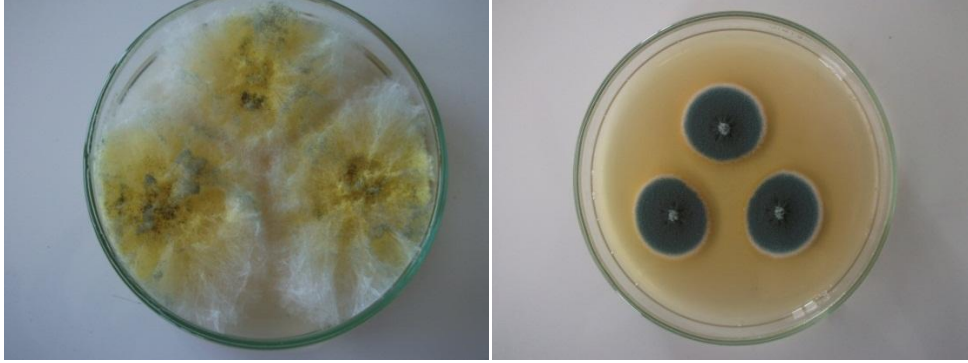
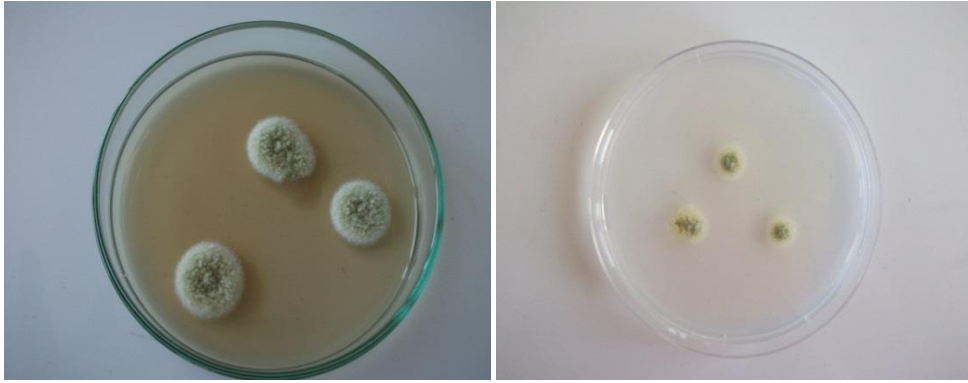
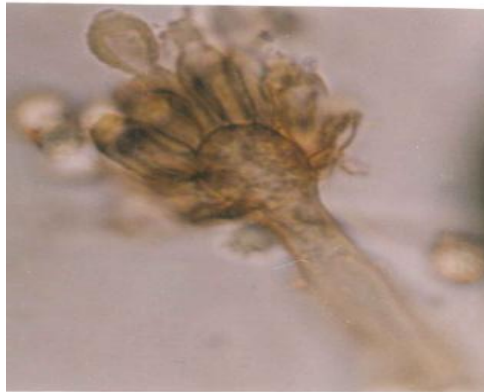
Yalnızca kurutma kâğıdı üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü.

**A****B****C****D****E**

Şekil 3.4. *Aspergillus flavus*; **A.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** G₂₅N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** CZ Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **E.** Mikroskobik Görünümü, x 400.

3. *Aspergillus pseudoglaucus* Blochwitz 1929

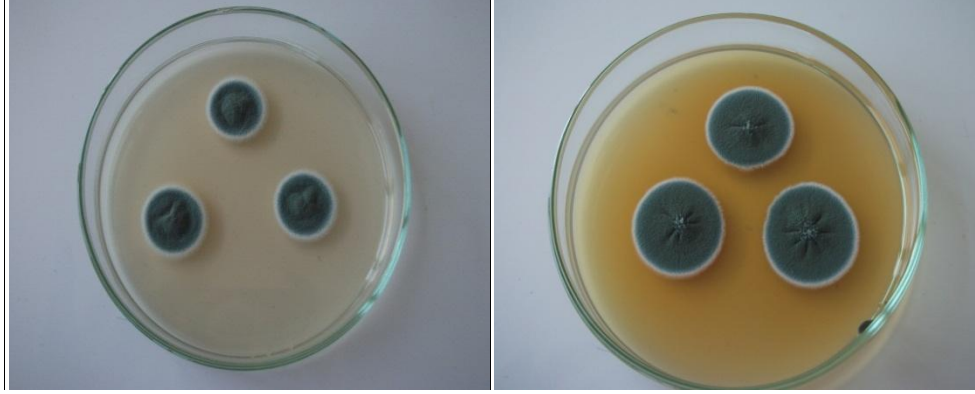
Yalnızca Su agarı besi yeri üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü.

**A****B****C****D****E**

Şekil 3.5. *Aspergillus pseudoglaucus*; **A.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünüm **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** G₂₅N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** CZ Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **E.** Mikroskopik Görünümü, x 400.

4. *Aspergillus terreus* Thom 1918

Yalnızca su agarı besi yeri üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü.



A

B



C

D



E

Şekil 3.6. *Aspergillus terreus*; **A.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** G₂₅N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** CZ Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **E.** Mikroskopik Görünümü, x 400.

5. *Aspergillus wentii* Wehmer 1896

Hem su agarı besi yeri, hem de kurutma kağıdı üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü.



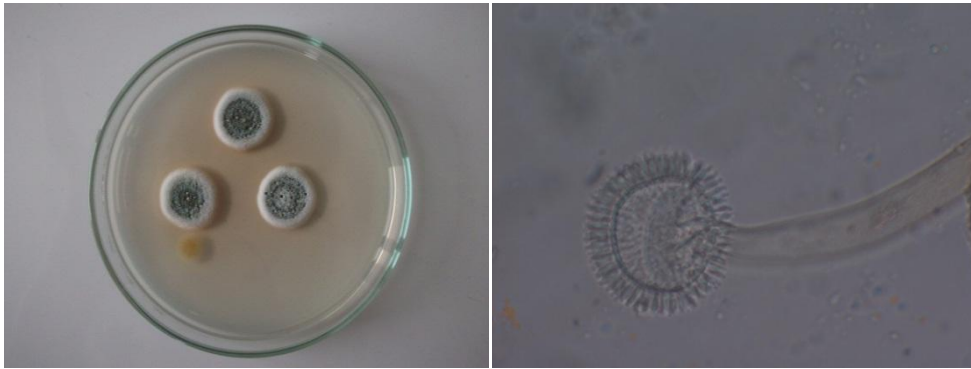
A

B



C

D



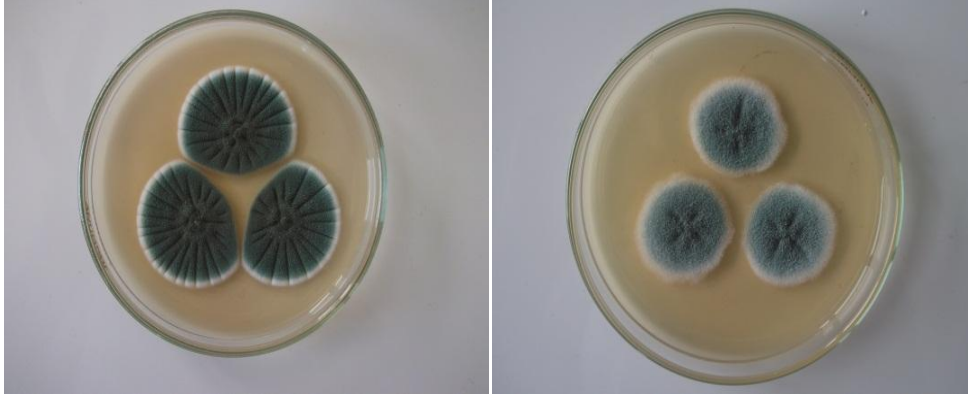
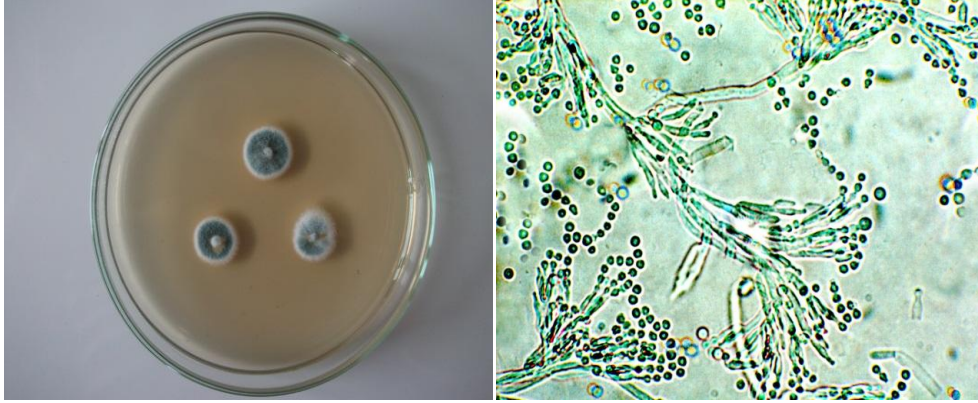
E

F

Şekil 3.7. *Aspergillus wentii*; A. CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** G₂₅N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** PDA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **E.** CZ Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **F.** Mikroskopik Görünümü, x 400.

6. *Penicillium aurantiigriseum* Dierckx 1901

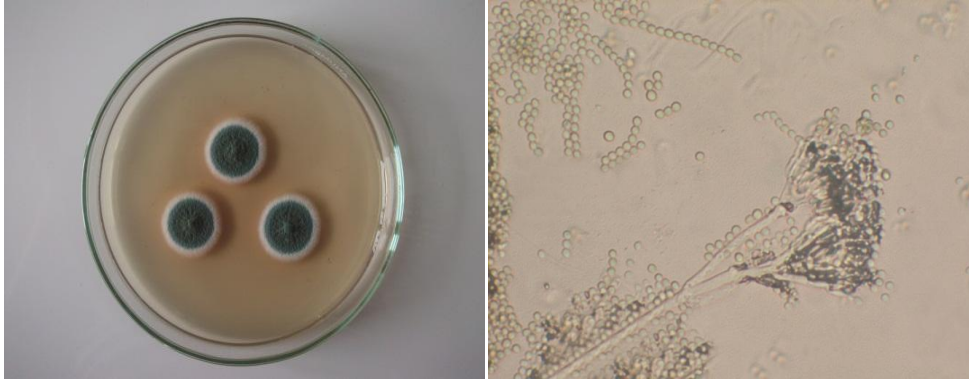
Hem su agarı besi yeri, hem de kurutma kâğıdı üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü.

**A****B****C****D**

Şekil 3.8. *Penicillium aurantiigriseum*; **A.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** G₂₅N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** Mikroskopik Görünümü, x 400.

7. *Penicillium brevicompactum* Dierckx 1901

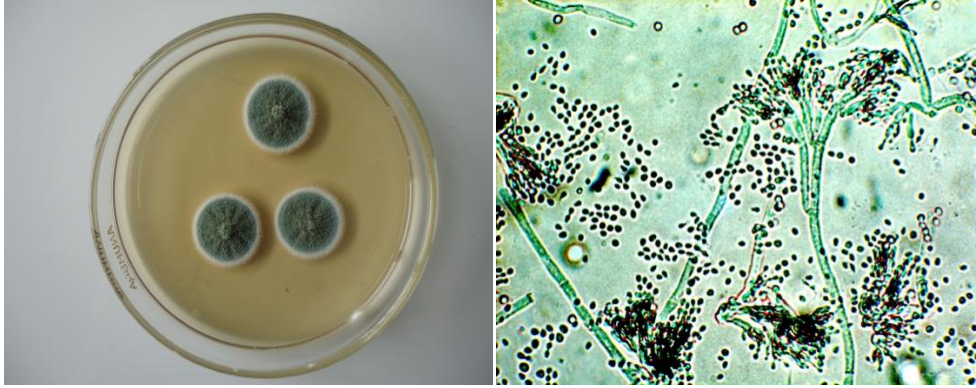
Yalnızca su agarı besi yeri üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü.

**A****B****C****D**

Şekil 3.9. *Penicillium brevicompactum*; **A.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** G₂₅N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** Mikroskopik Görünümü, x 400.

8. *Penicillium chrysogenum* Thom 1910

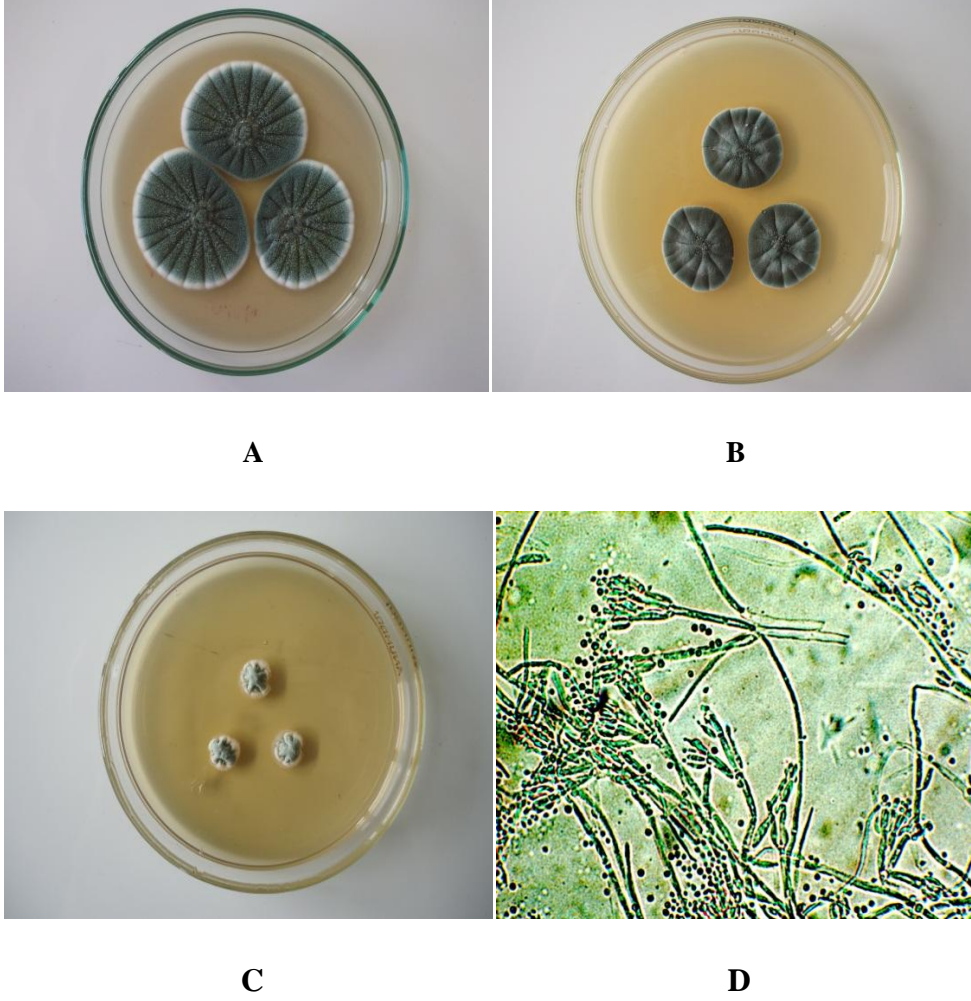
Yalnızca kurutma kâğıdı üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü

**A****B****C****D**

Şekil 3.10. *Penicillium chrysogenum*; **A.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** G₂₅N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** Mikroskopik Görünümü, x 400.

9. *Penicillium citrinum* Thom 1910

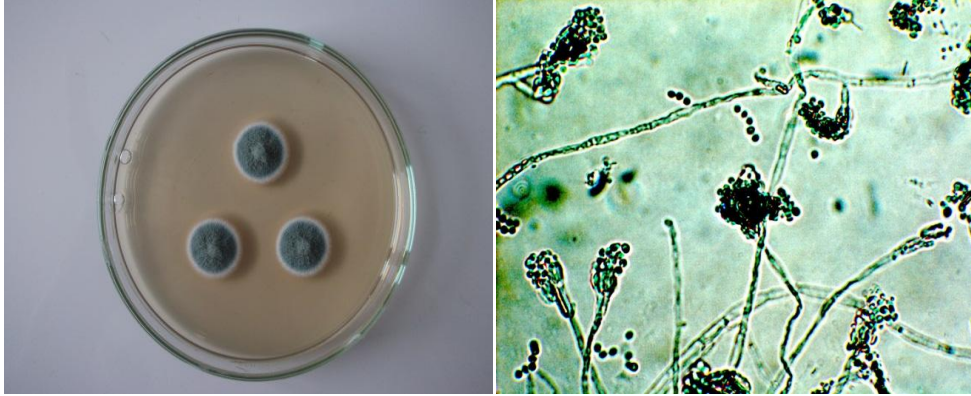
Yalnızca kurutma kâğıdı üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü.



Şekil 3.11. *Penicillium citrinum*; **A.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** G₂₅N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** Mikroskopik Görünümü, x 400.

10. *Penicillium daleae* Zaleski 1927

Yalnızca su agarı besi yeri üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü.

**A****B****C****D**

Şekil 3.12. *Penicillium daleae*; **A.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** G₂₅N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** Mikroskopik Görünümü, x 400.

11. *Penicillium griseofulvum* Dierckx 1901

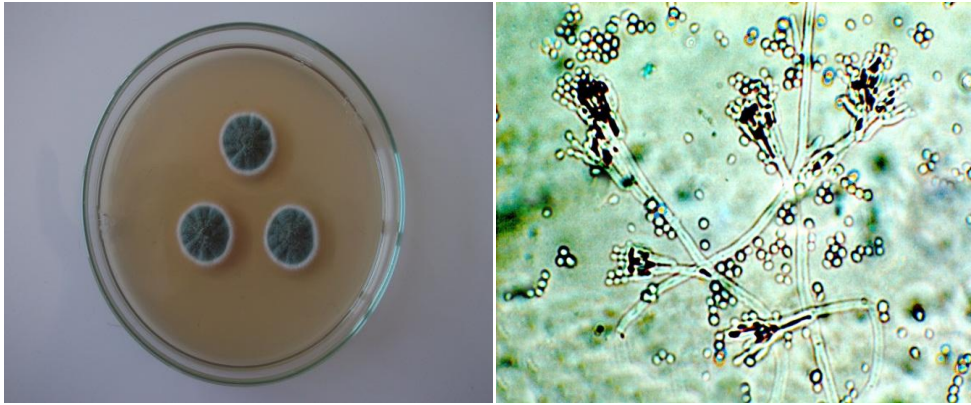
Yalnızca kurutma kâğıdı üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü.

**A****B****C****D**

Şekil 3.13. *Penicillium griseo-fulvum*; **A.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** G₂₅N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** Mikroskopik Görünümü, x 400.

12. *Penicillium italicum* Wehmer 1894

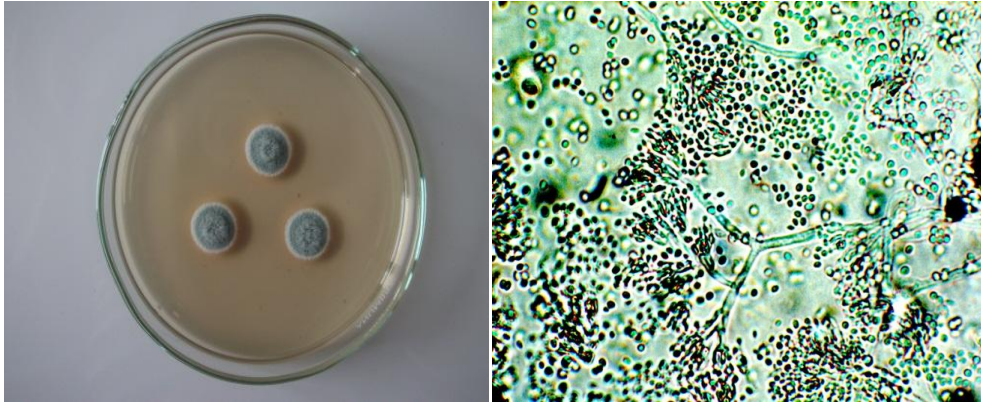
Hem su agarı besi yeri, hem de kurutma kâğıdı üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü.

**A****B****C****D**

Şekil 3.14. *Penicillium italicum*; **A.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** G₂₅N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** Mikroskopik Görünümü, x 400.

13. *Penicillium puberulum* Pitt 1979

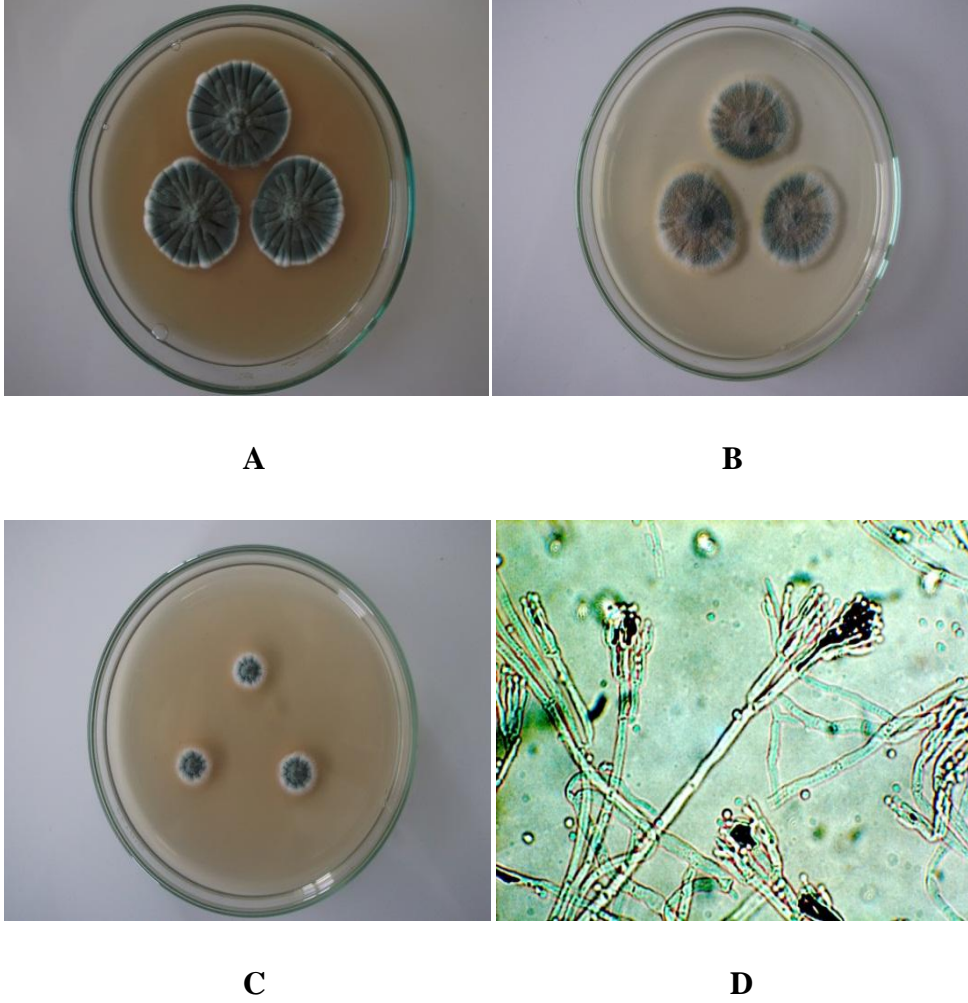
Yalnızca kurutma kağıdı üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü.

**A****B****C****D**

Şekil 3.15. *Penicillium puberulum*; **A.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** G₂₅N Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** Mikroskopik Görünümü, x 400.

14. *Penicillium viridicatum* Westling 1911

Yalnızca su agarı besiyeri üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü



Şekil 3.16. *Penicillium viridicatum*; **A.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **C.** CYA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **D.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü.

MUCOR Mich. ex Fr. 1982

Hem su agarı besi yeri, hem de kurutma kâğıdı üzerine yerleştirilen pirinçlerde görüldü.

15. *Mucor sp 1.*

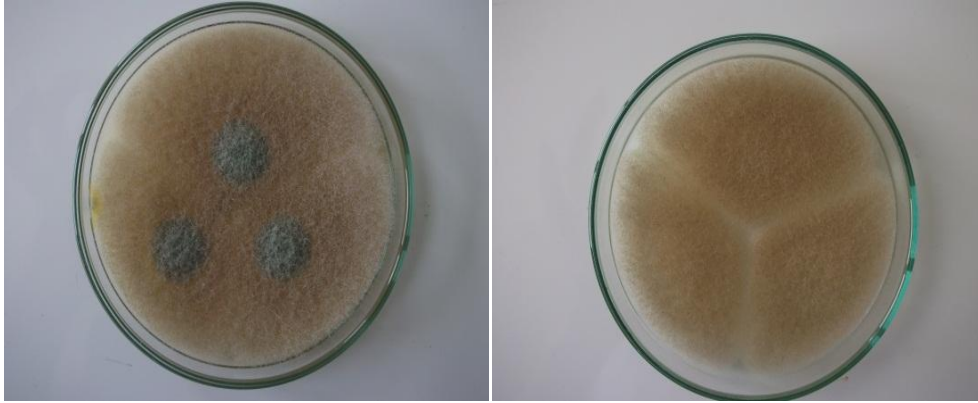


A

B

Şekil 3.17. *Mucor sp. 1*; **A.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** PDA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü.

16. *Mucor sp 2.*



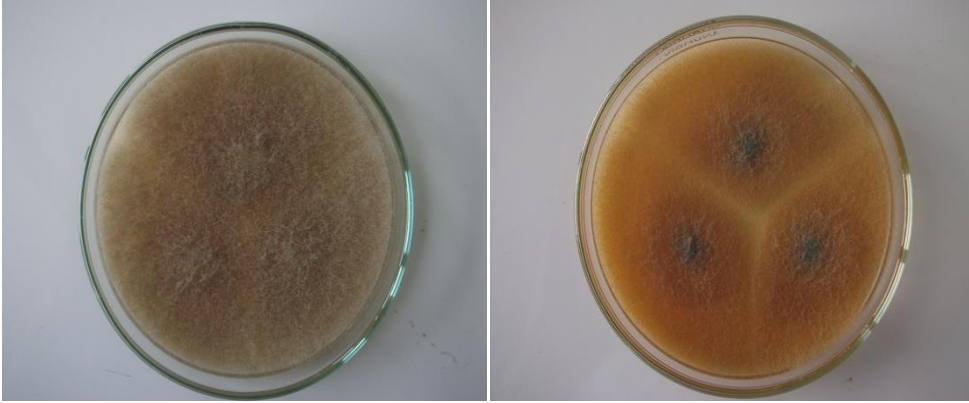
A

B

Şekil 3.18. *Mucor sp. 2*; **A.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** PDA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü.

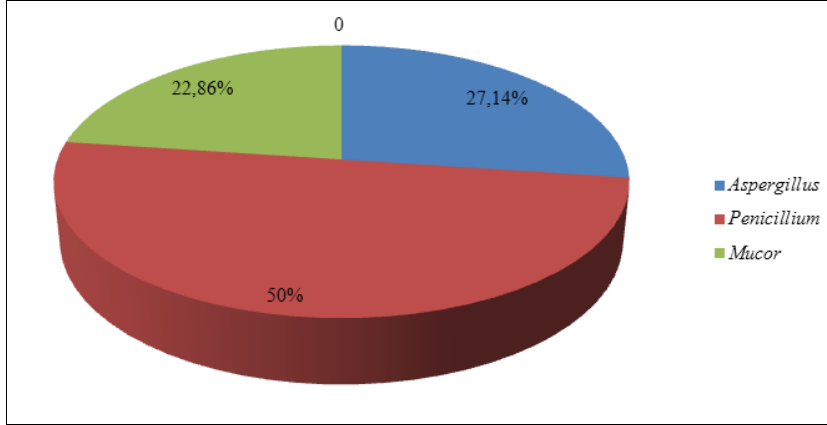
17. *Mucor sp 3.***A****B**

Şekil 3.19. *Mucor sp. 3*; **A.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** PDA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü.

18. *Mucor sp 4.***A****B**

Şekil 3.20. *Mucor sp. 4*; **A.** MEA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü **B.** PDA Besi yerinde 7 günlük koloni görünümü.

3.2. Elde Edilen Mikrofungusların Cins Düzeyinde Dağılımı



Şekil 3.21. Su agarı besi yeri ve kurutma kâğıdı üzerine yerleştirilen pirinçlerde üreyen mikrofungus cinslerinin dağılımı.

3.2.1. Su agarı Besi Yerinde Üreyen İzolatların Dağılımı

Tablo 3.1. Su agarı besi yerine ekilen 5 farklı marka pirinçten izole edilen mikrofungusların dağılımı.

	A CFU/%	B CFU/%	C CFU/%	D CFU/%	E CFU/%
<i>Aspergillus pseudoglaucus</i>	-	-	-	-	1/8.33
<i>A. terreus</i>	-	-	-	1/10	-
<i>A. wentii</i>	-	-	-	-	4/33.3
<i>Aspergillus sp.</i>	-	1/16.6	-	-	-
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	-	1/16.6	-	1/10	-
<i>P. brevicompactum</i>	-	1/16.6	-	-	-
<i>P. daleae</i>	1/11.1	-	-	-	-
<i>P. italicum</i>	-	-	-	4/40	-
<i>P. viridicatum</i>	1/11.1	-	-	-	-
<i>Penicillium sp.</i>	2/22.2	3/50	4/40	4/40	2/16.6
<i>Mucor sp.</i>	5/55.5	-	6/60	-	5/41.6

3.2.2. Kurutma Kâğıdında Üreyen İzolatların Dağılımı

Tablo 3.2. Kurutma kâğıdına yerleştirilen 5 farklı marka pirinçten izole edilen mikrofungusların dağılımı.

	A CFU/%	B CFU/%	C CFU/%	D CFU/%	E CFU/%
<i>Aspergillus clavatus</i>	-	3/50	-	-	-
<i>A. flavus</i>	-	-	5/41.6	-	-
<i>A. wentii</i>	2/100	1/16.6	-	-	1/14.28
<i>Aspergillus sp.</i>	-	-	-	-	-
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	-	1/16.6	-	-	1/14.28
<i>P. chrysogenum</i>	-	-	-	-	1/14.28
<i>P. citrinum</i>	-	-	1/8.3	-	-
<i>P. griseofulvum</i>	-	-	1/8.3	-	-
<i>P. italicum</i>	-	1/16.6	-	-	-
<i>P. puberulum</i>	-	-	1/8.3	-	-
<i>Penicillium sp.</i>	-	-	-	2/100	4/57.1
<i>Mucor sp.</i>	-	-	4/33.3	-	-

Tablo 3.3. Su agarı ve kurutma kâğıdında (tüm markalardaki pirinçlerden) gelişen mik fungus türlerinin koloni sayıları (CFU) ve yüzdesi (%).

	Su agarı (CFU/%)	Kurutma kâğıdı (CFU/%)
<i>Aspergillus clavatus</i>	-	3/15.79
<i>A. flavus</i>	-	5/26.31
<i>A. pseudoglaucus</i>	1/6.6	-
<i>A. terreus</i>	1/6.6	-
<i>A. wentii</i>	4/26.6	4/21.05
<i>Penicillium aurantio-griseum</i>	2/13.3	2/10.52
<i>P. brevicompactum</i>	1/6.6	-
<i>P. chrysogenum</i>	-	1/5.26
<i>P. citrinum</i>	-	1/5.26
<i>P. daleae</i>	1/6.6	-
<i>P. griseofulvum</i>	-	1/5.26
<i>P. italicum</i>	4/26.6	1/5.26
<i>P. puberulum</i>	-	1/5.26
<i>P. viridicatum</i>	1/6.6	-

Su agarı besi yerinde en fazla üreyen ilk üç mikrofungus türü; *Aspergillus wentii* (% 26.6), *Penicillium italicum* (% 26.6), *Penicillium aurantio-griseum* (% 13.3)'dur.

Kurutma kâğıdında en fazla üreyen ilk üç mikrofungus türü; *Aspergillus flavus* (% 26.31), *Aspergillus wentii* (% 21.05), *Aspergillus clavatus* (% 15.79)'tur.

4. TARTIŞMA

Gıdalarda mikrofungus florasının tayini kontaminasyon kaynakları ve risklerin boyutlarının belirlenmesinin, kontaminasyon kaynaklarının ortadan kaldırılabilmesi ya da küf sayısının azaltılabilmesi için alınacak tedbirlere ışık tutacağından gıda endüstrisi, sağlık ve ülke ekonomisi bakımından büyük önem taşımaktadır.

Tarımsal ürünlerin üretim zincirinde tarlaya ekiminden hasatları, nakliyeleri, depolamaları, pazarlamaları ve tüketimlerine kadar olan her evrede küfler tarafından meydana getirilebilecek olan bozulmalar ve hasarlar büyük önem taşımaktadır. Tarımsal ürünlerde meydana gelebilecek küf kontaminasyonları ekonomik kayıplara neden olmanın yanında ürünün kalitesinin düşmesine ve daha da önemlisi sağlık sorunlarına davetiye çıkarmaktadır. Dünya genelinde üretilen gıda ve diğer tarımsal ürünlerin % 10'u küfler tarafından insan ve hayvanların tüketemeyeceği derecede bozulmaya uğratılarak ziyan olmaktadır. Bunların neden olduğu ekonomik kayıpların ise dünya genelinde tahmini olarak 16 milyar Amerikan Doları olduğu bildirilmiştir (Pitt ve Hocking, 1985; Denizel, 1976).

Yaptığımız araştırmada pirinçlerden izole edilen mikrofunguslarda *Penicillium* cinsi daha baskın (% 50) olduğu tespit edilmiştir. Su agarı besi yerinde çoğunlukla *Penicillium* türü mikrofunguslar ürerken, kurutma kâğıdında üreyen mikrofungusların çoğunluğunu *Aspergillus* türleri oluşturmaktadır.

Çeşitli gıdalarda bulunan kontaminantların belirlenmesi için yapılan çalışmalar gıdaların çeşitlerine bağlı değişiklik gösteren türler olmak kaydıyla hakim floranın *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Monilia* ve *Geothricum* türleri olduğunu göstermiştir (Aran ve Eke 1987). Bizim çalışmamızın sonucunda da; *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Mucor* tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile bizim yaptığımız çalışma arasında bir paralellik vardır.

Depolanan tahıl tohumlarının üzerinde yapılan bir çalışmada; On farklı çeşit tohum tanesi (üç buğday, üç çavdar, bir yulaf, bir kara buğday, bir kabuğu soyulmuş ak darı ve bir çeltik örneği) üzerindeki mikroflora araştırılmıştır. Fungal floranın üçte birini *Trichothecium roseum* oluşturmuştur. *Aspergillus* sp. ve *Penicillium* sp. buğday örneğinde, *Aspergillus glaucus* iki çavdar bir yulaf bir karabuğday ve bir akdarı

örneklerinde; *Penicillium* sp. İki çavdar örneği ve bir karabuğday örneğinde *Aspergillus glaucus* ile birlikte baskın türler olarak bulunmuşlardır. Çeltik örneğinde ise *Khuskia oryzae* baskın tür olarak bulunurken diğer türler en düşük oranda saptanmıştır. Sonuçta on değişik hububat örneğinde 53 değişik küf türü belirlenmiştir. Bunlardan *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Alternaria* türlerinin dominant türler olduğu belirtilmiştir (Weidenbömer ve Kunz, 1993).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise kurutma kağıdı ve agar agar besiyerinde teşhis edilen cinsler *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Mucor* cinsleridir. En fazla elde edilen cins *Penicillium* cinsidir. Kurutma kâğıdında en fazla elde edilen tür *Aspergillus wentii*, agar agarda en fazla elde edilen tür ise *Penicillium italicum* ve *Aspergillus wentii*'dir. *Khuskia oryzae*, *Trichothecium roseum* ve *Alternaria* türlerine rastlanmamıştır.

Pirinç başakçık çürüklüğü hastalığı (KET) pirinç verim ve tane kalitesini etkiler. Hastalık morfolojik, biyolojik ve moleküler veri bazında, tespit edilmiştir. Sonuçlar, pirinçte farklı fizyolojik özelliklere sahip, çeşitli mantarların neden olduğunu düşündürmektedir (Huang SW vd 2011). Yapmış olduğumuz çalışmada da pek çok mikrofungus türü tespit edildi.

Gıda maddeleri hammaddelerinin üretiminden gıda ürününün tüketimine kadar olan hemen hemen her aşamada küflerce kontamine edilebilmektedir. Özellikle tarımsal kökenli hazır gıdalar hammaddelerinin tarlaya ekimi, yetiştirilmesi ve olgunlaştırılması esnasında; ürünlerin hasat edilme aşamasında arazi kontaminasyonu gerçekleşebilmektedir. Hasadı yapılan ürünlerin tarladan depoya taşınması esnasında; ürünlerin silolarda yığınlar halinde uygunsuz koşullarda depolanmaları esnasında; depolardan işletmeye taşınma sırasında, işletmede bekleme ve işleme sırasında küf kontaminasyonuna uğrayabildiği gibi tüketime hazır gıdanın paketlenmesi sırasında, üretim sonrası depolama ve pazarlanma aşamalarında da kontamine olabilmektedir. Bunların yanı sıra pazar ve marketlerden alınan gıdaların evlerde uygun koşullarda saklanmaması ve yanlış şekilde tüketimi bile küf kontaminasyonlarına yol açmaktadır. Küflerin temel bulaşma kaynakları hava, su, toprak, eller, personel kıyafetleri, ekipmanlar, ambalaj malzemeleri, ürün kapları, üretim yüzeyleri olarak özetlenebilir (Northolt ve Soentoro, 1981).

Gıda ambalajı yapımında kullanılan materyaller metal, bitkisel maddeler (kâğıt, tahta), cam ve plastiklerdir. Plastikler, çok yönlü ve kullanışlı olup, plastik ambalaj kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Türk Gıda Kodeksi (TGK)'ne göre gıda maddeleriyle temasta bulunacak plastikler, yüksek molekül ağırlıklı polimerlerden oluşmalı ve kimyasal bakımından gıdanın yapısıyla reaksiyona girmemelidir. Gıda maddeleriyle temasta bulunacak plastiklerin üretiminde kullanılan plastifiyan (yumuşatıcı), antioksidan (koruyucu), stabilizan (dayanıklılık sağlayıcı), emülgatör (homojenleştirici), libriifiyan (parlatıcı), boya (renklendirici), katalizör (hızlandırıcı) gibi katkı maddelerinin miktarı, gıda maddesinin kalitesini değiştirmemeli ve toksik bir etki yapmasına neden olmamalıdır. Gıda maddeleriyle temasta bulunacak plastik malzemeler gıda maddelerini emmemeli; gıdayı sızdırmamalı; tat, koku ve rengini değiştirmemeli; taşıma ve depolama şartlarının gerektirdiği fiziksel ve mekanik özelliklere sahip olmalıdır. Plastiklerin yapısında kullanılan kimyasal maddeler, gıda benzeri çözücülerle 60 ppm veya gıda ve benzeri çözücülerin temas ettiği yüzeylerde 10 mg/dm²'den daha fazla çözünürlük vermemelidir (Ayaz, 2008).

Araştırma yapmak için örnekleme aldığımız pirinç taneleri, ağzı kapalı plastik ambalajlar içinde olup, pirinci dış ortamın neminden, havasından ve mikroorganizmaların kontaminasyonundan korumaktadır.

Nişasta, mannitol, sorbitol, laktoz, galaktoz, maltoz, gliserol gibi bileşenlerin mikrofungus büyümesini desteklediği bildirilmiştir (Abdoullahi ve Buchanon, 1981). Araştırma yaptığımız pirinç tanelerinde yüksek oranda nişasta bulunduğu için, ortamda nem ve yeteri sıcaklığın sağlanması ile birlikte doğal olarak mikrofunguslar üremiştir.

Küfler, uygun koşullarda ham ve işlenmemiş materyalde çoğalarak bir yandan ürünün nitelik ve niceliğini değiştirip bozulmasına neden olmakta, diğer yandan da insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sahip toksik maddeleri oluşturmaktadırlar. Oluşan bu ürünler, mikotoksin olarak adlandırılan, son derece toksik, çoğu karsinogen, teratojen, mutajen maddelerdir (Steyn, 1999).

En sık karşılaşılan mikotoksinler aflatoksinler, okratoksin, zearalenon, patulin ve fumonisin olarak sıralanabilir (Huwig ve ark. 2001). Pirinç tanelerinde, fungal mikroflora ve mikotoksin analizinde baskın olan türler, *Penicillium citrinium*,

Aspergillus candidus, ve *Fusarium* türleri' dir. Bu mikrofungus türlerinden Fumonisin, Okratoksin A ve başka mikotoksinler de elde edilmiştir. Bunlardan en yaygın olanı Okratoksin A' dır (Park vd, 2005).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada da *Penicillium citrinum* elde edilmiştir. Bu tür, tespit edilen türlerin % 5.6' sını oluşturmaktadır. *Aspergillus candidus* ve *Fusarium* türlerine rastlanmamıştır. Bu türler dışında Okratoksin ve başka mikotoksin üreten türler de görülmüştür.

Gıdaların uygun koşullarda saklanmaması durumunda oluşan mikrofunguslar mikotoksin salgılar. Mikotoksin içeren gıdanın tüketilmesi ile insanlara geçer ve sonuçta ciddi sağlık sorunları ortaya çıkmaktadır.

Tablo 3.4. Bu çalışmada izole edilen ve çeşitli mikotoksinleri üreten mikrofunguslar ile bu mikotoksinlerin canlılar üzerindeki etkileri.

Mikrofungus Türleri	Ürettiği Mikotoksin	Etkileri
<i>Aspergillus clavatus</i>	Patulin	Nörotoksik, hücreye toksik
<i>A. flavus</i>	Aflatoksin, Siklopiazonikasit	Hepatotoksik, kanserojen, teratojen (AFB1)
<i>A. terreus</i>	Sitrinin	Nefrotoksik, nörotoksik
<i>Penicillium aurantio-griseum</i>	Siklopiazonikasit, Okratoksin, Penisilikasit	Hepatotoksik, kanerojen
<i>P. citrinum</i>	Sitrinin	Nefrotoksik, nörotoksik
<i>P. griseofulvum</i>	Siklopiazonikasit	Hepatotoksik, kanserojen
<i>P. viridicatum</i>	Okratoksin, Penisilikasit	Nefrotoksik, hepatotoksik, teratojen, immunosupresif

Tükettiğimiz gıdalar arasında, karbonhidrat yönünden zengin pirinçlerin sıcaklık ve neme maruz kalması sonucunda üzerlerinde küf üreyebilmektedir. Bu da pirincin besinsel değerini önemli ölçüde azaltmaktadır. Ayrıca bazı mikrofungus türleri mikotoksin salgılayarak ciddi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Dolayısıyla

marketten alınan pirinç ve benzeri gıda maddelerinin saklanması ile ilgili uygun koşulların sağlanması sağlık açısından son derece önemlidir.

5. KAYNAKLAR

1. Abdoullahi, A, Buchanon, RL. Regulation of Aflatoxin Biosynthesis: Induction of Aflatoxin Production by Various Carbohydrates. *Journal of Food Science*. 46: 633-635, 1981.
2. Altuğ T, Ova G, Demirağ K, Kurtcan Ü. Gıda Kalite Kontrolü. S:108-137. Ege Üniversitesi, İzmir, 1994.
3. Aran N., Eke D. 1987 Mould Mycoflora of Some Turkish Cereals and Cereal Products. *Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*. 3 (3): 281-287, 1987.
4. Ayaz A, Yurttagul M. Besinlerdeki Toksik Öğeler- II. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 727, Ankara, 2008.
5. Barnett ve Hunter (1999). "Illustrated Genera of Imperfect Fungi".
6. Bekar A., Kılıç B. Tüketicilerin Alışverişten Sofraya Gıda Güvenliğine Yönelik Tutum ve Davranışları. *Finans Politik ve Ekonomik Yorumlar*. 48 (562): 2011
7. Bullerman, LB. Fungi in Food-An Overview. Elsevier Science, 5511-5522, 2003.
8. Denizel T. Maddelerde Görülen Çeşitli Mikotoksinler. Bursa Gıda Kontrol Eğ. ve Araştırma Enstitüsü Yayını No: 8 Ayyıldız Mat. Ankara sayı 137, 147 S. 1976.
9. Erkmén O. Gıda Kaynaklı Tehlikeler ve Güvenli Gıda Üretimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 53: 220-235, 2010.
10. Göktan D, Tunçel G. Genel Mikrobiyoloji. Ege Üniversitesi Basımevi, 126 S. İzmir, 2001.
11. Gül F, Önal AE. Halk sağlığı açısından gıda analizlerinin önemi. *Nobel Medicus*. İstanbul, 2008; 4(3): 7-14
12. Gül H, Güngör G, Günay Ö. Tüketicilerin Gıda Ambalajlarının Seçiminde Bilgi, Tutum ve Davranışları. *Halk Sağlığı. Sendrom*. 122-125. 1999.

13. Huang SW, Wang G L, Liu LM, Tang SQ, Zhu DF, Savary S. Rice spikelet rot disease in China- 1. Characterization of fungi associated with the disease. *Crop Protection*. 30 (1): 1-9. 2011.
14. Huwig, A., Freimund, S., Käppeli, O., Dutler, H. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters*. 122: 179-188, 2001.
15. Klick, 2002. "Identification of common *Aspergillus* species"
16. Lovell T. Nutrition and Feeding of fish, Auburn University, New York, 93-94, 1993.
17. Northolt MD, Soentoro PSS. Fungal Growth of Foodstuffs Related to Mycotoxin Contamination. Chap. 3, 212-218, 1981.
18. Özçelik S. Gıda Mikrobiyolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 6, Ders Kitapları No: 6, 206 s. Isparta, 2004.
19. Özkaya F.D., Cömert M. Gıda Zehirlenmelerinde Etken Faktörler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 65 (3):149-158, 2008.
20. Özkaya F, Kuleasan H. Maya ve Küf. Ln: Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları (Akçelik, M., Ayhan, K., Çakır, _, Doğan, H.B., Gürgün, V., Halkman, A.K., Kaleli, D., Kuleasan, H., Özkaya, D.F., Tunail, N., Tükel, Ç., -eds), Sim Matbaacılık, 229-230, 2000, Ankara.
21. Park JW, Choi SY, Hwang HJ, Kim YB. Fungal mycoflora and mycotoxins in Korean polished rice destined for humans *International Journal of Food Microbiology*. 103 (3): 305-314. 2005
22. Pitt JI, Hocking AD. Fungi and Food Spoilage, Academic Pres, Sydney, 413 pp, 1985.
23. Pitt, (1979). "The Genus *Penicillium* and Its Teleomorphic States *Eupenicillium* and *Talaromyces*".
24. Pitt, (2000). "A Laboratory Guide To Common *Penicillium* Species".

25. Raper ve Fennel, (1965). "The Genus *Aspergillus*".
26. Samson vd. (2002). "Introduction to Food and Airborne Fungi".
27. Samson, (2002). "Integration of Modern Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification".
28. Steyn PS, Stander MA. "Mycotoxins with Special Reference to the Carcinogenic Mycotoxins: Aflatoxins, Ochratoxins and Fumonisin", Ballantyne, B., Marrs, T.C., Syversen, T.C.M., (Eds.) General And Applied Toxicology, United Kingdom, Macmillian Reference Ltd., (1999), Cilt 32. baskı, sayfa 2145
29. Topal Ş. Gıda Maddelerinden Ayrılan ve Tanınan Küfler Üzerine Araştırmalar, *Gıda*, 9 (5): 253-261, 1984.
30. Tunail N. Funguslar ve mikotoksinleri, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği yayını. Sim Matbaası, Ankara, 2000.
31. Ünlütürk A, Turantas F, Acar J, Karapınar M, Temiz A, Aktug Gönül S, Tuncel G. Gıda Mikrobiyolojisi. Mengi Tan Basımevi, 598 s. _İzmir, 1999.
32. Weidenbörner M, Kunz B, The mycoflora of stored cereal grains. Med. Fac. 1993. 58(3b) p. 1185-1191.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Kırıkkale’de doğdum. İlk okulu Çankırı’da, orta ve lise eğitimimi Kırıkkale’de tamamladım. 2007 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nden mezun oldum. 2 yıllık iş tecrübesinin ardından 2009 yılında Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde Yüksek Lisansa başladım. Yabancı dilim İngilizce’dir.