

İSTANBUL PİYASASINDA SATIŞA SUNULAN BAZI
MISIR VE MISIR ÜRÜNLERİNDE
ZEARALENON(ZEA) DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ

Ali Bahadır ÇELİK
Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
DANIŞMAN: Prof.Dr. Mehmet DEMİRCİ
2010

T.C.

NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**İSTANBUL PİYASASINDA SATIŞA SUNULAN BAZI MISIR VE MISIR
ÜRÜNLERİNDE ZEARALENON (ZEA) DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

Ali Bahadır ÇELİK

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ

TEKİRDAĞ 2010

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ danışmanlığında, Ali Bahadır ÇELİK tarafından hazırlanan bu çalışma 04/02/2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Mustafa MİMİK

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Tuncay GÜMÜŞ

İmza:

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Enstitü Müdürü V.
Prof. Dr. Adnan ORAK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İstanbul Piyasasında Satışa Sunulan Mısır ve Mısır Ürünlerinde Zearalenon (ZEA)
Düzeylerinin Belirlenmesi

Ali Bahadır ÇELİK

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ

Bu çalışmada İstanbul piyasasında satışa sunulan bazı mısır ve ürünlerinin, HPLC kullanarak zearalenon düzeyleri belirlenmiş, Türk Gıda Kodeksi (TGK) Tebliğ 2008/26'ya göre karşılaştırılmıştır. Zearalenon seviyelerinin belirlenmesi için İstanbul piyasasında satışa sunulmuş 20 adet bebek maması, 20 adet mısırozü yağı, 40 adet mısır içerikli işlenmiş ürün ve 20 adet mısır içerikli hayvan yemi olmak üzere toplam 100 adet örnek toplanmıştır. Sadece 1 adet bebek maması örneğinde (20,33 µg/kg) TGK tarafından belirlenen seviyenin (20 µg/kg) üzerinde değer tespit edilmiştir. Toplanan mısır ve mısır içerikli ürünlerinin % 99'unda TGK Tebliğ 2008/26 tarafından belirtilen sınır değerleri aşmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Zearalenon, mısır, mısırozü yağı, bebek maması, yem, İstanbul, HPLC.

2010

ABSTRACT

MSc. Thesis

Determination Zearalenone (ZEA) Levels of Maize and Maize Products Marketed in İstanbul

Ali Bahadır ÇELİK

Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Main Science Division of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ

In this study, zearalenone levels of maize and maize products marketed in İstanbul were determined by HPLC and the results were compared with the zearalenone limit values defined by Turkish Aliment Codex Communiqué 2008/26. For determination totally 100 samples, 20 baby foods, 20 corn oil, and 40 maize product and 20 corn based cattle feed are collected from different markets from İstanbul. Only one of the baby food sample (20,33 µg/kg) exceeded the tolerance limit value (20 µg/kg) accepted by Turkish Aliment Codex Communiqué 2008/26. Zearalenone levels in 99 % of the samples did not exceed the tolerance limit established by Turkish Aliment Codex Communiqué 2008/26.

Key words: Zearalenone, maize, corn oil, baby food, feed, İstanbul, HPLC.

2010

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1. Gıda ve Yemlerde Zearalenon varlığı	3
2.1.1. Avrupa'da Zearalenon varlığı	3
2.1.2. Afrika'da Zearalenon varlığı	5
2.1.3. Asya'da Zearalenon varlığı	6
2.2. Besin maddeleri ile Zearalenon'un vücuda alımı	8
2.3. Zearalenon'un metabolizması	9
2.4. Zearalenon'un toksik etkileri	11
2.4.1. Akut toksisitesi	11
2.4.2. Subakut ve subkronik toksisitesi	11
2.4.3. Kronik toksisitesi ve kanserojen etkisi	12
2.4.4. Genotoksisitesi	15
2.4.5. Üreme sistemi ve Gelişim üzerine etkileri	15
2.4.6. Zearalenon'un bağışıklık sistemine etkisi	16
2.5. Zearalenon'un detoksifikasyonu ve biyolojik yıkım yöntemleri	16
2.6. Zearalenon için tanımlanmış en yüksek limit değerler	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1. Materyal	22
3.2. Yöntem	24
3.2.1. Zearalenon Miktarının Hesaplanması	27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	29
4.1. Bebek Maması Örneklerinde ZEA Varlığı	29
4.2. İşlenmiş Mısır Ürünleri Örneklerinde ZEA Varlığı	31
4.3. Mısırözü Yağı Örneklerinde ZEA Varlığı	33
4.4. Mısır İçerikli Hayvan Yemi Örneklerinde ZEA Varlığı	36

5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	40
KAYNAKLAR.....	43
TEŞEKKÜR	49
ÖZGEÇMİŞ.....	50
EKLER	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Zearalenon ve türevlerinin kimyasal yapıları (Zinedine ve ark. 2007)	1
Şekil 3.1. Zearalenon kalibrasyon eğrisi	24
Şekil 4.1. Bebek maması numunelerin ZEA düzeyleri grafiği.....	31
Şekil 4.2. İşlenmiş mısır numunelerin ZEA düzeyleri grafiği	33
Şekil 4.3. Mısırözü yağı numunelerin ZEA düzeyleri grafiği.....	36
Şekil 4.4. Mısır içerikli hayvan yemi numunelerin ZEA düzeyleri grafiği	39
Şekil 5.1. Tüm numunelerde ZEA TEDB olma oranları	41

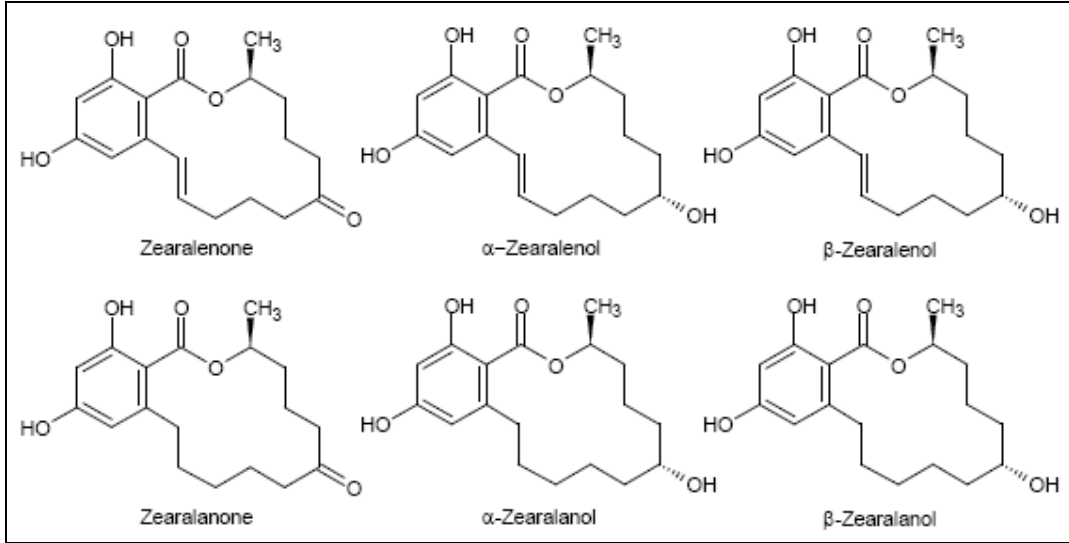
ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Avrupa genelinde gıda ve yemlerde ZEA miktarları	4
Çizelge 2.2. Afrika genelinde gıda ve yemlerde ZEA miktarları	6
Çizelge 2.3. Asya genelinde gıda ve yemlerde ZEA kontaminasyonları.....	7
Çizelge 2.4. Çeşitli havyalar üzerinde ZEA'un akut toksisite(LD50) değerleri	11
Çizelge 2.5. Zearalenon'un bazı hayvanlardaki olumsuz etkileri	14
Çizelge 2.6. ZEA detoksifikasyonu, indirgenmesi ve biyolojik yıkımı ile ilgili çalışmalar....	17
Çizelge 2.7. TGK Tebliğ 2008/26'ya göre Zearalenon maksimum limit değerleri	20
Çizelge 2.8. Çeşitli ülkelerde gıda ve yemlerde maksimum ZEA limit değerleri.....	21
Çizelge 3.1. Zearalenon HPLC kalibrasyon standartlarının hazırlanması	23
Çizelge 3.2. ZEA için metot performans kriterleri.....	26
Çizelge 4.1. Bebek maması numunelerin ZEA düzeyleri.....	29
Çizelge 4.2. Bebek maması numunelerin ZEA düzey oranları	30
Çizelge 4.3. İşlenmiş mısır numunelerinin ZEA düzeyleri.....	31
Çizelge 4.4. İşlenmiş mısır numunelerinin ZEA düzey oranları	32
Çizelge 4.5. Mısırözü yağı numunelerin ZEA düzeyleri	34
Çizelge 4.6. Mısırözü yağı numunelerin ZEA düzey oranları	35
Çizelge 4.7. Mısır içerikli hayvan yemi numunelerin ZEA düzeyleri.....	37
Çizelge 4.8. Mısır içerikli hayvan yemi numunelerin ZEA düzey oranları	38
Çizelge 4.9. Tüm numunelerin ZEA düzeyleri	40

1. GİRİŞ

Zearalenon (daha önceleri F-2 toksin olarak bilinir) *Fusarium* türü küflerin, özellikle *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. cerealis*, *F. crookwellence* ve *F. semitectum* tarafından poliketit yol ile biyosentezlenen steroidal olmayan östrojen bir mikotoksindir. Zearalenon (ZEA) sentezleyen *Fusarium* küfleri toprak kaynaklı olup, sıcak ülkelerde yaygın olarak bulunmakla beraber, dünyada tüm tahıl türlerinde başlıca bulaşanlar arasında yer almaktadır (Bennett ve Klich 2003).

ZEA bir resorsiklik asit laktonudur ve kimyasal isimlendirmesi ise 6-[10-hidroksi-1-okso-trans-1-undecenil]- β -resorsiklik asit lakton'dur (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Zearalenon ve türevlerinin kimyasal yapıları (Zinedine ve ark. 2007)

İsimlendirmesinde bulunan *-en* eki C-1 ve C-2 karbon atomlarında bulunan çift bağdan, *-one* eki ise C-6 karbon atomunda bulunan keton grubundan gelmektedir (Urry ve ark. 1966). Kapalı molekül formülü $C_{18}H_{22}O_5$ olup, molekül ağırlığı 318,36 g/mol'dür.

ZEA beyaz kristal formda bir katıdır. UV ışığı altında mavi-yeşil flüoresans vermektedir. Metanolde çözülmüş halde UV ışığında en yüksek absorpsiyonu 236 nm'de vermektedir. Etanolde çözülmüş formu en yüksek flüoresansı ex:314 nm em: 450 nm'de vermektedir. asetonitril, metilen klorit, metanol, etanol ve asetonunda iyi çözünmektedir. ZEA ayrıca sulu alkali çözeltilerde de çözüdür.

Memelilerin tüketimi sonucunda C-8 de bulunan keton grubu iki farkı streioizomerik metabolite indirgenmekte, bu metabolitler ZEA'nın α ve β izomerleridir. Bu metabolitler aynı zamanda küfler tarafından da sentezlenebilmekte, fakat ZEA konsantrasyonlarına kıyasla çok düşük seviyelerde oluşmaktadırlar (CCFAC 2000)

ZEA'un canlılar üzerinde en bilinen etkisi memelilerde östrojen etki göstermesidir. Özellikle domuzlar diğer memelilere ve kanatlılara göre daha hassastırlar (Richard 2007). Hayvan yetiştiriciliğinde kullanılan yemler ile canlı bünyesine girmektedir.

ZEA sentezleyen küfler özellikle mısırı enfekte etmekle beraber, daha az oranlarda arpa, yulaf, buğday, sorgum ve darı gibi tahılları da enfekte etmektedirler. Bunun bir sonucu olarak ZEA toksini malt, soya fasulyesi ve bira gibi tahıl ürünlerinde tespit edilmiştir. *Fusarium* cinsi küfler tahıllara tarlada bulaşırlar. Toksin sentezi genel olarak hasat öncesi gerçekleşmekle beraber, aynı zamanda hasat sonrası işlenmeyen veya kurutulmayan tahıllarda da sentezin devam ettiği gözlemlenmiştir (CCFAC 2000)

Bilinen ZEA türevleri α -zearalenol (α -ZEA), β -zearalenol (β -ZEA), α -zearalanol (α -ZAL), β -zearalanol (β -ZAL) ve zearalanon (ZAN) tarlada *Fusarium* ile enfekte olmuş mısır sapslarında tespit edilmiştir (Bottalico ve ark. 1985). Aynı türler Richardson ve ark. 1985 tarafından pirinç kültüründe de tespit edilmiştir.

Bu çalışmada Türkiye'nin satış ve tüketim potansiyeli en yüksek ili olan İstanbul'da satışta bulunan mısır içerikli çeşitli gıda ve yem ürünlerinde ZEA varlığının düzeyini ortaya koymak, risk gruplarını belirlemek, çözüm önerileri vermek amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Gıda ve Yemlerde Zearalenon varlığı

Fusarium türü küflerin birçok toksin üreten türü tahıl bitkileri için patojendir. Özellikle buğday ve arpalarda başak yanıklarına, mısırlarda ise koçan çürümesine sebep olurlar. Placinta ve ark. (1999)'na göre küfler uluslararası tahıl ticareti sayesinde bir ülkeden diğerine yayılmaktadır. Buna karşın *Fusarium* küfleri daha çok tarlada etki gösteren patojenler olması sebebiyle depolama sırasında ve taşınma sırasında riskleri minimumdur. Bununla beraber *Fusarium* küfleri tahıllar üzerinde hasada kadar ZEA sentezleyebilmektedir. Yapılan birçok araştırmada mısır ve mısır bazlı hayvan yemlerinde yüksek ZEA konsantrasyonları tespit edilmiştir (Kuiper-Goodman ve ark. 1987). Kuiper-Goodman ve ark. (1987) tahıl ve hayvanların tüm dünya genelinde ZEA ile kontamine olduğunu ortaya koyan bir çalışma yapmışlardır. Baskın olarak ZEA bulunan tahıl ürünlerinde ayrıca diğer *Fusarium* toksinlerinden trikotesenler ve fumonisinler de tespit edilmiştir (D'Mello ve ark. 1997).

2.1.1. Avrupa'da Zearalenon varlığı

Avrupa'da ZEA açısından en riskli tahıl ürünü mısırdır. Bunun yanında buğday, arpa ve soya fasulyesi ürünlerinde de ZEA tespit edilmiştir (EC 2004). Avrupa genelinde gıda ve yemler üzerinde ZEA varlığı konusunda çok sayıda çalışma yapılmış, bu çalışmalar 2007 yılında Zinedine ve ark. tarafından derlenmiş ve sonuçlar Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

Tanaka ve ark. (1988) içinde bazı Avrupa ülkelerinin de bulunduğu (Almanya, İtalya, Polonya ve İngiltere) 19 ülkede ZEA varlığı ile ilgili bir çalışma yürütmüşlerdir. Çalışma sonucunda buğday, arpa, mısır, yulaf, sorgum, çavdar ve pirinç numunelerinde ZEA tespit etmişlerdir.

Placinta ve ark. (1999) yaptıkları araştırma sonucunda Bulgaristan, Almanya, Finlandiya, Hollanda, Norveç ve Polonya'dan elde edilmiş buğday, arpa, yulaf, çavdar ve yem numunelerinde 0 – 8 mg/kg'a kadar ZEA düzeylerinin varlığını belirlemişlerdir.

Çizelge 2.1. Avrupa genelinde gıda ve yemlerde ZEA miktarları (Zinedine ve ark. 2007)

Ülke	Analiz edilen numune	Tespit edilen ZEA aralığı(mg/kg)	Referanslar
Bulgaristan	Buğday	En fazla 0,12	Vrabcheva ve ark.(1996)
Hırvatistan	Mısır taneleri	Ortalama 1,70	Domijan ve ark.(2005)
Finlandiya	Yem ve tahıl taneleri	0,022 – 0,095	Hietaniemi ve Kumpulainen (1991)
	Buğday	0,001 – 8,04	Müller ve ark.(1997a)
	Arpa	0,002 – 0,311	Müller ve ark.(1997b)
	Buğday	0,017 – 0,104	Schneweis ve ark.(2002)
	Buğday, mısır, yulaf ürünleri	0,002 – 0,018	Schollenberger ve ark.(2005)
	Buğday	Ortalama 0,015	Schollenberger ve ark.(2005)
Almanya	Mısır	En fazla 0,860	Schollenberger ve ark.(2006)
	Yulaf	En fazla 0,021	Schollenberger ve ark.(2006)
	Mısır ve ürünleri	En fazla 1,362	Schollenberger ve ark.(2006)
	Mısır bitkisi	En fazla 0,553	Schollenberger ve ark.(2006)
	Mısır silajı	En fazla 1,790	Schollenberger ve ark.(2006)
	Soya	En fazla 0,211	Schollenberger ve ark.(2006)
Macaristan	Küflenmiş depo mısır	0,01 – 11,8	Fazekas ve ark.(1996)
İtalya	Mısır	0,004 – 0,15	Visconti ve Pascale(1998)
	Mısır	Ortalama 0,453	Pietri ve ark.(2004)
Hollanda	Buğday	0,020 – 0,231	Tanaka ve ark.(1990)
	Mısır bazlı yem	En fazla 3,1	Veldman ve ark.(1992)
Polonya	Buğday	0,01 – 2	Perkowski ve ark.(1990)
İskoçya	Arpa (3-12 ay depolanmış)	2,1 – 26,5	Gross ve Robb(1975)
Slovakya	Kanatlı hayvan yemi karışımı	0,003 – 0,086	Labuda ve ark.(2005)
İsviçre	Buğday	0,01 – 0,121	Bucheli ve ark.(1996)
	Buğday	0,01 – 0,018	Noser ve ark.(1996)
İngiltere	Mısır bazlı yem	0,02 – 1,8	Scudamore ve ark.(1998)
	Mısır	0,04 – 1,8	Scudamore ve ark.(1998)
	Yulaf	0,03 – 0,086	Hietaniemi ve Kumpulainen (1991)
Yugoslavya	Arpa	0,021 – 0,03	Hietaniemi ve Kumpulainen (1991)
	Mısır	0,043 – 10	Balzer ve ark.(1977)
	Sığır besi yemi	0,14 – 0,96	Skrinjar ve ark.(1995)

Polonya’da Perkowski ve ark. (1990) ve Bulgaristan’da (Vrabcheva ve ark. 1996) buğday numunelerinde ZEA’nın varlığını belirlemişlerdir. 1993 ve 1994 yıllarında Zakharova ve ark. (1995) tarafından yapılan çalışmada tahıl ürünlerinde düşük düzeyde ZEA tespit etmişlerdir. Macaristan’da yapılan bir çalışmada küflü mısır ve depolanmış mısır numunelerinde 0,01 ila 11,8 mg/kg arasında değişen miktarlarda ZEA tespit edilmiştir (Fazekas ve ark. 1996).

Finlandiya’da yapılan bir çalışmada arpa ve yulaf numunelerinde ZEA ile birlikte deoksinivalenol (DON) ve 3-asetildeoksinivalenol (3-ADON) belirlemiştir (Hietaniemi ve Kumpulainen 1991).

Hollanda’da, Tanaka ve ark. (1990) buğday numunelerinde, Veldman ve ark. (1992) ise yem katkı maddelerinde ZEA tespit ettiklerini bildirmişlerdir. İngiltere’de Scudamore ve ark. (1998), İtalya’da Pietri ve ark. (2004) ve Visconti ve Pascale (1998) mısır ve mısır bazlı yem katkı maddelerinde ZEA tespit etmişlerdir. İskoçya’da ise Gross ve Robb (1975) depolanmış arpa numunelerinde (3 ay ila 1 yıl süresince) 2,1 – 26,5 mg/kg arasında değişen miktarlarda ZEA belirlemiştir.

Avrupa’da yapılmış bütün bu araştırma verilerine göre karışık tahıl numunelerinin (n= 4918) % 32’sinde ZEA varlığı saptanmıştır. Ayrıca çalışmalar neticesinde kontaminasyonun en çok mısır daneleri ve buğday danelerinde olduğu ortaya çıkmıştır. Finlandiya’da yulaf numunelerinde % 47’sinde 0,2 – 1,31 mg/kg arasında değişen miktarlarda ZEA tespit edilmiştir. Yine yüksek bir oran olarak Fransa’da buğday numunelerinin % 16’sı 0,200 – 1,817 mg/kg arasında değişen miktarlarda ZEA tespit edildiği görülmektedir (Zinedine ve ark. 2007).

Ham mısır en sık ZEA tespit edilen gıda numunesidir ve sonuçlara göre mısır numunelerinin % 14’ü 0,2 mg/kg’dan yüksek değerlerde ZEA içermekte ve en yüksek ZEA İtalya’da yapılan çalışmada 6,492 mg/kg olarak bir mısır numunesinde rapor edilmiştir (SCOOP 2003).

2.1.2. Afrika’da Zearalenon varlığı

Birçok Afrika ülkesi benzer iklim şartlarına sahiptir. Yüksek sıcaklık dereceleri ve yüksek nem düzeyleri özellikle küf gelişimi için ideal ortamları oluşturmaktadır. Zambiya’da yapılan bir çalışmada bira hammaddesi olarak kullanılan mısır ürününde, bira ve mısır maltı numunelerinde ZEA kontaminasyonu tespit edilmiştir (Lovelace ve Nyathi 1977). Nijerya’da yapılan araştırmada mısır (*Zea mays*) numunelerinde yüksek oranda (17,5 mg/kg) ZEA tespit edilmiştir (Gbodi ve ark. 1986a,b). Nijerya’dan elde edilen bira numunesinde ZEA tespit edilmiştir (Okoye 1987).

Afrika genelinde gıda ve yemler üzerinde ZEA varlığı konusunda çok sayıda çalışma yapılmış, bu çalışmalar Zinedine ve ark. (2007) tarafından derlenmiş ve sonuçlar Çizelge 2.2.'de sunulmuştur.

Çizelge 2.2. Afrika genelinde gıda ve yemlerde ZEA miktarları (Zinedine ve ark. 2007)

Ülke	Analiz edilen numune	Tespit edilen ZEA aralığı(mg/kg)	Referanslar
Mısır	Tahıllar	0,005 – 0,045	Abd Alla (1997)
	Mısır	9,8 – 38,4	El-Maghraby ve ark. (1995)
Fas	Mısır	0,0135 – 0,0165	Zinedine ve ark. (2006)
Nijerya	Küflü mısır	0,2 – 0,6	Gbodi ve ark. (1986)
	Mısır	En fazla 17,5	Gbodi ve ark. (1986)
	Bira	0,245 – 1,32 mg/l	Okoye (1987)
Zambiya	Bira üretimi için mısır	0,1 – 0,8	Lovelace ve Nyathi (1977)
	Mısır maltı	En fazla 4	Lovelace ve Nyathi (1977)
	Bira	0,09 – 4,6 mg/l	Lovelace ve Nyathi (1977)
Güney Afrika	Tahıllar/Hayvan yemi	0,05 – 8,0	Dutton ve Kinsey (1996)

Mısır'da çeşitli numunelerde ZEA varlığı özellikle mısır, buğday ve pirinçte Abd Alla (1997) ve cevizde Abdel-hafez ve Saber (1993) tarafından rapor edilmiştir. Güney Afrika Cumhuriyeti'nde tahıl, hayvan yemleri ve bira üzerinde yapılan çalışmalarda ZEA tespit edilmiştir (Dutton ve Kinsey 1996). Kuzey Afrika ülkelerinde *Fusarium* toksinleri üzerine az sayıda çalışma yapılmıştır. İlk rapor Fas'tan mısır numunelerinde ZEA, fumonisin B1 ve okratoksin A (OTA) üzerinedir (Zinedine ve ark. 2006).

2.1.3. Asya'da Zearalenon varlığı

Japonya'da Yoshizawa ve Jin (1995) ve Yoshizawa (1997) arpa ve buğday numunelerinde yaptıkları çalışmalarda ZEA tespit etmişlerdir. Kore'de yapılan bir diğer araştırmada 1990 yılı arpa ve mısır ürünlerinde yüksek oranda ZEA tespit edilmiş, bunun sebebinin ise o yıl yağın yoğun yağış ve nem olduğu bildirilmiştir (Park ve ark. 1992). Park ve ark. (2002) yaptıkları bir araştırmada arpa ve arpa içerikli gıdalar ile mısır ve mısır içerikli gıdalarda ZEA tespit etmişlerdir. Son yıllarda yapılan yeni bir araştırmada ise Kore genelinden toplanan pirinç numunelerinde ZEA varlığı ile birlikte OTA, aflatoksin B1 (AFB1), DON ve nivalenol (NIV) tespit edilmiştir (Park ve ark. 2005). Buna ilaveten ZEA, NIV, fumonisin ve aflatoksinlerin çapraz kontaminasyonlarının Filipinler ve Tayland'da acil durum sinyali verdiği bildirilmiştir (Yamashita ve ark. 1995).

Asya genelinde gıda ve yemler üzerinde ZEA varlığı konusunda çok sayıda çalışma yapılmış, bu çalışmalar Zinedine ve ark. (2007) tarafından derlenmiş ve sonuçlar Çizelge 2.3.'de sunulmuştur.

Çizelge 2.3. Asya genelinde gıda ve yemlerde ZEA kontaminasyonları (Zinedine ve ark. 2007)

Ülke	Analiz edilen numune	Tespit edilen ZEA aralığı(mg/kg)	Referanslar
Çin	Buğday	0,005 – 1,4	Li ve ark. (2002)
	Mısır	0,014 – 0,169	Luo ve ark. (1990)
	Mısır	0,01 – 0,04	Janardhana ve ark. (1999)
Hindistan	Saman	Ortalama 0,422	Philips ve ark. (1996)
	Karışım numune	0,843	Philips ve ark. (1996)
	Mısır	0,01 – 0,04	Janardhana ve ark. (1999)
	Buğday ve pirinç	En fazla 600	JECFA (2000)
Endonezya	Mısır ve kanatlı hayvan yemi	0,0055 – 0,526	Nuryono ve ark. (2005)
İran	Mısır unu	En fazla 0,889	Reza Oveisi ve ark. (2005)
	Mısır	0,1 – 0,212	Hadiani ve ark. (2003)
	Peynirli aperatif	En fazla 1,471	Reza Oveisi ve ark. (2005)
Japonya	Buğday	0,002 – 0,025	Sugiura ve ark. (1993)
	Arpa	0,010 – 0,658	Sugiura ve ark. (1993)
	Buğday	0,053 – 0,51	Yoshizawa (1997)
	Arpa	11 – 15	Yoshizawa (1997)
	Arpa	0,105 – 15,3	Yoshizawa ve Jin (1995)
Kore	Arpa	0,04 – 1,416	Kim ve ark. (1993)
	Mısır	0,04 – 0,386	Kim ve ark. (1993)
	Arpa	0,014 – 0,171	Park ve ark. (2002)
	Arpa ürünleri	0,0034 – 0,120	Park ve ark. (2002)
	Mısır	0,0034 – 0,0058	Park ve ark. (2002)
	Pirinç	0,0217 – 0,047	Park ve ark. (2005)
	Mısır ürünleri	0,0036 – 0,084	Park ve ark. (2002)
Filipinler	Mısır	0,059 – 0,505	Yamashita ve ark. (1995)
Katar	Pirinç	0,00018 – 0,0014	Abdulkadar ve ark. (2004)
	Buğday	0,00021 – 0,0021	Abdulkadar ve ark. (2004)
	Mısır gevreği	0,0038 – 0,00681	Abdulkadar ve ark. (2004)
Tayland	Mısır	0,923	Yamashita ve ark. (1995)

Hindistan'da yapılan bir araştırmada mısır, buğday ve pirinç numunelerinde ZEA belirlenmiştir (Philips ve ark. 1996). Hindistan mısırlarında yapılan bir diğer araştırmada ZEA'nın yanında numunelerde AFB1, OTA, T-2 toksin, DON ve citrinin varlığı saptanmıştır (Janardhana ve ark. 1999). Katar'da yapılan bir araştırmada pirinç, buğday, yulaf ve mısır gevreği numunelerinde dūřuk dūzeylerde ZEA ile birlikte OTA, aflatoksinler ve DON tespit edilmiştir (Abdulkadar ve ark. 2004). Endonezya'da mısır iğerikli gıda ve kumes havayaları yem maddelerinde ZEA belirlenmiştir (Nuryono ve ark. 2005). İnan'da yeni hasat edilmiş mısır numunelerinde ZEA saptanmıştır (Hadiani ve ark. 2003).

2.2. Besin maddeleri ile Zearalenon'un vūcudā alımı

Hayvanlar tarafından tūketilen ZEA hızlı biyotransformasyona uęrar ve vūcuttan atılır. Et ve et ūrūnleri tūketimi ile insan vūcuduna alımı bu sebepten belirsizdir (Creppy 2002). Yūysek dūzeylerde ZEA ięeren yemler ile beslenen sūt hayvanlarının sūtlerine ZEA geęebilmektedir. Prelusky ve ark. (1990) yaptıkları ęalıřmada oral yol ile 6000 mg ZEA (12 mg/kg vūcut aęırlıęı (v.a.) eřdeęeri) ile beslenen ineklerin sūtlerinde 6,1 μg/L ZEA, 4 μg/L α-ZEA, ve 6,6 μg/L β-ZEA tespit etmiřlerdir. Buna karřın 50 ile 165 mg ZEA (0,1 ile 0,33 mg/kg v.a eřdeęeri) ile 21 gūn sūresince beslenen 3 ineęin sūtlerinde ne ZEA ne de tūrevleri saptanmıřtır. Aynı ęalıřma ięerisinde tavuk yumurtaları ūzerinde yapılan arařtırmalarda ZEA tespit edilmemiřtir. ZEA'nın ana kaynakları Avrupa'da buęday, ęavdar ve yulaf; Kanada ve Amerika Birleřik Devletleri'nde (ABD) mısır, mısır ūrūnleri ve buęday ūrūnleridir.

Riskli ūrūnlerdeki ortalama ZEA varlıęı gōz ūnūne alınarak yapılan hesaplamalara gōre yetiřkin bireylerin kg bařına gūnlük tūketimleri 0,8 ila 29 ng/kg v.a., kūçük ęocuklarda ise en yūysek oran olan kg bařına 6 ila 55 ng/kg v.a./gūn olmaktadır (Minervini ve ark. 2005).

ZEA'un olası insan tūketimleri hakkında az miktarda veri bulunmaktadır. Bunun sebebi dūnyanın ęeřitli bōlgelerinde, ęeřitli numunelerde ZEA ūzerine az sayıda ęalıřma yapılımiř olmasındır. Kanada ve İřkandinavya'da da yapılan ęalıřmalara gōre insan popūlūsyonu ięin gıda ile ZEA alımı riski minimum dūzeydedir (Kuiper-Goodman ve ark. 1987; Eriksen ve Alexander 1998). Kanada, Danimarka ve Norveę ięin hesaplanan gūnlük diyet ile ZEA alımı 20 ng/kg v.a./gūn, ABD ięin 30 ng/kg v.a./gūn'dūr. α-ZAL veteriner ilacı olarak kullanıldıęı durumda gıdalardan maksimum teorik alımı 1,6 μg/gūn (0,02 μg/kg v.a./gūn) olur. Bu hesaplama hayvan karacięerinde beklenen maksimum 10 μg/kg, hayvan kas dokusunda beklenen maksimum 2 μg/kg ZEA kalıntısı deęerlerine gōre hesaplanmıřtır.

Farmokinetikte ZEA metabolizması üzerine yapılan araştırmalar domuzlarda ZEA' un sindirim dokusunda metabolize olmakta, benzer şekilde insan vucudunda da emilimi sırasında α -ZEA, β -ZEA ve β -ZAL olarak metabolize olmakta ve glukuronik asite konjuge(bağlı) olarak bulunmaktadır. ZEA için geçici maksimum tolare edilebilir günlük alım değeri (PMTDI: Provisional Maximum Tolerable Daily Intake) 0,5 μ g/kg v.a. olarak FAO ve WHO birleşik heyeti (komitesi) tarafından belirlenmiştir. Heyet ZEA ve metabolitlerinin (α -ZEA dâhil) günlük alımlarının bu değeri aşmaması gerektiğini tavsiye etmişlerdir (CCFAC 2000).

2.3. Zearalenon'un metabolizması

ZEA ağız yolu ile alımı takiben hızlı bir şekilde emilir. Bu emilimin insan vucudundaki derecesinin ölçümü çok zor olmakla beraber, fareler, tavşanlar ve insanlar tarafından çok hızlı şekilde absorbe edildiği belirlenmiştir (Kuiper-Goodman ve ark. 1987). Domuzlar üzerinde 10 mg/kg vucut ağırlığı (v.a.) düzeyinde tek doz yapılan çalışmada ZEA'un % 80-85'inin absorbe edildiği saptanmıştır (Biehl ve ark. 1993).

Olsen ve ark. (1981)'na göre ZEA'un hayvan bünyesine alımı sonrası iki ana biyotransformasyon yolu olduğu ngrmüşler. Bunlar;

- Hidroksilasyonu ile α -ZEA ve β -ZEA'e dönüşümü, bu tepkimenin katalizörü ise 3α - ve 3β - hidroksisteroid dehidrogenaz (HSD_S)'dır.
- Emilim sonrası ZEA ve metabolitlerinin glukuronik asite bağlanması ki katalizörü ise üridin difosfat glukuronil transferaz enzimidir (UDPGT).

Ueno ve ark. (1983) yaptıkları araştırma şunu göstermiştir ki; pH 4,5 düzeyinde NADH veya NADPH veya pH 7,4 düzeyinde NADH ile fare, domuz, inek ve tavşan hepatositlerinde α -ZEA metabolittir. Buna karşın pH 7,4 düzeyinde NADPH ile β -ZEA baskın metabolittir. Kobaylarda ise hem α -ZEA hem de β -ZEA pH ve kofaktör etkisi olmaksızın eşit miktarlarda oluşmakta, hamsterlarda ise β -ZEA baskın metabolit olmaktadır. Bu alışma da optimum pH düzeyinde ZEA'un iki metaboliti olduğu belirlenmiştir.

Malekinejad ve ark. (2006)'nın yaptıkları araştırmada ZEA'un hepatik biyotransformasyonu türleri arasındaki farklılıkları ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar domuzların baskın olarak ZEA'u, α -ZEA'e dönüştürdüğünü, sığırların ise karaciğer metaboliti olarak β -ZEA oluşturduğunu, buna karşın koyun karaciğer mitokondrisinin ZEA'u α -ZEA'e dönüştürdüğünü ortaya koymuşlardır.

Hayvan türlerinde ZEA'un metabolizması ile ilgili belirgin farklılıklar içeren veriler olmasına karşın insanlar için yeterli veri bulunmamaktadır. Domuzlarda olduğu gibi büyük ihtimalle insanlar da ZEA ağız yolu ile alındığında hızlıca emilmekte ve hücre içerisinde metabolize olmaktadır. Hücre içerisinde ZEA, α -ZEA, β -ZEA, α -ZAL ve β -ZAL (bu metabolitler glukuronik asite bağlı bulunurlar) olarak metabolize olmaktadır (JECFA 2000). Mera döneminde koyunlarda bu metabolitlerin yüksek düzeyleri, idrar içerisinde glukuronitler ile kendini belli etmektedir (Cheeke 1998). ZEA safra ve idrar içerisinde belirgin olarak tespit edilebilmektedir (Döll ve ark. 2003).

Mirocha ve ark. (1981)'nin erkek gönüllüler üzerinde yaptığı bir araştırmada katılımcılara tek doz 100 mg ZEA ağız yoluyla verilmiş, 6, 12 ve 24 saat sonra idrarlarında ZEA, α -ZEA ve β -ZEA düzeyleri tespit edilmiştir. Buna göre sırası ile;

- 6 saat sonra yapılan analizlerde 3,7 μ g/ml ZEA, 3 μ g/ml α -ZEA tespit edilirken, β -ZEA tespit edilmemiştir.
- 12 saat sonra yapılan analizlerde 6,9 μ g/ml ZEA, 6 μ g/ml α -ZEA ve 2,7 μ g/ml β -ZEA tespit edilmiştir.
- 24 saat sonra yapılan analizlerde 2,7 μ g/ml ZEA, 4 μ g/ml α -ZEA ve 2 μ g/ml β -ZEA tespit edilmiştir.

Geviş getiren hayvanlarda yapılan bir araştırmada ise safra içerisinde sırası ile % 68 β -ZEA, % 34 α -ZEA, % 8 ZEA tespit edilmiştir (Danicke ve ark. 2002). ZEA ve metabolitlerinin konsantrasyonları karaciğer ve safra içerisinde uygulanan doz ile orantılı olarak artış göstermektedir (Döll ve ark. 2003).

Her gün kilogram başına 0,1 mg ZEA içeren yem ile beslenen sığırların böbrek, karaciğer, mesane, iç yağları ve kas dokusunda yapılan analizlerde ne ZEA nede metabolitleri tespit edilememiştir (Danicke ve ark. 2002).

ZEA'un indirgenmiş formu olan zearalenol östrojen aktivite artırıcı özelliindedir. Sentetik olarak üretilmiş formu olan zeranol (Ralgro) koyunlarda ve büyükbaş hayvanlarda anabolik ajan olarak başarıyla pazarlanmıştır. 1989 yılında Avrupa Birliği ülkelerinde kullanımı ve satışı yasaklanmıştır (Hagler ve ark. 2001).

Ülkemizde de dişilik hormonu östrojen içeren Ralgro ithalatı, imalatı ve kullanılması 1992 yılında yasaklanmasına rağmen çok kolay bulunabilmektedir. Tabanca benzeri bir cihazla hayvanın kulak arkasına enjekte edilmesi sebebiyle besiciler arasında 'kulak arkası' olarak isimlendirilmiştir. Doğrudan beyni etkilediği için hayvan adeta bilinç kaybına uğramakta ve doyma hissini kaybetmektedir. Hormon vazifesi gören Ralgro isimli ilaç, büyükbaş hayvanlarda yaklaşık yüzde 15 ağırlık artışına sebep olmaktadır.

2.4. Zearalenon'un toksik etkileri

ZEA insan ve hayvan vücuduna alımını takiben, vücutta farklı fonksiyonel organlarda hasarlara sebep olmaktadır. ZEA'nın verdiği toksik etkiler ilk önce hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar sonucu ortaya çıkmıştır. ZEA'nın toksik etkileri aşağıda başlıklar altında ele alınmıştır.

2.4.1. Akut toksisitesi

Fareler, sıçanlar ve kobaylar üzerinde ağız yolu ile uygulama sonucunda elde edilen ZEA'un LD₅₀ değerleri >2000 ile >20000 mg/kg v.a. arasında değerler olarak ortaya koyulmuştur. Buna göre ZEA düşük akut toksik etkiye sahiptir (Flannigan 1991). Karın zarı içerisine i.p. (intra peritoneal) enjeksiyon yapıldığında daha toksik etki göstermiştir. Çizelge 2.4.'te ZEA'un çeşitli hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar neticesinde elde edilmiş akut toksisite (LD₅₀) değerleri verilmiştir (JECFA 2000).

Çizelge 2.4. Çeşitli hayvanlar üzerinde ZEA'un akut toksisite(LD₅₀) değerleri (JECFA 2000)

Hayvan türü	Cinsiyeti	Uygulama yöntemi	LD ₅₀ (mg/kg v.a.)	Kaynakça
Fare	Erkek/Dişi	Ağız	>2000	NTP (1982)
Fare	Dişi	Ağız	>20 000	Hidy ve ark. (1977)
Fare	Dişi	Karın zarı	>500	Hidy ve ark. (1977)
Sıçan	Erkek/Dişi	Ağız	>4000	NTP (1982)
Sıçan	Erkek/Dişi	Ağız	>10 000	Hidy ve ark. (1977)
Sıçan	Erkek	Karın zarı	5500	Hidy ve ark. (1977)
Kobay	Dişi	Ağız	>5000	Hidy ve ark. (1977)
Kobay	Dişi	Karın zarı	2500	Hidy ve ark. (1977)

2.4.2. Subakut ve subkronik toksisitesi

Çiftlik hayvanları üzerinde 90 gün süresince yapılan toksisite çalışmalarında hayvanlar üzerinde ZEA ve metabolitlerine bağlı değişiklikler ve östrojen reseptörler gözlenmiştir. Domuzlar ve koyunlar, kemirgenlere göre daha hassas oldukları yapılan çalışmalarda ortaya

koyulmuştur. Domuzlarda hiçbir yan etkinin gözlenmediği en yüksek düzey (NOEL; No Observed Effect Level) değeri 40 µg/kg v.a./gün iken kemirgenlerde bu değer 100 µg/kg v.a./gün olmuştur (JECFA 2000).

2.4.3. Kronik toksisitesi ve kanserojen etkisi

ZEA'un kanserojen etkisi ile ilgili elde edilen ilk veriye karaciğer kanseri etkisi göstermesi ve karaciğerde lezyon oluşumunu tetiklemesi olarak görüyoruz (NTP 1982). Bir araştırmada B6C3F1 fareleri çeşitli konsantrasyonlarda (0, 50 veya 100 mg/kg) ZEA içeren diyetler ile yaklaşık 2 yıl süresince beslenmişlerdir (erkek fareler için 0, 8 veya 17 mg/kg v.a./gün ; dişi fareler için 0, 9 veya 17 mg/kg v.a./gün eşdeğeridir). Sonuç olarak her iki grup farenin hiç birinde hayatta kalma oranları arasında belirgin bir farklılık veya vücut ağırlıklarında değişim gözlemlenmemiştir. Erkek farelerde uygulanan işlemle bağıntılı neoplastik lezyonlara rastlanmıştır. Dişi farelerde ise östrojen etkim ile bağıntılı olarak verilen doza göre değişken doku etkileri gözlemlenmiştir (rahimde fibrozis, süt erbezlerinde kanal kistleri). Ayrıca kemik iliğinde miyelofibrozis gözlemlenmiştir. Uygulanan dozlar sırası ile erkek farelerin % 8, % 6 ve % 14'ünde, dişi farelerin % 0, % 4 ve % 14'ünde hepatoselüler adenom (karaciğer adenomları) tespit edilmiştir. Özellikle dişi farelerdeki belirgin istatistiksel artış dikkat çekicidir. Benzer şekilde pituitar (hipofiz) adenomları oluşumu hem erkek farelerde (sırası ile % 0, % 9 ve % 14 oranında) hem de dişi farelerde (sırası ile % 7, % 5 ve % 31 oranlarında) yüksek doz uygulamasında dikkat çekici oranlara ulaşmıştır. Hipofiz kanseri ise gruplar içerisinde 1 erkek fare (düşük doz uygulanmışlardan) ile 2 dişi farede (yüksek doz uygulanmışlardan) tespit edilmiştir. Buna karşılık hipofiz kanseri oranları uygulama dozları ve cinsiyete göre belirgin farklılık göstermemiştir (NTP 1982).

Yapılan bir araştırmada Fischer 344/N kodlu sıçanları 0, 25 veya 50 mg/kg ZEA içeren diyet (0, 1 veya 2 mg/kg v.a./gün eşdeğeri) ile yine yaklaşık iki yıl boyunca beslemiştir. Uygulamaya tabi tutulan sıçanlar ortalama vücut ağırlık artışları kontrol sıçanlarına göre daha düşük olmuştur. Vücut ağırlık artışlarındaki bu düşüş (erkek sıçanlarda % 19, dişilerde % 11) 44 haftalık yüksek doz uygulanan grupta daha fazla gözlenmiş, bu sonuç ağırlık artışındaki bu oransal düşüşün doz ile ilişkili olduğunu ortaya çıkarmıştır. Gruplar arasında hayatta kalma oranları ile ilgili belirgin bir farklılık oluşmamıştır. Araştırmada deneklerde aynı zamanda neoplastik olmayan lezyonlar gözlemlenmiştir. Prostat bezlerinde iltihap, testislerde atrofi (görevini yerine getirememesi), meme kistleri veya kanal kistleri, özellikle erkek grup içerisinde gözlemlenmiştir. Ayrıca erkek deneklerde artan oranlarda hepatoselüler sitoplazmik

vakuolizasyon ile her iki cins deneklerde her iki doz uygulamasında da artan oranlarda kronik nefropati (böbrek hastalığı) tespit edilmiştir. Erkek deneklerde düşük ve yüksek doz uygulaması ile dişilerde düşük doz uygulamasında artan oranlarda retinopati (görme bozukluğuna neden olan retina hastalığı) gözlemlenmiştir (NTP 1982).

Wistar fareleri üzerinde yapılan bir araştırmada 104 gün süresince 0 – 0,1 – 1 veya 3 mg/kg v.a./gün oranlarında ZEA içeren diyet ile beslenmişlerdir. 3 mg/kg v.a./gün dozu uygulamasında erkek ve dişi deneklerde belirgin şekilde karaciğer ağırlık artışları gözlemlenmiştir. Dişi deneklerde de en yüksek iki doz uygulamasında rahim ağırlıklarında artış tespit edilmiştir. En yüksek doz uygulamasında her iki cins farelerde kalça kemiklerinde artan trebekülasyon tespit edilmiştir. Bunlara karşın biyolojik olarak belirgin değişimler ve uygulama ile ilişkili tümör oluşumu gözlemlenmemiştir (Becci ve ark. 1982a).

ZEA hematoksik olarak da etki göstermektedir. Maaroufi ve ark. (1996) yaptıkları araştırmada farelerin kan pıhtılaşması prosesinde ve bazı kan değerlerinde (hematokrit, MCV ve WBC) değişimler olmuştur. Bununla beraber bazı biyokimyasal enzimlerde ör; amino transferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT), alkalın fosfataz (ALP), serum kreatin, bilirubin, *in vivo* (canlı içinde) çalışmalarda karaciğerin etkilendiğini ortaya koyan değişimler olduğu belirtilmiştir.

ZEA hepatotoksik aynı zamanda etki göstermektedir. ConKova ve ark. (2001) seçilen kan serum enzimlerinin (AST, ALT, ALP, gamma glutamil transferaz GGT) ve toplam laktat dehidrogenaz (LD)) aktivitelerindeki değişimi üzerine ZEA'un etkisini araştırmak için iki farklı düzeyde; düşük 10 µg/kg v.a./gün ve yüksek 100 µg/kg v.a./gün ZEA'u tavşanlara uygulamışlardır. Düşük düzey uygulamasında serumda bulunan ALP aktivitesinde 168 ve 336 saat sonra belirgin bir artış olduğunu tespit etmişlerdir. Yüksek doz uygulanan diğer grupta ise yine 168 ve 336 saat sonra belirgin şekilde AST, ALT, ALP, GGT ve LD artışı tespit etmişler, bunun sebebinin büyük ihtimalle ZEA toksininin kronik etkisi sonucu olarak ortaya çıkan karaciğer zehirlenmesi olduğunu belirtmişlerdir.

Çeşitli hayvan türleri üzerinde ZEA'nın toksik etkileri birçok araştırmacı tarafından irdelenmiş, elde edilen bulgular Zinedine ve ark. (2007) tarafından derlenmiştir (Çizelge 2.5).

Çizelge 2.5. Zearalenon'un bazı hayvanlardaki olumsuz etkileri (Zinedine ve ark. 2007)

Hayvan türü	Uygulama şekli ve Dozu (ZEA)	Süre	Etkiler	Kaynakça
Fare	Sonda ile 20 mg ZEA/kg v.a.	9 gün	Sakatlık görülmemiş, geç yavru ölümü oranı artışı olmuştur.	Arora ve ark. (1983)
Wistar fareleri	Diyet ile 0,1, 1, 10 mg ZEA/kg v.a.	10 ay	Anne tarafından zehirlenme, doğurganlıkta azalış, iliklerde trabekülasyon.	Becci ve ark. (1982a,b)
Kobay	Diyet ile 7, 14, 21 mg ZEA/kg v.a.	8 gün	Gebelik oranında düşme, progesteron düzeyinde değişimler.	Long ve Diekman (1989)
Tavuk	Diyet ile 0,7 ila 59 mg ZEA/kg v.a.	56 gün	Yumurta üretimine hiçbir etki olmamıştır.	Allen ve ark. (1981)
Hindi	Diyet ile 4 mg ZEA/kg v.a.	56 gün	Yumurta üretiminde %20 azalma olmuştur.	Allen ve ark. (1983)
Dişi domuz	Doğal kontamine veya saf ZEA ilavesi	-	Vulvovaginitis, anöstrus ve LH ile progesteron salgılanmasında azalış.	Etienne ve Dourmad (1994)
Dişi ve yavru domuzlar	<i>Fusarium</i> kontamine yem	-	Gebe kalma oranında, yavru büyüklüğünde azalma ile rahim ve ovaryumlarda büyüme.	Vanyi ve ark. (1994)
Yavru domuz	Doğal kontamine yem	-	Vulvada kızarma ve şişme, genital lezyon oluşumu.	Decasto ve ark. (1995)
Erkek domuz	Doğal kontamine veya saf ZEA ilavesi	-	Serum testosteronunda baskılanma, dişileşme ve libido kaybı.	Diekman ve Gren (1992)
İnek	250 mg %99 saflıkta ZEA	1 gün	Yavru atma ve süt üretiminde azalış.	Weaver ve ark. (1986)
Sığırlar	Diyet ile 20 mg ZEA/kg yem	72 gün	Germinal epitelyum dokuda bozulma ve spermelerde %75 kayıp.	Vanyi ve ark. (1980)
Vizon	20 mg ZEA/kg	-	Rahim iç zarı kalınlaşması, fallopta atrofi.	Yamini ve ark. (1997)
Vizon	Diyet ile 20 ppm ZEA	30 gün	Gebelik süresinde uzama, fallopta atrofi.	Yang ve ark. (1995)
Tavşan	Diyet ile 1 ve 4 ppm ZEA	18 gün	Karaciğer, böbrek, akciğer, kalp, adrenal bezler, dalak ve rahim dokularında değişim.	Abdelhamid ve ark. (1992)
Siçanlar	Periton enjeksiyonu ile 1,5, 3 ve 5 mg/kg ZEA	48 saat	Karaciğer toksisitesine neden olan bazı kan ve biyokimyasal değerlerde değişim.	Maaroufi ve ark. (1996)
Siçanlar	Saf ZEA	-	Sperm sayılarında ve testosteron seviyesinde düşme.	Kaliamurthy ve ark. (1997)
Fareler	5-30µg saf ZEA/hayvan	1-10 gün	Taklit östrojen etkiler, geç vajinal açılma, sürekli kızgınlık ve kısırılık.	Ito ve Ohtsubo (1994)
Fareler	Oral veya i.p. ile 2 mg/kg	Tek doz	Genotoksisite, hepatoselüler adenomları teşvik.	Pfohl-Leszkowicz ve ark. (1995)
Domuz	Diyet ile 180 µg ZEA/kg	3 batın süresin ce	İlk batından itibaren yavrularda hiperöstrojen etki, kızgınlık düzeyinde artış ve düşük.	Jadamus ve Schneider (2002)
Domuz	0,2 ve 0,4 ZEA mg/kg v.a./gün	7 gün	Falloplarda atrezi, rahimde ve yumurta kanalında çok hızlı hücre çoğalması.	Obremski ve ark.(2003)
Domuz	0,35 ZEA mg/kg v.a./gün inorganik absorban varlığında ve yokluğunda	35 gün	Absorban yokluğunda rahim ağırlığında değişim olmamıştır. Absorban varlığında rahimde ağırlık artışı olmuştur.	Döll ve ark. (2003)
Dişi domuz	200 µg ZEA/kg v.a.	8 gün	Ovaryum fallopları oluşumunda bozukluklar.	Zwierzchowski ve ark. (2005)

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ZEA'un östrojen reseptörleri içeren göğüs kanseri hücrelerinin oluşumunda etkili olduğu belirtilmiştir (Ahamed ve ark. 2001). ZEA'un dünya genelinde gıda maddelerinde yüksek oranlarda bulunması göğüs kanseri vakalarının artışı ile ilişkilendirilirse, bu vakaların artışının bir etkisinin de ZEA'un gıda maddelerindeki yüksek düzeylerde varlığıdır hipotezini desteklemektedir (Yu ve ark. 2005).

2.4.4. Genotoksisitesi

ZEA laboratuvar ortamında (*in vitro*) sığır lenfositleri üzerinde DNA-katımlarına (kansere neden olan bileşiğin kovalent olarak DNA'ya bağlanması ile oluşan yapı) sebep olduğu gözlemlenmiştir (Lioi ve ark. 2004). ZEA verilen maymunların böbrek hücrelerine ve farelerin kemik iliğinde DNA parçalanması tespit edilmiştir (Ouanes ve ark. 2003).

Creppy (2002)'nin yaptığı çalışmaya göre (Ames test kullanmıştır) ZEA, *S. typhimurium* üzerinde mutasyona sebep olmamıştır. Aynı şekilde *Saccharomyces cerevisiae* mitoz bölünme sırasında somatik hücre çeşitlerinde nadir olarak görülen DNA parça değişimine (mitotik kros-over) sebep olmamıştır. Buna karşın ZEA, Çin hamsterları yumurtalık hücrelerinde, laboratuvar ortamında ekzojen metabolik aktivitelerin yokluğunda, kopya kromatid değişimleri, kromozomsal kusurlara ve poliploidliğe (ikiden fazla kromozom kopyasının aynı hücrede bulunması) sebep olmuştur.

Son yıllarda yapılan bir araştırmada ZEA ile muameleye tabi tutulmuş mitokondri ve lizozomlarda ZEA'un lipid peroksidasyonuna, hücre ölümlerine sebep olduğu, protein ve DNA sentezini inhibe ettiği tespit edilmiştir (Kouadio ve ark. 2005).

2.4.5. Üreme sistemi ve Gelişim üzerine etkileri

Gebelik döneminde, ZEA vücut eşik değeri üzerinde alınırsa embriyonun hayatta kalma şansını azaltmakla beraber kimi zaman fetüs ağırlığının azalmasına neden olur (D'Mello ve ark. 1999). ZEA, LH ve progesteron salgısını miktarını düşürür ve rahim dokusunun morfolojik yapısında değişikliklere sebep olur (Etienne ve Dourmad 1994).

Erkek domuzlarda ZEA serum testosteron seviyesinde, testis ağırlığında ve sperm üretiminin azalmasına sebep olur ve hayvan üzerinde dişilik özelliklerini tetikler. İneklerde, yavru atma, süt veriminde düşme ve hiperöstrojenizme sebep olur. ZEA laboratuvar deney hayvanlarında (fare, kobay, hamster ve tavşan) üreme sistemlerinde değişimlere sebep olmuştur.

Doğurganlık ile batin büyüklüğünde azalma, adrenal tiroit ve hipofiz bezlerinde ağırlık azalmasına ve progesteron ile östradiolün serum düzeylerinde değişimler gibi östrojen etkiler gözlemlenmesine karşın, henüz hiçbir teratojenik etki tespit edilmemiştir (Kuiper-Goodman ve ark. 1987). Domuzlar ve koyunlar kemirgenlere göre daha hassastırlar.

2.4.6. Zearalenon'un bağışıklık sistemine etkisi

ZEA'un bağışıklık sistemi üzerine olumsuz etkileri olmaktadır. Forsell ve ark. (1986) yaptıkları araştırmada dişi B6C3F1 farelerini 10 mg/kg ZEA (1,5 mg/kg v.a./gün) içeren diyet ile 6 hafta süresince beslenmişler ve IgG, IgM, IgA konsantrasyonları ile akkan hücre sayısında kontrol grubuna göre farklılık gözlemlenmemişlerdir.

Fareler (Marin ve ark. 1996) ve insanlar (Berek ve ark. 2001) üzerinde yapılan araştırmalarda immünolojik parametrelerin birçoğunda *in vitro* sistemlerde ZEA konsantrasyonu ile bağıntılı olarak bozulma olduğu tespit edilmiştir.

2.5. Zearalenon'un detoksifikasyonu ve biyolojik yıkım yöntemleri

Gıda güvenliği sağlamak, ekonomik kayıpları önlemek, bulaşık ürünleri kullanılabilir duruma getirmek amacıyla kimyasal, fiziksel veya biyolojik metotlar ile ZEA'un toksik etkilerini ortadan kaldırmak veya azaltmak amacıyla geliştirilmiş yöntemlere detoksifikasyon veya biyolojik yıkımı denir.

Ortak sentezlenen mikotoksinlerin yüksek konsantrasyonda ozon (O₃) uygulaması ile indirgenmesi ve detoksifikasyonu McKenzie ve ark. (1997) tarafından araştırılmıştır. Yaptıkları çalışmalar neticesinde 15 saniyelik uygulama ile ZEA konsantrasyonunun HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografi) ile teşhis edilebilir limitin altına indiğini bildirmişlerdir. Buna ek olarak bileşiklerin toksisitelerinin 15 sn O₃ uygulaması ile belirgin bir şekilde düştüğü hassas-mikotoksin biyoassay ile belirlenmiştir.

Abd Alla (1997) H₂O₂ (hidrojen peroksit)'in ZEA'un yıkımı üzerinde etkisini değişik konsantrasyonlarda (% 3, % 5 ve % 10) test etmiştir. Buna göre ZEA yıkımı yüzdeleri, H₂O₂ konsantrasyonu, sıcaklık ve uygulama süresine bağlıdır. Öyle ki en yüksek yıkım % 83,9 ile 80°C'de % 10 H₂O₂'in 16 saatlik uygulamasında elde edilmiştir. Takiben % 75 oranında ZEA yıkımı ile aynı şartlarda 8 saatlik uygulamada gözlenmiştir (Abd Alla 1997).

ZEA'un toksin tutucular, detoksifikasyon ve biyolojik yıkımları ile ilgili yapılmış çalışmaların özeti Çizelge 2.6.'da verilmiştir.

Çizelge 2.6. ZEA detoksifikasyonu, indirgenmesi ve biyolojik yıkımı ile ilgili çalışmalar (Zinedine ve ark. 2007)

Uygulanan işlem	Sonuç	Kaynakça
<u>Biyolojik işlemler</u>		
<i>S. cerevisiae</i> 1026 hücre çeperinden tüvelendirilmiş mannan-oligosakkaritler.	ZEA'a %80 oranında bağlanmışlardır.	Devegowda ve ark. (1996)
Karışık bakteri kültürü	ZEA tamamen yıkılmıştır. ZEA ve metabolitleri uygulama sonrasında tespit edilememiştir.	Megharaj ve ark. (1997)
Ruminant protozoası	ZEA'un %90-100'ü α -ZEA ve daha az etkili olan β -ZEA'a dönüşmüştür.	Kiessling ve ark. (1984)
<i>Clonostachys rosea</i> IFO 7063'ten elde edilmiş laktanohirolaz.	ZEA düşük toksik etkili bileşiklere dönüşmüştür.	Takahashi-Ando ve ark. (2002)
<i>L. rhamnosus</i> GG ve <i>L. rhamnosus</i> LC705	ZEA tutucu(bağlayıcı)	El-Nezami ve ark. (2002)
Laktik asit bakterileri	Mısırdaki 4 günlük fermantasyon ile ZEA miktarında %68-75 oranında azalma	Mokoena ve ark. (2005)
<i>Trichosporon mycotoxinivorans</i>	ZEA toksik olmayan bileşiklere indirgenmiştir.	Molnar ve ark. (2004)
<i>Gliocladium roseum</i>	ZEA, kendisinden daha az toksik etkisi olan iki izomere %80-90 oranında metabolize olmuştur.	El-Sharkawy ve Abul-Hajj (1988)
<u>Fiziksel işlemler</u>		
Montmorillonit	108 mg/g ZEA absorpsiyonu	Lemke ve ark. (1998)
Montmorillonit	0,19 mg/g ZEA absorpsiyonu	Ramos ve ark. (1996)
Bentonit	0,11 mg/g ZEA absorpsiyonu	Ramos ve ark. (1996)
Sepiolit	0,07 mg/g ZEA absorpsiyonu	Ramos ve ark. (1996)
Mg trisilikat	0,02 mg/g ZEA absorpsiyonu	Ramos ve ark. (1996)
Kolestiramin	>0,3 mg/g ZEA absorpsiyonu	Ramos ve ark. (1996)
Krospovidon	0,3 mg/g ZEA absorpsiyonu	Ramos ve ark. (1996)
Polivinilprolidon(PVP)	0,5-2,1mg/g ZEA absorpsiyonu	Alegakis ve ark. (1999)
Aktif karbon	ZEA'un %100'ü tutulmuştur (pH 3 ve pH 7,3).	Bueno ve ark. (2005)
Ekstrüzyon pişirme	ZEA düzeyi %83 oranında azalmıştır.	Ryu ve ark. (1999)
<u>Kimyasal işlemler</u>		
Ozon (O ₃)	ZEA'un tamamı indirgenmiştir.	McKenzie ve ark. (1997)
80°C'de 16 saat H ₂ O ₂ (%10)	ZEA'un %83,9'u indirgenmiştir.	Abd Alla (1997)

Ekstrüzyon pişirme tekniğinin tahıllardan özellikle kahvaltılık gevrekler, atıştırmalıklar ve evcil hayvan yemleri üretiminde kullanımının yaygınlaşması olası mikotoksinlerin seviyelerinin düşmesinde etkili olmakta ve geleneksel üretim tekniklerine göre olan birçok avantajının yanı sıra gıda güvenliğine de katkı sağlamaktadır (Çetin ve Bullerman 2005b).

Tahıl bazlı gıdalarda ekstrüder pişirme ile içerdikleri ZEA miktarlarında % 83'e varan düşüşler tespit edilmiştir (Ryu ve ark. 1999).

ZEA toksisitesini azaltmak için en çok kullanılan yöntemlerden birisi de gıda maddelerine sindirimde başka maddeler ile tepkimeye girmeyen (inert) katkıları katılmasıdır. Bu katkıları ZEA'ı absorbe ederek emilmesini engellemekte ve boşaltım yolları ile atılmasına olanak sağlamaktadır. Bu konuda yapılan araştırmalar alüminyum silikatlarına (HSCAS) ve alüminyum silikat içeren killer üzerinde odaklanmıştır. HSCAS'in ZEA absorpsiyonu test edilmiş, 108 mg/g toksin tutma kapasitesinin yanı sıra montmorillonite (bir çeşit kil) kimyasal olarak dönüştüğü tespit edilmiştir (Lemke ve ark. 1998). Bu kil setilpiridinyum veya hegzadesiltrimetilamonyum ile türevlendirilmiş ve kil yüzeyinde artan hidrofobiye neden olur. Bu yapı hidrofobik özellikte olan ZEA'a yüksek bir afinite ile bağlanma isteği sergiler (Huwig ve ark. 2001). Kolestiramin, bir asit-bağlayan safra reçinesi, mikotoksinlere karşı koruyucu ajan olarak test edilmiş ve doğrulanmıştır. ZEA detoksifikasyonu için aktif karbon ve kolestiraminin en iyi maddeler olduğu, hatta yem katkı maddesi olarak hiperöstrojenizmi önleyici olarak kullanılabilceği belirtilmiştir (Avantaggiato ve ark. 2004). Buna karşın bu maddeler çok pahalı olduklarından ötürü getirilerine karşı ekonomik olmamaktadır.

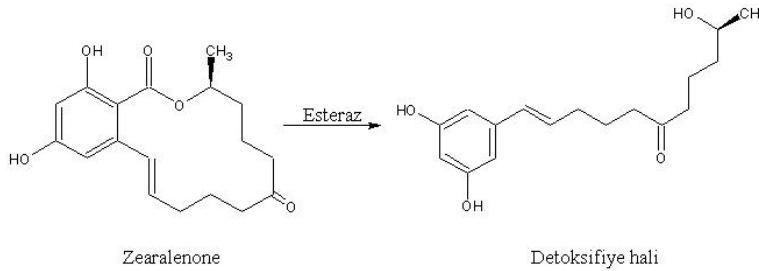
Çiftlik hayvanlarına mikotoksinlerin etkilerini azaltmak için mikroorganizma kullanımı giderek artmaktadır. Mayaların mikotoksinler ile etkileşimi konusunda elde edilen bilgiler son 30 yıla aittir. 80'li yılların başlarında ZEA ile bulaşık mısırlardan fermentasyon ile etanol üretimi sırasında toksinin değişmiş olarak biyokütle içerisinde bulunduğu tespit edilmiştir (Bennett ve ark 1981). Hücre duvarı (çeperi) maddesi ile laboratuvar koşullarında yapılan çalışmada, *Saccharomyces cerevisiae* 1026 tarafından türevlenmiş manan-oligosakkaritlerin yüksek oranda ZEA bağlayıcı özellikte olduğu, % 80 oranında ZEA'ı tuttuğu tespit edilmiştir (Devegowda ve ark. 1996).

En kayda değer detoksifikasyon değerleri bir mikoparazit olan *Gliocladium roseum* NRRL 1859 tarafından ZEA'un lakton bağına parçalaması olarak ortaya çıkmaktadır. El-Sharkawy ve Abul-Hajj (1988) 150 küf türünde ön araştırmalı olarak yaptıkları çalışmada *Gliocladium roseum* NRRL 1859 ZEA'ı % 80-90 verimle metabolize ettiğini ortaya koymuşlardır. Oluşan ürün iki hirosiketone izomeridir ve ZEA'dan daha az östrojen etkilidir. Tepkime geri dönüşümsüz bir tepkimedir.

Takahashi-Ando ve ark. (2002) *Clonostachys rosea* küfünün sentezlediği bir laktohidrolaz enziminin ZEA'ı daha az östrojen etkili bileşiklere dönüştürdüğünü tespit etmişlerdir. Son yıllarda yapılan araştırmada ZEA birkaç *Rhizopus* izolatı (*R. stolonifer*, *R. oryzae* ve *R. microsporus* suşları) tamamen indirgendiği ortaya koyulmuştur (Varga ve ark. 2005). Fakat bu izolatlardaki ZEA-indirgen enzimler üzerine daha çok çalışma yapılması gerekmektedir.

Son yıllarda Mokoena ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada laktik asit bakterilerinin fermentasyon ile ZEA konsantrasyonlarında belirgin şekilde düşme sağladığını ortaya koymuşlardır. Öyle ki mısır ürünlerinde 40 günlük fermentasyon sonucunda ZEA konsantrasyonu % 68-75 oranında azalmıştır.

Molnar ve ark. (2004) α - ve β -ZEA metabolitlerinin hiç oluşmadan ZEA'ı karbondioksit ve toksik olmayan metabolitlere indirgeyen *Trichosporan mycotoxinivorans* adında yeni bir maya izolatı tanımlamışlardır (Şekil 2.1). Araştırmacılar bu yeni suşun hayvan yemlerinde doğal bulunan mikotoksinlerin detoksifikasyonunda kullanılabileceğini belirtmişlerdir.



Şekil 2.1. *T. mycotoxinivorans*'ın sentezlediği enzimler ile ZEA'un toksik olmayan metabolite biyotransformasyonu (http://www.mycotoxins.info/myco_info/science_cs.html)

2.6. Zearalenon için tanımlanmış en yüksek limit değerler

Van Egmond (1993)'a göre kesin mikotoksin limit düzeylerinin belirlenmesinde çeşitli faktörler etkili olmaktadır. Bunlar, mikotoksinler hakkında toksikolojik data varlığı, besinlerdeki yaygınlığı, hammaddelerde ki dağılımları ile gıda maddesinin dünya genelindeki ticareti sırasında ticaretin uygulandığı ülkelerin yasal yönetmelikleri ve analiz metotlarının varlığı ve yeterliliği olarak sıralanabilir. FAO (2004)'e göre, 1996 yılında ZEA ile ilgili limit değerler ve düzenlemeler 6 ülkede tanımlanmış iken, 2003 yılında bu sayı 16'ya çıkmıştır. Mısır ve ürünleri ile diğer tahıllarda ZEA limit değerleri 50 ila 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb) arasında değişmektedir. Ülkemizde ZEA ile ilgili limit değer tanımlaması Avrupa Birliği uyum programı çerçevesinde 2008 yılında Tebliğ 2008/26 "Gıda Maddelerindeki Bulaşanların

Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ” adı altında ekler başlığında Çizelge 2.7.’de belirtildiği şekilde tanımlanmıştır.

Çizelge 2.7. TGK Tebliğ 2008/26’ya göre Zearalenon maksimum limit değerleri

<u>Gıda Maddesi</u>	<u>Maksimum limit (µg/kg)</u>
2.5. ZEARALENON	
2.5.1. İşlenmemiş tahıllar (mısır hariç)	100
2.5.2. İşlenmemiş mısır (ıslak öğütülecekler hariç) ⁽¹³⁾	350
2.5.3. Doğrudan tüketime sunulan tahıllar, doğrudan insan tüketimine sunulan tahıl unları, kepek (son ürün olarak) ve embriyo	75
2.5.4. Rafine mısır yağı	400
2.5.5. Ekmek (hafif fırıncılık ürünleri dâhil), pastacılık ürünleri, bisküvi, tahıl çerezleri, kahvaltılık tahıllar (mısır çerezleri ve mısır bazlı kahvaltılık tahıllar hariç)	50
2.5.6. Doğrudan insan tüketimine sunulan mısır, mısır çerezleri ve mısır bazlı kahvaltılık tahıllar	100
2.5.7. Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ⁽³⁾	20
2.4.8. 500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısırın kabaca öğütülmesinden elde edilen küçük parçalar ve mısır irmiği (GTİP 1103 13) veya mısırdan elde edilen peletler (GTİP 1103 20 40) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri (GTİP 1904 10 10)	200
2.4.9 500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır unu (GTİP 1102 20) ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri (GTİP 1904 10 10)	300

⁽³⁾ “TGK – Bebek ve Küçük Çocuk Ek Gıdaları Tebliği”nde tanımlanan gıdaları kapsar. Maksimum miktar kuru madde üzerinden geçerlidir.

⁽¹³⁾ İstisnalar sadece kullanım amacı belirtilen mısırlar için kullanılır. Örneğin; etiketinde veya herhangi bir belgesinde, “nişasta üretimi için” gibi kullanım amacı belirtilenler vb.

Dünya genelinde FAO'nun 2004 yılında hazırladığı listeye göre zearalenon ile ilgili limit değer tanımlaması yapılmış ülkelerdeki limit değerler Çizelge 2.8.'de verilmiştir.

Çizelge 2.8. Çeşitli ülkelerde gıda ve yemlerde maksimum ZEA limit değerleri(FAO 2004)

Ülke	Maksimum limit değerleri (µg/kg)	Ürün grubu
Avusturya	60	Buğday, çavdar, durum buğdayı
	50	Domuz besleme yemleri
Beyaz Rusya	1000	Arpa, buğday, mısır
Bulgaristan	200	Direkt insan tüketimine veya gıda katkısı olarak kullanılan tahıllar ve işlenmiş tahıl ürünleri
Endonezya	Bulunmamalı	Mısır
Fas	200	Tahıllar, bitkisel yağlar
Fransa	50	Tahıllar ve tahıl ürünleri
	200	Bitkisel yağlar
Güney Kıbrıs	2000	Yem maddeleri
	1500	Yavru domuz besiciliğinde tam besi yemleri
	3000	Domuz besiciliğinde tam besi yemleri
İran	400	Arpa
	200	Mısır, buğday, pirinç
İtalya	20	Bebek mamaları
	100	Tahıllar ve tahıl ürünleri
Japonya	1000	Karma yemler
Kanada	3000	Domuz yemleri
Kolombiya	1000	Sorgum
Letonya	1000	Ekmek ve tahıllar
Litvanya	300	Yavru domuz besiciliğinde tam besi yemleri
	100	Domuz besiciliğinde tam besi yemleri
Macaristan	100	Tahıl bazlı müsli ve değirmencilik ürünleri
Moldova	1000	Buğday, buğday unu, arpa, arpa unu, mısır ve mısır unu
Romanya	20	Yem maddeleri
Rusya	1000	Buğday, arpa, mısır
Slovenya	1000	Domuz besiciliğinde tam besi yemleri
Şili	200	Tüm gıda maddeleri
Uruguay	200	Mısır ve arpa

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada, İstanbul'da tesadüfî örnekleme yöntemine göre seçilmiş 20 adet bebek maması, 20 adet mısırozü yağ, 40 adet mısır içerikli işlenmiş ürün (10 adet mısır cipsi, 10 adet mısır unu, 10 adet kahvaltılık mısır gevreği ve 10 adet mısır çerezi) ve 20 adet mısır içerikli hayvan yemi materyal olarak kullanılmıştır.

Araştırmada genel labroatuvar alet ve malzemeslerinin yanı sıra ekstraksiyon için çalkalayıcı ve blenderler ile ekstraksiyon sonrasında aranan maddenin tutundurulma aşamasında (immunoaffinite clean up) R-Biopharm Easi-Extract® Zearalenone kolonları kullanılmıştır. Tanımlama ve miktarlama için aşağıda verilen kromatografik şartlarda yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı (HPLC, Agilent 1100 serisi) kullanılmıştır.

HPLC kromatografik şartları;

- Pompa: 1 ml/ dakika akış hızında
- Otomatik enjeksiyon sistemi: 100 µl enjeksiyon
- Analitik kolon: Waters Spherisorb C₁₈ ters fazlı 5µm ODS-2 4,6 mm x 25 cm
- Detektör: Flüoresans detektör, eksitasyon (uyarım) dalga boyu 232 nm, emisyon dalga boyu 440 nm
- Kolon fırını: 40 °C

Analizler için zearalenon standardı asetonitril içerisinde (Biopure), asetonitril (CH₃CN) % 99,9 LC kalite, metanol (CH₃OH) % 99,9 LC kalite, Tuz (NaCl) % 99,5, Tween 20 kimyasalları kullanılmıştır.

Analiz için kullanılacak çözeltiler aşağıda hazırlanışları ile birlikte verilmiştir.

- Ekstraksiyon solventi: 80/20 (v/v) metanol /ultra saf su
- HPLC mobil faz: 50/50 (v/v) ultra saf su/asetonitril
- Standart seyreltme çözeltisi: 70/30 (v/v) ultra saf su/asetonitril
- Zearalenon standart çözeltisi; Ana stok çözeltiden, konsantrasyonu 5 µg/ml olacak şekilde 2. Düzey stok standart çözeltisi asetonitril ile seyreltilerek hazırlanır. Eğer ana stok standart asetonitrilde çözünmemiş ve kristal halde ise; zearalenon standardının tamamı HPLC saflıkta metanol yardımı ile 100 ml'lik balon içerisine alınır. Sıkıca

kapatılıp çalkalayıcıda birkaç dakika çalkalanır. Bir miktar alınarak spektrofotometrede 274 nm dalga boyunda maksimum absorbands ölçümü yapılarak konsantrasyonu aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

Gerçek Konsantrasyonun Hesaplanması:

$$C (\mu\text{g/ml}) = (A \times MW \times 1000 / \epsilon_{\text{zea}}) \times CF$$

C = Zearalenon standardının gerçek konsantrasyonu

A = Maksimum absorbands (~ 274 nm)

MW = Moleküler ağırlığı (ZON=318)

ϵ_{zea} = Molar absorbtivite (13900)

CF = Doğrulama Faktörü (Correction Factor)

Burada kullanılan CF değeri absorbands ölçümlerinin yapıldığı spektrofotometrenin kalibrasyonu ile elde edilmiş CF değeridir.

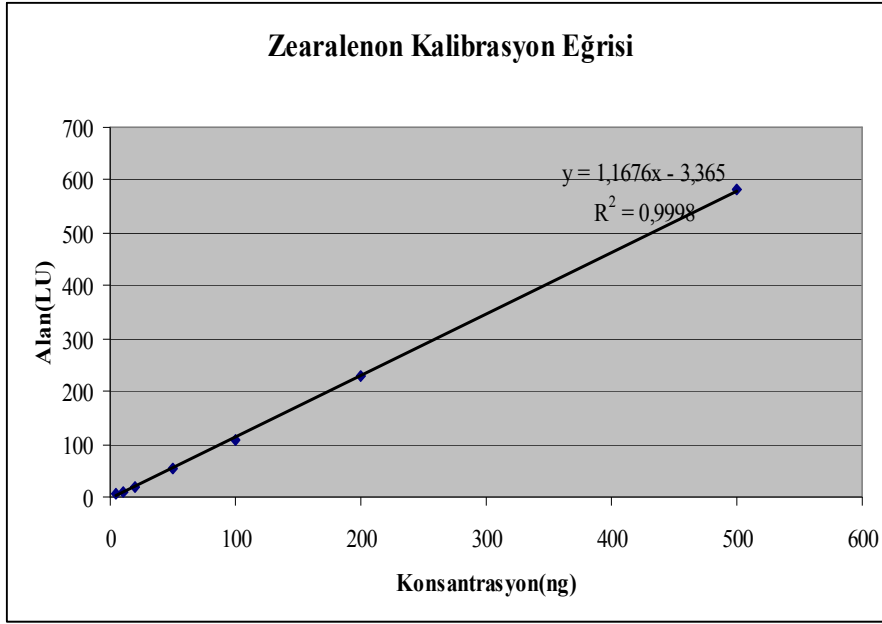
- Zearalenon kalibrasyon standartlarının hazırlanması;

2. Düzey stok standarttan (5 $\mu\text{g/ml}$) viallere Çizelge 3.1.'de verilen miktarlarda koyulmuştur. Azot gazı altında tam kuruluğa kadar oda sıcaklığında uçurulmuştur. Kurumuş kalıntı 2 ml standart seyreltme çözeltisi ile çözülmüştür.

Çizelge 3.1. Zearalenon HPLC kalibrasyon standartlarının hazırlanması

Standart düzeyi	2.Düzyden Alınacak Hacim (μl)	İlave Edilecek Standart seyreltme çözeltisi (μl)	ZEA konsantrasyonu ($\mu\text{g/ml}$)	Analitik kolondan geçen standart ZEA miktarı (ng)
1	20	2000	0,05	5
2	40	2000	0,1	10
3	80	2000	0,2	20
4	200	2000	0,5	50
5	400	2000	1,00	100
6	800	2000	2,00	200
7	2000	2000	5,00	500

Çizelge 3.1.'e göre hazırlanan yedi standarttan, düzey 1,2,3 beşer defa, düzey 4,5,6,7 ise dörder defa HPLC'de okutulmuştur. Okuma sonuçlarına göre elde edilen sinyal alanlarına karşılık gelen ng madde miktarına bağlı kalibrasyon eğrisi cihazda çizilmiştir. Kalibrasyon doğruluk değeri (korelasyon katsayısı) 0,9998 olduğu görülmüş ve 0,999'dan büyük olduğu için kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir. Çizilen kalibrasyon eğrisi her ölçümden önce farklı noktasal kontroller yapılmak suretiyle kontrol edilmiştir. HLPC'de çizilen kalibrasyon eğrisi ve ilgili bilgileri Şekil 3.1'de verilmiştir.



Doğrusallık
denklemleri:

$$y=mx+ b$$

$$m = 1,1676$$

$$b = -3,365$$

RSD:

2,98124

Korelasyon katsayısı:

0,9998

Şekil 3.1. Zearalenon kalibrasyon eğrisi

3.2. Yöntem

Laboratuara getirilen tüm örnekler toz haline gelinceye kadar öğütülmüş, paçal usulü bölünerek homojen edilmiş ve ekstraksiyon işlemine hazır hale getirilmiştir. Zearalenon analizleri Fazekas ve Tar (2001)'in analiz metoduna göre HPLC ile yapılmıştır. Lakin bahsedilen metot incelendiğinde ve uygulanmaya çalışıldığında HPLC ile tespit edilebilen en düşük ZEA miktarı yasal limitler ile uyumlu olmamakta ve arzu edilen değerlere inilememektedir. Bu sebep ile aşağıda belirtilen modifikasyonlar yapılmıştır.

Fazekas ve Tar (2001)'in uyguladıkları metotta 20 gram numune alınıp 2 gram tuz ilave edilerek 50 ml ekstraksiyon çözeltisi ile 1 saat çalkalama yapılmakta, takiben filtrasyon uygulanmakta ve filtrattan 10 ml alınarak 30 ml su ile seyreltilmekte ve tekrar filtre edilmektedir. Daha sonra elde edilen ikinci filtrattan 10 ml (0,8 gram numune temsili olmaktadır) alınır ve immuno affinite kolondan geçirilir. Kolonda tutunan ZEA 1,5 ml metanol ile elue edilir ve tam kuruluğa kadar azot gazı akışı altında uçurulur. Kurumuş kalıntı 200 µl enjeksiyon çözeltisinde çözündürülerek 20 µl HPLC'ye enjekte edilir. Bu sistem sonucunda HPLC analitik kolonundan geçen temsili numune miktarı 0,08 gram olmakta 1 gramda ng madde miktarının ifadesi olan ppb olarak sonuç alınabilmesi için 12,5 çarpan faktörü kullanılmaktadır. Benzer şekilde hazırlanan kalibrasyon tablosunda Fazekas ve Tar

(2001) beş noktalı eğri (0,025 - 0,25 - 0,50 - 1,00 - 1,25 µg/ml) oluşturmuşlar, bu eğrinin aralığı hasaplanırsa örneklerde gözlemlenebilir değer aralığının 62,5 – 3125 µg/kg (ppb) olduğu görülmüştür. Özellikle bebek maması örneklerinde yasal limit değerinin 20 µg/kg olduğu düşünülürse yapılan analizlerin bir anlamı olmamaktadır. Benzer şekilde Fazekas ve Tar (2001)'in metotlarında son aşamada kurumuş kalıntının çözündürüldüğü 200 µl sıvı miktarı analizlerin yapılacağı laboratuvar şartlarında uygulaması zor bir miktar olduğu gözlemlenmiştir.

Bu durumlar göz önüne alınarak aşağıda belirtilen modifikasyonlar yapılmıştır;

- Analize alınan numune miktarı artırılarak 50 gram yapılmıştır.
- Kullanılan ekstraksiyon çözeltisi artırılarak 100 ml yapılmıştır.
- İlk süzütüden alınan miktar 25 ml'ye ve seyreltmede kullanılan su miktarı 75 ml'ye artırılmıştır.
- İmmuno affinite kolondan geçirilen ikinci süzütü miktarı 10 ml'den 50 ml'ye çıkarılmıştır.
- Kurumuş kalıntının çözündürüldüğü enjeksiyon çözeltisi miktarı 1 ml olarak uygulanmıştır.
- Kalibrasyon eğrisinde kullanılan nokta sayısı artırılmış ve 7 noktalı (0,05 - 0,10 - 0,20 - 0,50 - 1,00 - 2,00 - 5,00 µg/ml) olarak uygulanmıştır.

Bu modifikasyonların neticesinde HPLC analitik kolonundan geçen temsili örnek miktarı 0,625 grama yükseltilmiş, dolayısı ile 1 gramda ng madde miktarının ifadesi olan ppb olarak sonuç alınabilmesi için gerekli çarpan faktörü 12,5 tan 1,6 ya düşürülmüştür. Bu bağlamda kalibrasyon eğrisinden elde edilebilen örneklerde gözlemlenebilir değer aralığı 8 – 800 µg/kg (ppb) düşmüştür. Teşhis limiti çalışmaları yapılmış ve en düşük sinyal/gürültü oranını sağlayan sinyalin karşılığı olan teşhis limiti değeri 2 ppb (µg/kg) olarak bulunmuştur.

Fazekas ve Tar (2001)'in uyguladıkları metot katı örnekler ile denenmiş fakat bizim örneklerimiz içerisinde yer alan mısırozü yağı gibi sıvı numunler için uygulanmamıştır. Bu nedenle metot içerisinde yapılan değişikliklere ilaveten sıvı numuneler için aynı birimlerde ve oranlarda ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Bu işlem için ayırma hunisi kullanılmıştır. Süzütüden alınan miktar ile ayırma hunisinde ayırım sonrasında ekstraksiyon çözeltisi

kısından alınan miktarlar eşitlenmiş ve böylelikle takip eden işlemlerde değışiklik yapılmadan aynı çarpan değerine ulaşılmıştır.

Yapılan bu değışiklikler neticesinde metodun çalışıp çalışmadığının kontrolü olan validasyon işlemlerinden doğruluk ve kesinlik tespiti yüzde geri kazanım ve referans madde çalışmaları ile yapılmıştır. Buna göre çalışmalar sırasında 50 µg/kg ve 150 µg/kg düşük ve yüksek düzey geri kazanım sonuçları sırası ile %89 ve %90 olmuştur. Hesaplamalar sonucunda tekrarlanabilirlik koşulları altında elde edilen sonuçlardan hesaplanan nispi standart sapma (RSD_r) ve yeniden yapılabilirlik koşulları altında elde edilen sonuçlardan hesaplanan nispi standart sapma (RSD_R) değerleri sırası ile düşük konsantrasyonlar için %2,40 ve %4,29 yüksek konsantrasyon için % 1,43 ve %3,85 olmuştur. Bu değerler Çizelge 3.2.'de verilen TGK Tebliğ 200/21 Ek-11 zearalenon metotları için performans kriterleri tablosundaki değerler ile kıyaslanmış ve geçerli olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 3.2. ZEA için metot performans kriterleri

Seviye (µg/kg)	Zearalenon		
	RSD _r (%)	RSD _R (%)	Geri Kazanım (%)
≤50	≤40	≤50	60-120
>50	≤25	≤40	70-120

Geçerliğı sağlanan metot ile analizler yapılmıştır. Erlen içerisine katı numunelerden 50 g tartım, sıvı numunelerden 50 ml ölçüm ile koyulmuştur. Üzerlerine 2 şer gram NaCl tartılmıştır. Her erlen içerisine 100 ml ekstraksiyon çözeltisi ilave edilmiştir. Çalkalayıcıda 60 dakika süre ile çalkalanarak numunelerde aradığımız analit olan ZEA, ekstraksiyon çözeltisi içerisine geçmesi sağlanmıştır. Süre sonunda ekstrakt kaba filtre kâğıdı üzerinden bir erlene süzölmüştür. Sıvı numuneler ile yapılan ekstraksiyonda süre sonunda tüm ekstrakt ayırma hunisinde alınmış, faz ayrılması beklenmiştir. Faz ayrımı gerçekleşmesini takiben ekstraksiyon çözeltisi fazından bir pipet ve puar yardımı ile 25 ml, benzer şekilde katı numune ekstraksiyonundan elde edilen süzöntüden 25 ml bir behere pipetlenmiştir. Üzerlerine 75 ml ultra saf su ilave edilerek seyreltilmiştir. Seyreltilmiş ekstrakt iyice karıştırılarak cam filtre kâğıdı üzerinden bir balon içerisine süzölmüştür ve berrak ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen bu berrak ekstraktın 50 ml daha önceden hazırlanmış olan immunoaffiniti kolon şırınga düzeneğı içerisine şırınga haznesine koyulmuştur. Saniyede 1-2 damla sabit hızla immunoaffiniti kolondan vakum manifoldu yardımı ile geçirilmiştir. Bu aşamada immunokolondan geçen numune miktarı 50 ml filtrat = 6,25 g örneğı temsil etmektedir. Tüm

berrak filtrat kolondan geçtikten sonra kolon yaklaşık 1–2 damla/saniye sabit hızla 10 ml ultra saf su geçirilerek yıkanmış ve böylelikle kolonda tutunması muhtemel ancak suda çözünüp uzaklaşabilen yabancı maddeler uzaklaştırılmıştır. Kolonda tutunan ZEA, kolonun altına vial yerleştirildikten sonra kolondan haznesine pipetlenen 2 ml HPLC dereceli asetonitril ile yaklaşık 1–2 damla/saniye sabit hızla kolondan geçirilmesi sureti ile vial alınmıştır. Viale alınan asetonitril içerisindeki ZEA, azot gazı altında asetonitrilin tam kuruluğa kadar uçurulması ile vial iç yüzeyinde kristal forma geçirilmiştir. Kurumuş kalıntı üzerine önceden hazırlanan 1 ml (3+7) (Asetonitril +Su)(v/v) pipetlenmiştir. Vial yaklaşık 30 saniye süre ile vortekslenerek kurumuş kalıntının tekrar çözünmesi sağlanmıştır. Elde edilen eluat 2 ml amber HPLC vialleri içerisine alınmış ve 100 µl HPLC'ye enjeksiyon yapılmıştır.

3.2.1. Zearalenon Miktarının Hesaplanması

HPLC okumaları ile elde edilen alan değerleri çizilmiş olan kalibrasyon tablosu ile ng/g (ppb)'a çevrilerek rapor alınmıştır. Lakin hesaplanan bu değer ekstraksiyon kısmından gelen seyreltme faktörü ile çarpılması gerekmektedir. Seyreltme faktörü aşağıda verilen formülde uygulamada kullanılan miktarlar yerine yazılarak bulunmuştur.

$$W_{ZEA}(ng/g) = Ma \times \frac{V1}{V2} \times \frac{V3}{V4} \times \frac{V5}{V6} \times \frac{1}{Ms}$$

Ma = HPLC'de okunan kromatogram sonucu (ng)

V1 = Ekstraksiyon solventinin hacmi (100 ml)

V2 = Filtrattan seyrelmek için alınan miktar (25ml)

V3 = Toplam seyreltme hacmi (100ml)

V4 = İmmunoafinite kolonundan geçirilen numune süzüntüsünün hacmi (50 ml)

V5 = Test çözeltisi (1 ml=1000 µl)

V6 = HPLC enjeksiyon hacmi (100µl)

Ms = Numune miktarı (50 g veya 50 ml)

Yukarıdaki formülde değerler yerine yazıldığında;

$$W_{ZEA}(ng/g) = Ma \times 1,6 \text{ olur.}$$

Bu çalışmada analizi yapılan tüm örnekler iki tekerrürlü çalışılmıştır. Tekerrürlerin HPLC okuma ortalamaları alındıktan sonra mısır içerikli katı numunelerin ortalamaları aynı zaman dilimlerinde temiz mısır unu numunesinde 50 µg/kg düzeyinde yapılan geri kazanım çalışması sonucunda elde edilmiş olan % 89 geri kazanım ortalaması ile düzeltilmiştir.

Mısırözü yağı numuneleri ise ortalamaları alındıktan sonra aynı zaman dilimlerinde temiz mısırözü yağı numunesinde 100 µg/kg düzeyinde yapılan geri kazanım çalışması sonucunda elde edilmiş % 94'lük geri kazanım ortalaması ile düzeltilmiştir. Geri kazanım ile düzeltilmiş değerler aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{Düzeltilmiş değer(ng/g)} = \frac{\text{HPLC okuma ortalaması}}{\text{Geri kazanım oranı}}$$

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Bebek Maması Örneklerinde ZEA Varlığı

İstanbul piyasasında satışı sunulan 20 adet bebek maması örneği tesadüfî örnekleme yöntemine göre seçilmiştir. Laboratuara getirilerek analiz öncesi hazırlama işlemleri olan kodlama ve paçal örnek alımı işlemleri uygulanmıştır. Analizleri üçüncü bölümde belirtilen metot ile yapılmış, elde edilen okuma sonuçları üçüncü bölümde anlatıldığı gibi geri kazanım oranı ile düzeltilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Bebek maması numunelerin ZEA düzeyleri

Örnek No.	ZEA (µg/kg)
1	TEDB
2	6,45
3	TEDB
4	TEDB
5	9,24
6	TEDB
7	TEDB
8	TEDB
9	7,45
10	11,25
11	4,42
12	TEDB
13	TEDB
14	TEDB
15	TEDB
16	5,67
17	20,33
18	TEDB
19	TEDB
20	TEDB
Ortalama	9,26
Standart Sapma	5,39
En Düşük	4,42
En Yüksek	20,33
TEDB: Tespit Edilebilir Düzeyde Bulunmadı	

Elde edilen sonuçlara göre toplam 20 adet bebek maması örneğinin 13 adedinde ZEA tespit edilememiştir. Buna karşın 7 örnekte değişen miktarlarda ZEA tespit edilmiştir. Bebek maması gibi yeni doğanlar için özel olarak üretilmiş gıda maddelerinde bu yüksek bir oran olarak değerlendirilebilir.

ZEA üzerine yapılmış araştırmalar incelendiğinde, bebek maması ile ilgili daha önce bir araştırma yapılmadığı görülmüştür. Buna karşın bebek maması girdisi olarak kullanılan mısır, pirinç, arpa, yulaf ve unları üzerinde yapılan araştırmalarda özellikle Almanya'da Müller ve ark. (1997a,b) ve Schollenberger ve ark. (2005) yüksek düzeylerde ZEA tespit etmişlerdir. Bebek mamasında sıkça kullanılan buğday nişastası, pirinç nişastasını temsil eden numunelerde ortalama 15 µg/kg, benzer şekilde buğday, mısır, yulaf ürünlerinde 2 ile 18 µg/kg değerleri arasında ZEA tespit etmişlerdir.

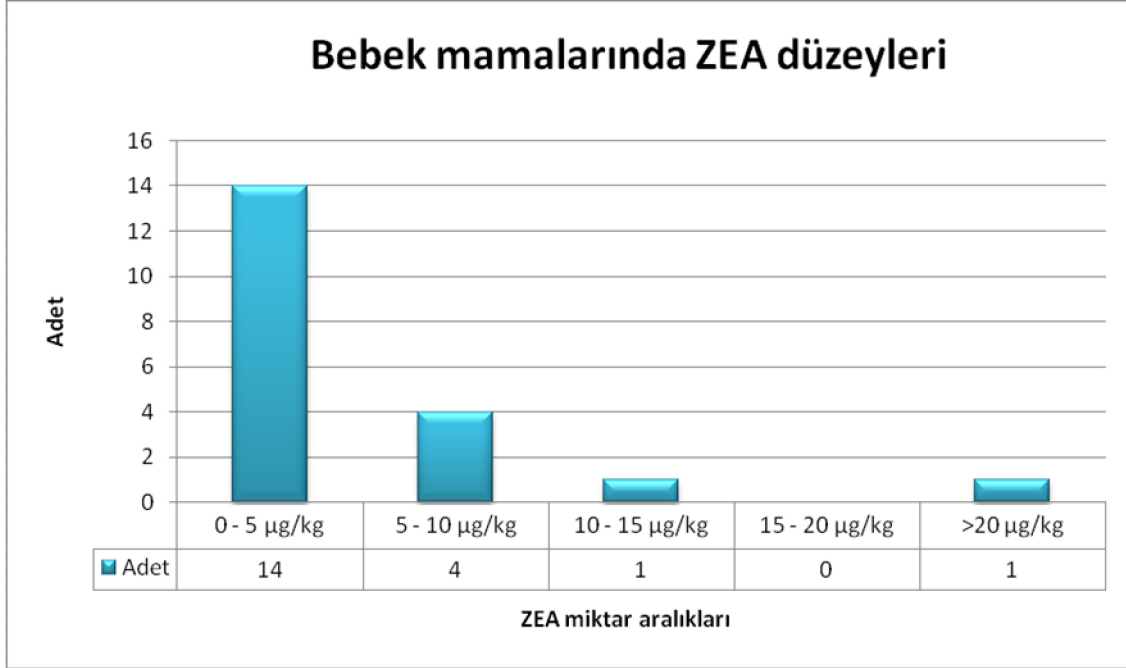
Bu çalışma bebek mamalarının ortalama 9,26 µg/kg ZEA içerdini gösterip, bu değer 7 adet numunedeki ZEA miktarlarının ortalama değeridir. En yüksek değer olarak 20,33 µg/kg, en düşük değer olarak ise 4,42 µg/kg ZEA tespit edilmiştir. ZEA tespit edilen bebek mamalarının ZEA miktarlarının standart sapması 5,39 µg/kg olarak bulunmuştur. Bu ifadeyi göreceli standart sapmaya(RSD) çevirirsek 0,5821 değerine ulaşmış oluruz ki buda bu çalışmada tespit edilen değerlerin birbirlerine göre % 58,21 sapma gösterdiği anlamına gelmektedir.

Bebek maması örneklerinde (n=20) tespit edilen ZEA miktarlarının bir başka değerlendirmesi ise Çizelge 4.2'de verilmiştir. Örneklerin 14 tanesi (% 70'i) en düşük aralıkta yer almış, sadece 1 tanesi (% 5'i) (20,33 µg/kg) aynı zamanda yasal limit değer olan 20 µg/kg'dan büyük olmuştur.

Çizelge 4.2. Bebek maması numunelerin ZEA düzey oranları

Değer Aralığı(µg/kg)	0 - 5	5 - 10	10 - 15	15 - 20	>20	Toplam
Örnek Sayısı	14	4	1	0	1	20
Bulunma Oranı (%)	70	20	5	0	5	100

Şekil 4.1'de bebek maması örneklerinde ZEA bulunma oranlarına ait grafik verilmiştir. Grafik incelendiğinde artan değer aralıklarına karşılık gelen tespit edilme oranları düşmektedir. Lakin en yüksek oran aralığında bulunma adedi bir önceki aralıktan fazla olmuştur. İstatistiksel olarak bu istenmeyen bir durumdur, buna karşın örnek adedinin arttırılması durumunda 15-20 µg/kg değer aralığında da değerlerin bulunma olasılığını göz önüne alırsak analizler sonrası elde edilen değerlerin normal bir dağılım gösterdiği değerlendirilebilir.



Şekil 4.1. Bebek maması numunelerin ZEA düzeyleri grafiği

4.2. İşlenmiş Mısır Ürünleri Örneklerinde ZEA Varlığı

İstanbul piyasasında satışa sunulan 40 adet işlenmiş mısır örneği tesadüfî örnekleme yöntemine göre seçilmiştir. Laboratuara getirilerek analiz öncesi hazırlama işlemleri olan kodlama ve paçal örnek alımı işlemleri uygulanmıştır. Analizlerden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. İşlenmiş mısır numunelerinin ZEA düzeyleri

Örnek No.	Mısır Cipsi	Kahvaltılık Gevrek	Mısır Unu	Mısır Çerezi
1	4,57	40,59	TEDB	TEDB
2	3,48	5,85	59,85	71,42
3	TEDB	TEDB	125,86	8,95
4	7,62	TEDB	24,64	TEDB
5	12,19	11,78	TEDB	6,25
6	TEDB	18,15	14,65	TEDB
7	18,27	TEDB	84,21	24,53
8	33,20	30,85	28,52	TEDB
9	TEDB	TEDB	TEDB	23,17
10	9,23	TEDB	15,24	41,21
Ortalama	12,65	21,44	50,42	29,26
Standart Sapma	10,33	14,16	42,00	24,17
En Düşük	3,48	5,85	14,65	6,25
En Yüksek	33,2	40,59	125,86	71,42

TEDB: Tespit Edilebilir Düzeyde Bulunmadı

Çizelge 4.3'te verilen örnek türüne göre elde edilen ZEA ($\mu\text{g}/\text{kg}$) miktarlarının ortalamaları incelendiğinde en yüksek oran 50,42 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ile mısır ununda görülmekte, takiben 29,26 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ile mısır çerezi, 21,44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ile kahvaltılık mısır gevreği ve 12,65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ortalama ZEA miktarı ile mısır cipsleri gelmektedir. Burada verilen ortalamalar tespit edilen değerler üzerinden elde edilmiştir. Üretimi sırasında en az ısıl işlem gören mısır ununda ortalamanın yüksek olması ısıl işlem ile ZEA miktarının azalabileceği ihtimalini doğurmaktadır. Buna karşın mısır çerezi, mısır gevreği ve mısır cipsi üretimlerinde mısır miktarının mısır unu içeriğindeki mısır miktarı kadar olmadığını da unutmamak gerekir.

Elde edilen sonuçlara göre 10 adet mısır cipsi örneğinin 7'sinde (% 70'inde), 10 adet kahvaltılık mısır gevreği örneğinin 5'inde (% 50'inde), 10 adet mısır unu örneğinin 7'sinde (% 70'inde) ve 10 adet mısır çerezi örneğinin 6'sında (% 60'ında) değişen miktarlarda ZEA tespit edilmiştir.

Toplam 40 adet işlenmiş mısır ürünü örneğinin 19'unda (% 47,5'inde) ZEA tespit edilememiş, 21'inde (% 52,5'inde) ise değişen oranlarda ZEA tespit edilmiştir. Benzer şekilde Almanya'da Schollenberger ve ark. (2005,2006), Macaristan'da Fazekas ve ark. (1996), İtalya'da Visconti ve Pascale (1998) ve İngiltere'de Scudamore ve ark. (1998) yaptıkları çalışmalarda mısır ürünlerinde 1790 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'a kadar varan oranlarda ZEA tespit etmişlerdir.

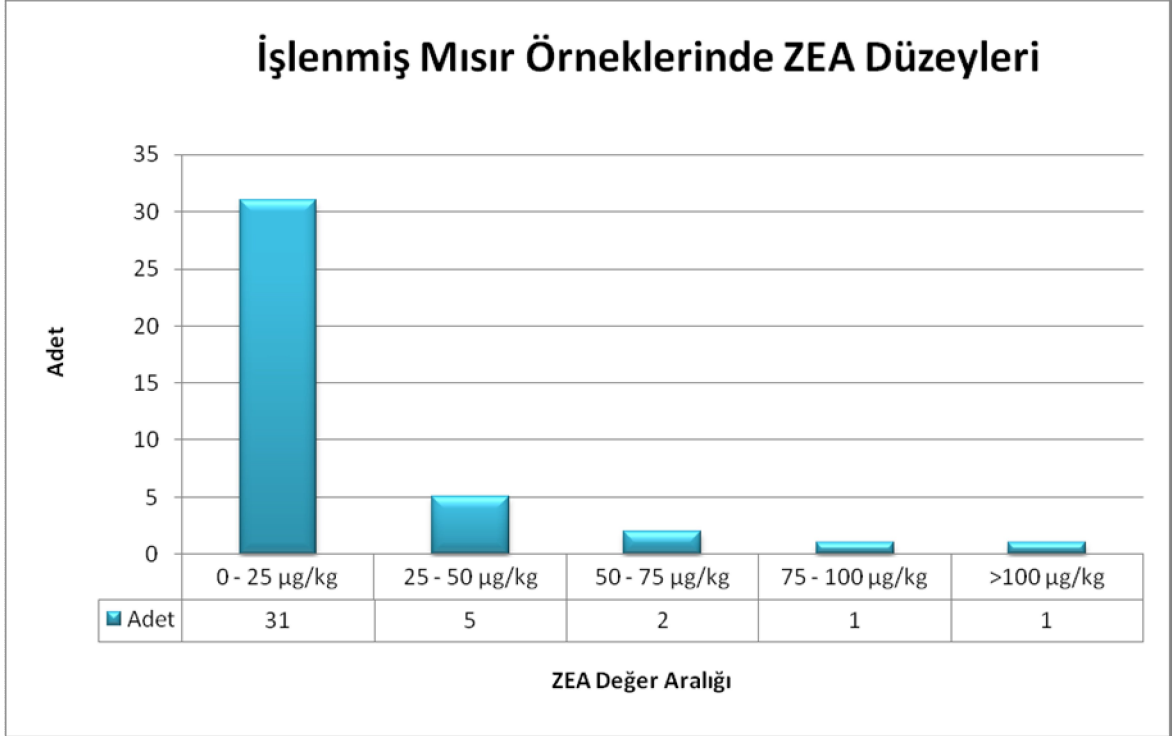
Bu çalışmada işlenmiş mısır örneklerinin % 52,5'inde ZEA tespit edilmesine karşın, tespit edilen değerlerin düşük seviyelerde olması sevindiricidir. İşlenmiş mısır ürünlerinde elde edilen değerlerin belirli değer aralıklarına karşı bulunma oranlarını gösteren bilgiler Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. İşlenmiş mısır numunelerinin ZEA düzey oranları

Değer Aralığı($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Mısır Cipsi		Mısır Gevreği		Mısır Unu		Mısır Çerezi		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
0 - 25	9	90	8	80	6	60	8	80	31	77,5
25 - 50	1	10	2	20	1	10	1	10	5	12,5
50 - 75	-	-	-	-	1	10	1	10	2	5,0
75 - 100	-	-	-	-	1	10	-	-	1	2,5
>100	-	-	-	-	1	10	-	-	1	2,5

Toplam 40 adet işlenmiş mısır örneği ile yapılmış çalışmada örnek türüne göre elde edilen ZEA düzeylerinin oranlarını gösteren Çizelge 4.5 incelendiğinde 0-25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ aralığında en yüksek oran tüm örneklerde ve toplamda belirtilmiştir. Bununla beraber birçok işlenmiş mısır

ürünü için yasal limit değeri olarak kabul edilen 100 µg/kg değeri üzerinde sonuç tüm örnekler dâhilinde % 2,5 (1 adet) oranında gözlemlenmiş olup bu değer bir mısır unu örneğine aittir. Buna karşın TGK Tebliğ 2008/26 Ek-2’de mısır unu ile ilgili olarak ayrı bir limit tanımlaması yapılmış olup bu değer 300 µg/kg olduğundan dolayı bu mısır unu örneği de limit altında olarak değerlendirilmiştir. Çizelge 4.4’te verilmiş değerler bir başka ifadeyle Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. İşlenmiş mısır numunelerin ZEA düzeyleri grafiği

Şekil 4.2’de işlenmiş mısır ürünleri örneklerinin genelinde ZEA bulunma oranlarına ait grafik verilmiştir. Grafik incelendiğinde artan değer aralıklarına karşılık gelen tespit edilme oranları düşmektedir. Analizler sonrası elde edilen değerlerin normal bir dağılım gösterdiği değerlendirilebilir.

4.3. Mısırozü Yağı Örneklerinde ZEA Varlığı

İstanbul piyasasında satışa sunulan 20 adet mısırozü yağı örneği satış potansiyeli yüksek olan marketlerden toplanmıştır. Laboratuara getirilerek analiz öncesi hazırlama işlemleri olan kodlama ve paçal örnek alımı işlemleri uygulanmıştır. Analizlerinden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Mısırözü yağı numunelerin ZEA düzeyleri

Örnek No.	ZEA (µg/kg)
1	3,67
2	10,10
3	10,43
4	3,71
5	3,73
6	3,19
7	2,04
8	50,21
9	32,93
10	TEDB
11	TEDB
12	29,25
13	38,59
14	80,45
15	TEDB
16	5,24
17	4,56
18	101,24
19	14,82
20	7,72
Ortalama	23,64
Standart Sapma	29,33
En Düşük	2,04
En Yüksek	101,24
TEDB: Tespit Edilebilir Düzeyde Bulunmadı	

Elde edilen sonuçlara göre toplam 20 adet mısırözü yağı örneğinin 3'ünde (% 15'inde) ZEA tespit edilememiştir. Buna karşın 17 örnekte (% 85'inde) değişen oranlarda ZEA tespit edilmiştir. Mısırözü yağı gibi insanları yüksek oranda tükettikleri gıda maddesinde ZEA tespit edilebilirliğinin % 85 gibi yüksek oranlarda olması dikkat çekicidir. Daha önce bu konuda yapılmış araştırmalara bakıldığında mısırözü ile ilgili bir veriye rastlanmamaktadır. Yasal limit değerinin TGK Tebliğ 2008/26'ya göre 400 µg/kg ki bu değer Avrupa Birliği Gıda Komisyonu kararları ile aynı değerdir, olduğu göz önüne alınırsa bu yüksek limit değeri karşısında elde edilen verilerin bir önemi kalmamaktadır.

Bununla birlikte mısırözü yağının direkt insan tarafından içilerek tüketilen bir gıda maddesi olmaması, yoğun olarak kızartma veya yemek pişirme yardımcı gıda maddesi olarak kullanılması ve bu işlemler sırasında yüksek ısıya maruz kalması sebebiyle içerebileceği

toksin miktarının çok azı veya hiçbirinin insan vücuduna katılımının olmayacağı ihtimali düşünülerek limit yüksek bir değer olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada araştırılmamış olmasına karşın elde edilen verilerden mısırözü yağı eldesinde rafinasyon aşamasının etkisi hakkında yüzeysel bir yorum yapılabilir. Şöyleki mısır ve ürünlerinde elde edilmiş yüksek ZEA ortalamaları (12,65-50,42 µg/kg) ile mısır özü yağında elde edilen ZEA ortalaması (20,43 µg/kg) ile kıyaslayacak olursak, mısır özü yağı ortalama ZEA miktarının diğer ortalama değerlerin arasında bir değer olduğu görülür. Bu durum rafinasyon aşamasının etkisinin ya olmadığını ya da çok az olduğu anlamına gelebilir. Buna karşın işlenmiş mısır ürünlerinde işleme esnasında oluşan ZEA kaybının benzer şekilde rafinasyon ile oluştuğu varsayımını da doğurmaktadır. Elbette bu konu üzerinde detaylı araştırmalar yapıldıktan sonra ancak kesin sonuçlar elde edilebilir.

Isıl işlemin ZEA düzeyi üzerine etkisini araştırmak üzere Lauren ve Smith (2001) ZEA ile bulaşık mısır numunelerine sodyum bikarbonat çözeltisi uygulaması sonrası 12 gün süre ile 110°C ısıtım uygulamışlar sonuç olarak ZEA miktarlarında belirgin bir azalma olmadığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Gilbert (1989) saf ZEA' u 4 saat süre ile 120 °C ısıtım maruz bırakmış fakat ZEA miktarında bir değişiklik olmadığını bildirmiştir. Buna karşın Ryu ve ark. (1999) tahıl bazlı gıdalarda yüksek sıcaklık ve basınç uygulaması ile içerdikleri ZEA miktarlarında % 83'e varan düşüşler tespit edilmiştir.

Mısırözü yağı örneklerinde (n=20) tespit edilen ZEA miktarlarının belirli değer aralıklarına göre dağılımı Çizelge 4,6'da verilmiştir. Analizi yapılan 20 mısırözü yağı örneğinin 19 tanesinde ZEA miktarı 0 ila 100 µg/kg arasında çıkmıştır. Burada aralıklar belirlenirken yasal limit değer olan 400 µg/kg değeri esas alınmıştır.

Çizelge 4.6. Mısırözü yağı numunelerin ZEA düzey oranları

Değer Aralığı(µg/kg)	0 - 100	100 - 200	200 - 300	300 - 400	>400	Toplam
Örnek Sayısı	19	1	-	-	-	20
Bulunma Oranı (%)	95	5	-	-	-	100

Mısırözü yağı numunelerinde ZEA bulunma oranlarına ait grafik Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Mısırözü yağı numunelerin ZEA düzeyleri grafiği

4.4. Mısır İçerikli Hayvan Yemi Örneklerinde ZEA Varlığı

İstanbul piyasasında satışa sunulan 20 adet mısır içerikli hayvan yemi örneği tesadüfî örnekleme yöntemine göre seçilmiştir. Laboratuara getirilerek analiz öncesi hazırlama işlemleri olan kodlama ve paçal örnek alımı işlemleri uygulanmıştır. Analizleri üçüncü bölümde belirtilen metot ile yapılmış, elde edilen okuma sonuçları üçüncü bölümde anlatıldığı gibi geri kazanım oranı ile düzeltilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Mısır içerikli hayvan yemi numunelerin ZEA düzeyleri

Örnek No.	ZEA ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	7,11
2	7,15
3	7,21
4	TEDB
5	8,82
6	16,44
7	15,06
8	TEDB
9	TEDB
10	4,98
11	50,85
12	14,79
13	6,52
14	TEDB
15	TEDB
16	TEDB
17	13,14
18	TEDB
19	36,48
20	6,84
Ortalama	15,03
Standart Sapma	13,58
En Düşük	4,98
En Yüksek	50,85
TEDB: Tespit Edilebilir Düzeyde Bulunmadı	

Elde edilen sonuçlara göre toplam 20 adet mısır içerikli hayvan yemi örneğinin 7'sinde (% 35'inde) ZEA tespit edilememiştir. Buna karşın 13 örnekte (% 65'inde) değişen miktarlarda ZEA tespit edilmiştir. Mısır içerikli hayvan yemleri özellikle yoğun miktarda insanlar tarafından tüketimi olan sığır ve kanatlı hayvanların besiciliğinde kullanılmaktadır. ZEA miktarı yüksek yemler ile beslenen hayvanlarda birçok olumsuzluk gözlemlenmiştir. Özellikle dişilik özelliklerinin artması, kesim sonrasında insanlar tarafından tüketilen et ürünleri ile benzer etkilerin insanlarda gözlemlenmesi kaçınılmaz olacaktır.

Bu çalışmada ZEA tespit edilebilme oranı % 65 olmasına karşın ZEA tespit miktarlarının ortalamasının 15,03 $\mu\text{g}/\text{kg}$ düzeyinde olması ve tespit edilen en yüksek değerin 50,85 $\mu\text{g}/\text{kg}$ olması sevindiricidir.

Geçmiş yıllarda hayvan yemleri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Labuda ve ark. (2005) kanatlı hayvan yemlerinde 3 – 86 µg/kg arasında, İngiltere’de Scudamore ve ark. (1998) 20 – 1800 µg/kg arasında, eski Yugoslavya’da Skrinjar ve ark. (1995) 140 – 960 µg/kg arasında ZEA tespit etmişlerdir. Yıllar itibari ile incelendiğinde bölgesel farklılıklar göz ardı edilirse son yıllardaki araştırmalarda daha az miktarlarda ZEA tespit edilmiştir. Bunun bir sebebi olarak elbette ki gelişen teknoloji ile birlikte yem üretim tekniğinin gelişmesi ve yüksek basıncın yanı sıra sıcaklık ile üretim yapan ekstrüzyon tekniğinin yaygınlaşması verilebilir. Aynı zamanda tarım tekniklerinin ilerlemesi, tarım alanlarında zararlılarla savaş konusunda yeni gelişmelerin olması, hasat sonrası işletmelere nakil yöntemlerinin iyileştirilmesi, işleme alınmayacak olan hasadın uygun depolama koşullarında bekletilmesi gibi etkenlerde yıllar arasında tespit edilen ZEA düzeylerinin azalması ile ilişkilendirilebilir.

Avrupa dışında yapılan araştırmalara bakacak olursak yine son yıllarda düşen oranlar görmemize karşın Arjantin’de Cavagliari ve ark. (2005) yaptıkları araştırmada besi yemlerinde 1200 – 3060 µg/kg arasında değişen yüksek ZEA miktarları tespit etmişlerdir. Dalcerro ve ark. (1998) Arjantin’de hayvan besi yemleri üzerinde yaptıkları araştırma sonucunda elde ettikleri 327 – 5850 µg/kg arasında değişen yüksek ZEA miktarları Cavagliari ve ark. (2005) elde ettiği sonuçlara göre pek bir değişiklik göstermemiştir. Bunun sebeplerinden biri olarak gelişmekte olan ülkelerde teknolojik gelişmelerin üretim sektörüne uyarlanmasının gecikmesi gösterilebilir.

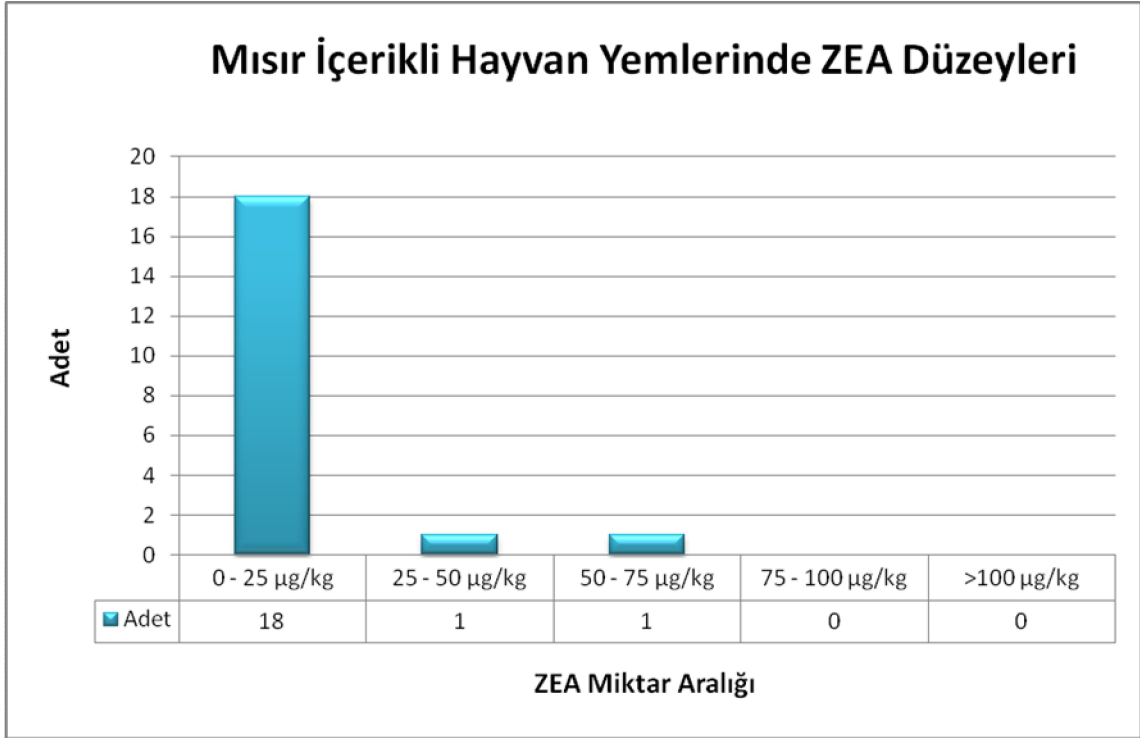
Çizelge 4.8’de mısır içerikli hayvan yemlerinde belirlenen ZEA miktarları değer aralıkları olarak incelenmiş dünya genelinde genel kabul görmüş limitlerin en düşük düzeyi olan 100 µg/kg değerinin üzerinde hiçbir veri elde edilmediği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.8. Mısır içerikli hayvan yemi numunelerin ZEA düzey oranları

Değer Aralığı(µg/kg)	0 - 25	25 - 50	50 - 75	75 - 100	>100	Toplam
Örnek Sayısı	18	1	1	-	-	20
Bulunma Oranı (%)	90	5	5	-	-	100

Bu çalışmada hayvan yemleri üzerinde elde edilen sonuçların belirlenmiş değer aralıklarına göre dağılımını gösterir grafik Şekil 4.4’te verilmiştir. 20 örnekten elde edilen sonuçların 18 adedi (% 90’ı) en düşük değer aralığı olan 0-25 µg/kg değerleri arasında bulunmaktadır. Bunlarında 7 adedinde hiç ZEA gözlemlenmemiştir. Bu değer aralığında 11 adet numunede ZEA tespit edilmiş bunun tüm hayvan yemi numunelerine oranı ise % 55 olmuştur. 25-50

$\mu\text{g}/\text{kg}$ ile 50-75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ değer aralıklarında ise birer adet numunede ZEA tespit edilmiş bu toplam hayvan yemi numunelerinin % 10'una tekabül etmektedir.



Şekil 4.4. Mısır içerikli hayvan yemi numunelerin ZEA düzeyleri grafiği

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu araştırma sonucunda 20 adet bebek maması, 40 adet işlenmiş mısır ürünü (10 adet mısır cipsi, 10 adet kahvaltılık gevrek, 10 adet mısır unu, 10 adet mısır çerezi), 20 adet mısırözü yağı ve 20 adet mısırlı hayvan yeminde zearalenon analizi yapılmıştır. Bebek maması örneklerinin 13'ünde, işlenmiş mısır ürünü örneklerinin 15'inde, mısırözü yağı örneklerinin sadece 3'ünde ve mısırlı hayvan yemi örneklerinin ise 7'sinde; toplamda 100 örneğin 38'inde ZEA tespit edilebilir düzeyde bulunamamıştır. Buna karşın 62 örnekte ise değişik miktarlarda ZEA tespit edilmiştir. Bu örneklerdeki ZEA miktarları Tarım Köy İşleri Bakanlığından zearalenon kontrolüne dair verilen tebliğdeki üst sınırlar olan; bebek mamaları için 20 µg/kg , mısırözü yağları için 400 µg/kg, işlenmiş mısır ürünleri için 100 µg/kg (mısır unu 300 µg/kg) değerleri ile kıyaslandığında, 1 adet bebek maması örneği dışında bu değerleri hiçbir örnek geçmemiştir. Buna karşın ZEA'nın iz miktarda bulunması hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı için tehlikeli olduğu, miktar ne olursa olsun ZEA içeren besinlerle beslenen canlıların vücutlarına zarar vereceği unutulmamalıdır.

Bu çalışmada kullanılan tüm örnek materyalleri üzerinde yapılan analizler neticesinde elde edilmiş sonuçların ortalamaları ve standart sapmaları ile genel ortalama ile standart sapma Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Tüm numunelerin ZEA düzeyleri

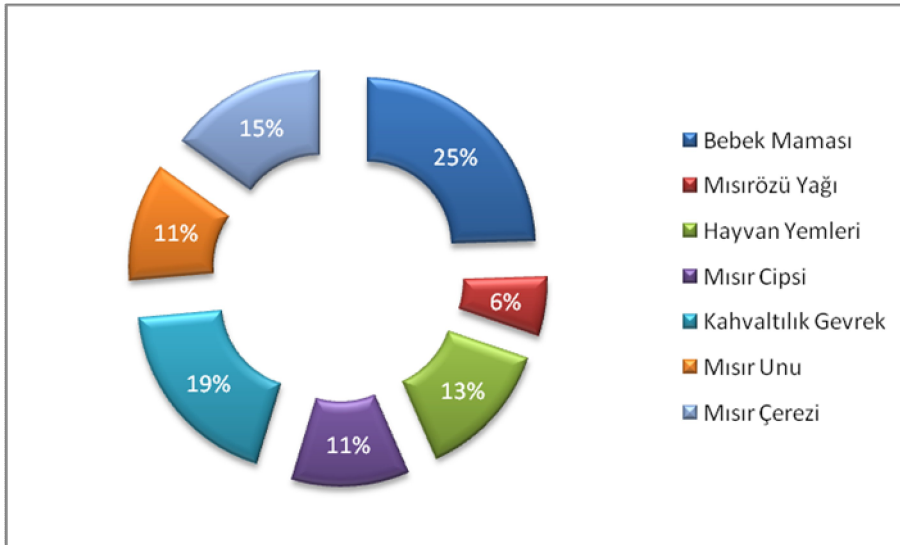
	Bebek Maması	Mısırözü Yağı	Hayvan Yemleri	Mısır Cipsi	Kahvaltılık Gevrek	Mısır Unu	Mısır Çerezi
Ortalama(µg/kg)	9,26	23,64	15,03	12,65	21,44	50,42	29,26
Std.Sapma	5,39	29,33	13,58	10,33	14,16	42,00	24,17
En Düşük	4,42	2,04	4,98	3,48	5,85	14,65	6,25
En Yüksek	20,33	101,24	50,85	33,2	40,59	125,86	71,42
TEDB oranı(%)	65	15	35	30	50	30	40
Genel ort. (µg/kg)				22,36			
Genel std.s.				25,44			
En Düşük				2,04			
En Yüksek				125,86			
Gen. TEDB oranı (%)				38			
TEDB: Tespit Edilebilir Düzeyde Bulunmadı							

Çizelge 4.9 incelendiğinde her bir grubun kendi içerisindeki tespit ortalamaları, TEDB (Tespit Edilebilir Düzeyde Bulunamadı) olma yüzdeleri, en düşük ve en yüksek tespit edilen

ZEA miktarları verilmiştir. Buna ilaveten toplam 100 örnek üzerinden elde edilen genel tespit ortalaması, genel TEDB olma yüzdesi verilmiştir. Bu çalışmada tespit edilen ZEA seviyelerin genel ortalaması 22,36 µg/kg 'dır. Bu değer ile grup ortalamalarını kıyaslayacak olursak bebek maması, hayvan yemleri ve mısır cipsi ortalamaları sırası ile 9,26 µg/kg, 15,03 µg/kg, 12,65 µg/kg genel ortalamasının altında yer almıştır. Buna karşın mısırözü yağı, kahvaltılık gevrek, mısır unu ve mısır çerezi ortalamaları sırası ile 23,64 µg/kg, 21,44 µg/kg, 50,42 µg/kg ve 29,26 µg/kg genel ortalamasının üzerinde yer alarak esas risk grubunu oluşturmuşlardır.

Bu çalışmada yapılan analizler neticesinde tespit edilen düşük ZEA miktarı 2,04 µg/kg ile bir mısırözü yağına ait olmasına karşın, en yüksek oranda TEDB olma oranı % 65 ile bebek mamasına aittir. Beklenen bir sonuç olarak bebek mamalarında elde edilen bu yüksek TEDB olma oranı, üretimine gösterilen özeni ve en düşük yasal limit değer olan 20 µg/kg değerine olan uyumu ortaya koymaktadır. Benzer şekilde bu çalışma neticesinde tespit edilen en yüksek ZEA miktarı 125,86 µg/kg ile bir mısır unu örneğine ait olmasına karşın, en düşük oranda TEDB olma oranı % 15 ile mısırözü yağı örneklerinde görülmüştür. Yasal limit değeri 400 µg/kg ile en yüksek olan mısırözü yağında en az TEDB olma oranının örtüşmesi dikkat çekicidir.

Şekil 5.1'de analizi yapılan tüm örneklerde ZEA'un TEDB olma oranları pasta grafiği olarak verilmiştir. Burada en yüksek payı tüm analizler içerisinde % 25 TEDB olma oranı ile bebek maması almıştır. Analizler neticesinde TEDB olma oranı en düşük, dolayısı ile en fazla oranda ZEA tespit edilen mısır içerikli ürün ise % 6 oran ile mısırözü yağı olmuştur.



Şekil 5.1. Tüm numunelerde ZEA TEDB olma oranları

Ülkemizde gıda maddelerinde ZEA kontrolünün yapılması ile ilgili mevzuat yeterlidir. Ancak uygulama birçok ilde farklı ve yetersizdir. Kontrol ve denetleme yetkisine sahip olan Tarım İl Müdürlükleri özellikle üretim ve satış iznini verdikten sonra kontrol ve denetlemeleri yeterli seviyede gerçekleştirmemektedirler. Bir gıda/yem fabrikasında üretilen her parti gıdanın zearalenon ve diğer bulaşanlarının kontrolünün, aynı zamanda satış yerlerinin sık zaman aralıklarında kontrol edilerek uzun süre depolanmış ürünlerden de aynı şekilde kontrol yapılmasının gerekliliği önem arz etmektedir. Kontrol ve denetleme personelinin yeterli bilgi ve beceri ile donatılması, özellikle homojen numune alma konusunda ciddi bir eğitimden geçirilmesi gerekmektedir.

Küflerin kontaminasyonu ve tahıllar üzerine önemli etkisi ülkemizde Toprak Mahsulleri Ofisi (TMO) ve değirmenlerde kullanılan toprak altı silolarda depolanan tahıllarda daha fazla olmaktadır. Bunun önlenmesi için toprak altı yığın silolardan vazgeçilip, betonarme hangarlar ve çelik konstrüksiyon silolar kullanılmalıdır. Bu depolarda tahılların rutubeti ve sıcaklığı sürekli kontrol edilme imkanı olduğundan tahılda meydana gelebilecek rutubet ve sıcaklık artışı sürekli kontrol edilebilmekte olup, herhangi bir sorun karşısında zaman kaybedilmeden müdahale edilebilmektedir.

Küflenen tahıllar insan gıdası veya hayvan yemi olarak kullanılmamalıdır. Sadece ihraç ve ithal edilen ürünler değil, iç tüketime sunulan gıda ve yem maddelerinin de mikotoksin kontrolleri yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abd Alla, E.S., 1997. Zearalenone: toxigenic fungi and chemical decontamination in Egyptian cereals. *Nahrung* 41, 362–365.
- Abdel-hafez, A.I., Saber, S.M., 1993. Mycoflora and mycotoxin of hazelnut (*Corylus avellana* L.) and walnut (*Juglans regia* L.) seeds in Egypt. *Zentralbl Mikrobiol.* 148, 137–147.
- Abdulkadar, A.H.W., Al-Ali, A.A., Al-Kildi, F.M., Al-Jedah, J.H., 2004. Mycotoxins in foods available in Qatar. *Food Control* 15, 543–548.
- Ahamed, S., Foster, J.S., Bukovsky, A., Wimalasena, J., 2001. Signal transduction through the ras/Erk pathway is essential for the mycoestrogen zearalenone-induced cell-cycle progression in MCF-7 cells. *Mol. Carcinog.* 30, 88–98.
- Avantaggiato, G., Havenaar, R., Visconti, A., 2004. Assessing the zearalenone binding activity of adsorbent materials during passage through a dynamic in vitro gastrointestinal model. *Food Chem. Toxicol.* 41, 1283–1290.
- Becci, P.J., Voss, K.A., Hess, F.G., Gallo, M.A., Parent, R.A., Stevens, K.R., Taylor, J.M., 1982a. Long-term carcinogenicity and toxicity study of zearalenone in the rat. *J. Appl. Toxicol.* 2, 247–254.
- Bennett, J.W., Klich, M., 2003. Mycotoxins. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, 497–516.
- Bennett, G.A., Lagoda, A.A., Shotwell, O.L., Hesseltine, C.M., 1981. Utilization of zearalenone-contaminated corn for ethanol production. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 58, 974–976.
- Berek, L., Petri, I.B., Mesterhazy, A., Teren, J., Molanr, J., 2001. Effects of mycotoxins on human immune functions in vitro. *Toxicol. In Vitro* 15, 25–30.
- Biehl, M.L., Prelusky, D.B., Koritz, G.D., Hartin, K.E., Buck, W.B., Trenholm, H.L., 1993. Biliary excretion and enterohepatic cycling of zearalenone in immature pigs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 121, 152–159.
- Bottalico, A., Visconti, A., Logrieco, A., Solfrizzo, M., Mirocha, C.J., 1985. Occurrence of zearalenols (diastereomeric mixture) in corn stalk rot and their production by associated *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 547–551.
- Cavaglieri, L.R., Gonzalez Pereyra, L.M., Pereyra, C.M., Magnoli, C.E., Chulze, S.N., Dalcero, A.M., 2005. Fungal and mycotoxin contamination of cow feeding stuffs in Argentina. In: International Conference. Fifth Framework Program. European Union Myco-Globe Project. European commission, 13–16 September, Accra, Ghana.
- CCFAC, 2000. Codex Committee on Food Additives and Contaminants. Posting date. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: Position paper on zearalenone. Publication CCFAC 00/19. Codex Alimentarius Commission, Rome, Italy.
- Çetin, Y., Bullerman, L.B., 2005b. Evaluation of reduced toxicity of zearalenone by extrusion processing as measured by the MTT cell proliferation assay. *J. Agric. Food Chem.* 16, 6558–6563.
- Cheeke, P.R., 1998. Mycotoxins in cereal grains and supplements. In: Cheeke, P.R. (Ed.), *Natural Toxicants in feeds, forages and Poisonous plants*. Interstate Publishers, Inc., Danville, IL, pp. 7–136.
- ConKova, E., Laciakova, A., Pastorova, B., Seidel, H., Kovac, G., 2001. The effect of zearalenone on some enzymatic parameters in rabbits. *Toxicol. Lett.* 121, 145–149.
- Creppy, E.E., 2002. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol. Lett.* 127, 19–28.
- Dalcero, A., Magnoli, C., Luna, M., Ancasi, G., Reynoso, M.M., Chiacchiera, S., Miazzo, R., Palacio, G., 1998. Mycoflora and naturally occurring mycotoxins in poultry feeds in Argentina. *Mycopathologia* 141, 37–43.

- Danicke, S., Ueberschar, K.H., Halle, I., Matthes, S., Valenta, H., Flachowsky, G., 2002. Effect of a detoxifying agent to laying hen diets containing uncontaminated or Fusarium toxin-contaminated maize on performance of hens and carryover of zearalenone. *Poultry Sci.* 81, 1671–1680.
- Devegowda, G., Arvind, B.I.R., Morton, M.G., 1996. Saccharomyces cerevisiae and mannanoligosaccharides to counteract aflatoxisis in broilers. *Proc. Aust. Poult. Sci. Symp.* 8, 103–106.
- D’Mello, J.P.F., Porter, J.K., Macdonald, A.M.C., Placinta, C.M., 1997. Fusarium mycotoxins. In: D’Mello, J.P.F. (Ed.), *Handbook of Plant and Fungal Toxicants*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 287–301.
- D’Mello, J.P.F., Placinta, C.M., Macdonald, A.M.C., 1999. Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Anim. Feed Sci. Technol.* 80, 183–205.
- Döll, S., Danicke, S., Schnurrbusch, U., 2003. The effect of increasing concentrations of Fusarium toxins in the diets of piglets on histological parameters of uterus. *Mycotox. Res.* 19, 73–76.
- Dutton, M.F., Kinsey, A., 1996. A note on the occurrence of mycotoxins in cereals and animal feedstuffs in Kwazulu Natal, South Africa 1984–1993. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 26, 53–57.
- EC, European Commission, 2004. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain in a request from the commission related to zearalenone as undesirable substance in animal feed. *EFSA J.* 89, 1–35
- El-Sharkawy, S., Abul-Hajj, Y.J., 1988. Microbial cleavage of zearalenone. *Xenobiotica* 18, 365–371.
- Eriksen, G.S., Alexander, J., 1998. In: *Nordic Council of Ministers (Ed.), Fusarium Toxins in Cereals – A Risk Assessment*, vol. 502. Tema Nord, Copenhagen, pp. 7–58.
- Etienne, M., Dourmad, J.Y., 1994. Effects of zearalenone or glucosinolates in the diet on reproduction in sows: a review. *Livest. Prod. Sci.*, 99–113.
- FAO, 2004. *Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003*. FAO Food and Nutrition paper No. 81. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Fazekas, B., Kis, M., Hajdu, E.T., 1996. Data on the contamination of maize with fumonisin B1 and other fusariotoxins in Hungary. *Acta Vet. Hung.* 44, 25–37.
- Fazekas, B., Tar, A., 2001. Determination of Zearalenone Content in Cereals and Feedstuffs by Immunoaffinity Column Coupled with Liquid Chromatography. *Journal of AOAC International* Vol. 84, No. 5, 2001, pp.1453-1459.
- 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, pp. 226–257.
- Forsell, J.H., Witt, M.F., Tai, J.-H., Jensen, R., Pestka, J.J., 1986. Effects of 8-week exposure of the B6C3F1-mouse to dietary deoxynivalenol (vomitoxin) and zearalenone. *Food. Chem. Toxicol.* 24, 213–219.
- Gbodi, T.A., Nwude, N., Aliu, Y.O., Ikediobi, C.O., 1986a. The mycoflora and some mycotoxins found in acha (*Digitaria exilis* Stapf.) in Plateau State, Nigeria. *Food Chem. Toxicol.* 24, 339–342.
- Gbodi, T.A., Nwude, N., Aliu, Y.O., Ikediobi, C.O., 1986b. The mycoflora and some mycotoxins found in maize (*Zea mays*) in the Plateau State of Nigeria. *Vet. Hum. Toxicol.* 28, 1–5.
- Gilbert, J., 1989. Current views on the occurrence and significance of Fusarium toxins. *Soc. Appl. Bacteriol. Symp. Ser.*, 18, 89-98.

- Gross, V.J., Robb, J., 1975. Zearalenone production in barley. *Ann. Appl. Biol.* 80, 211–216.
- Hadiani, M.R., Yazdanpanah, H., Ghazi-Khansari, M., Cheraghali, A.M., Goodarzi, M., 2003. Survey of the natural occurrence of zearalenone in maize from northern Iran by thin-layer chromatography densitometry. *Food Addit. Contam.* 20, 380–385.
- Hagler Jr., W.M., Towers, N.R., Mirocha, C.J., Eppley, R.M., Bryden, W.L., 2001. Zearalenone: mycotoxin or mycoestrogen? In: Summerell, B.A., Leslie, J.F., Backhouse, D., Bryden, W.L., Burgess, L.W. (Eds.), *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press, St. Paul, Minn.
- Hietaniemi, V., Kumpulainen, J., 1991. Contents of *Fusarium* toxins in Finnish and imported grains and feeds. *Food Addit. Contam.* 8, 171–182.
- Huwig, A., Freimund, S., Kaappeli, O., Dutler, H., 2001. Mycotoxin detoxification of animal feed by different sorbents. *Toxicol. Lett.* 122, 179–188.
- Janardhana, G.R., Rabeas, K.A., Shekar Shetty, H., 1999. Mycotoxin contamination of maize grains grown in Karnataka (India). *Food Chem. Toxicol.* 37, 863–868.
- JECFA, 2000. Zearalenone. In: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (Ed.), *Safety evaluation of certain food additives and contaminants*. WHO/FAO Food additives Series 44. IPCS – International Programme on Chemical Safety. WHO, Geneva.
- Kouadio, J.H., Mobio, T.H., Baudrimont, I., Moukha, S., Dano, S.D., Creppy, E.E., 2005. Comparative study of cytotoxicity and oxidative stress induced by deoxynivalenol, zearalenone or fumonisin B1 in human intestinal cell line Caco-2. *Toxicology* 213, 56–65.
- Kuiper-Goodman, T., Scott, P.M., Watanabe, H., 1987. Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 7, 253–306.
- Labuda, R., Parich, A., Berthiller, F., Tancinova, D., 2005. Incidence of trichothecenes and zearalenone in poultry feed mixtures from Slovakia. *Int. J. Food Microbiol.* 105, 19–25.
- Lauren, D.R., Smith, W.A., 2001. Stability of the *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol and zearalenone in ground maize under typical cooking environments. *Food Additives & Contaminants: Part A, Volume 18, Issue 11 November 2001*, pages 1011 – 1016.
- Lemke, S.L., Grant, P.G., Phillips, T.D., 1998. Adsorption of zearalenone by organophilic montmorillonite clay. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3789–3796.
- Lioi, M.B., Santoro, A., Barbieri, R., Salzano, Ursini, M.V., 2004. Ochratoxin and zearalenone: a comparative study on genotoxic effects and cell death induced in bovine lymphocytes. *Mutat. Res.* 557, 19–24.
- Lovelace, C.E., Nyathi, C.B., 1977. Estimation of the fungal toxins, zearalenone and aflatoxin, contaminating opaque maize beer in Zambia. *J. Sci. Food Agric.* 28, 288–292.
- Maaroufi, K., Chekir, L., Creppy, E.E., Ellouz, F., Bacha, H., 1996. Zearalenone induces modifications in haematological and biochemical parameters in rats. *Toxicol.* 34, 534–540.
- Malekinejad, H., Maas-Bakker, R., Fink-Gremmels, J., 2006. Species differences in the hepatic biotransformation of zearalenone. *Vet. J.* 172, 96–102.
- Marin, L., Murtha, J., Dong, W., Pestka, J.J., 1996. Effects of mycotoxins on cytokine production and proliferation in EL-4 thymoma cells. *J. Toxicol. Environ. Health* 48, 379–396.
- McKenzie, K.S., Sarr, A.B., Mayura, K., Bailey, R.H., Millar, D.R., Rogers, T.D., Corred, W.P., Voss, K.A., Plattner, R.D., Kubena, L.F., Phillips, T.D., 1997. Oxidative

- degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. *Food Chem. Toxicol.* 35, 807–820.
- Minervini, F., Giannoccaro, A., Cavallini, A., Visconti, A., 2005. Investigations on cellular proliferation induced by zearalenone and its derivatives in relation to the estrogenic parameters. *Toxicol. Lett.* 159, 272–283.
- Mirocha, C.J., Pathre, S.V., Robison, T.S., 1981. Comparative metabolism of zearalenone and transmission into bovine milk. *Food Cosmet. Toxicol.* 19, 25–30.
- Mokoena, M.P., Chelule, P.K., Gqaleni, N., 2005. Reduction of fumonisin B1 and zearalenone by lactic acid bacteria in fermented maize meal. *J. Food Prot.* 68, 2095–2099.
- Molnar, O., Schatzmayr, G., Fuchs, E., Prillinger, H., 2004. *Trichosporon mycotoxinivorans* sp. nov., a new yeast species useful in biological detoxification of various mycotoxins. *Syst. Appl. Microbiol.* 27, 661–671.
- Müller, H.M., Reimann, J., Schumacher, U., Schwadorf, K., 1997a. Fusarium toxins in wheat harvested during six years in an area of southwest Germany. *Nat. Toxins* 5, 24–30.
- Müller, H.M., Reimann, J., Schumacher, U., Schwadorf, K., 1997b. Natural occurrence of Fusarium toxins in barley harvested during 5 years in an area of southwest Germany. *Mycopathologia* 137.
- NTP, 1982. Carcinogenicity bioassay of zearalenone in F344/N rats and F6C3F1 mice. National Toxicology Program Technical Reports Series 235. National Toxicology Program. Research Triangle Park, NC, USA.
- Nuryono, N., Novianti, C.T., Bo`hm, J., Razzazi-Fazeli, E., 2005. A limited survey of zearalenone in Indonesian maize-based food and feed by ELISA and high performance liquid chromatography. *Food Control* 16, 65–71.
- Okoye, Z.S., 1987. Stability of zearalenone in naturally contaminated corn during Nigerian traditional brewing. *Food Addit. Contam.* 4, 57–59.
- Olsen, M., Pettersson, H., Kiessling, K.H., 1981. Reduction of zearalenone to zearalenol in female rat liver by 3 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase. *Acta Pharmacol. Toxicol. (Copenh)* 48, 157–161.
- Ouanes, Z., Abid, S., Ayed, I., Anane, R., Mobio, T., Creppy, E., Bacha, H., 2003. Induction of micronuclei by zearalenone in Vero monkey kidney cells and in bone marrow cells of mice: protective effect of vitamin E. *Mutat. Res.* 538, 63–70.
- Park, K.J., Park, A.R., Lee, Y.W., 1992. Natural occurrence of Fusarium mycotoxins of the 1990 barley crop in Korea. *Food Addit. Contam.* 9, 639–645.
- Park, J.W., Kim, E.K., Shon, D.H., Kim, Y.B., 2002. Natural cooccurrence of aflatoxin B1, fumonisin B1 and ochratoxin A in barley and corn foods from Korea. *Food Addit. Contam.* 19, 1073–1080.
- Park, J.W., Shoi, S.Y., Hwang, H.J., Kim, Y.B., 2005. Fungal mycoflora and mycotoxins in Korean polished rice destined for humans. *Int. J. Food Microbiol.* 103, 305–314.
- Perkowski, J., Plattner, R.D., Golinski, P., Vesonder, R.F., 1990. Natural occurrence of deoxynivalenol, 3-acetyl-deoxynivalenol, 15-acetyldeoxynivalenol, nivalenol, 4,7-dideoxynivalenol and zearalenone in Polish wheat. *Mycotoxin Res.* 6, 7–12.
- Philips, S.I., Wareing, P.W., Dutta, A., Panigrahi, S., Medlock, V., 1996. The mycoflora and incidence of aflatoxin, zearalenone and sterigmatocystin in dairy feed and forage samples from eastern India and Bangladesh. *Mycopathologia* 133, 15–21.
- Pietri, A., Bertuzzi, T., Pallaroni, L., Piva, G., 2004. Occurrence of mycotoxins and ergosterol in maize harvested over 5 years in Northern Italy. *Food Addit. Contam.* 21, 479–487.

- Placinta, C.M., D'Mello, J.P.F., Macdonald, A.M.C., 1999. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Anim. Feed Sci. Technol.* 78, 21–37.
- Prelusky, D.B., Scott, P.M., Trenholm, H., Lawrence, G.A., 1990. Minimal transmission of earalenone to milk of dairy cows. *J. Environ. Sci. Health B* 25, 87–103.
- Richard J.L., 2007. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses. *International Journal of Food Microbiology* 119, 3-10
- Richardson, K.E., Hagler, W.M., Mirocha, C.J., 1985. Production of zearalenone a- and b-zearalenol and a- and b-zearalanol by *Fusarium* spp. in rice culture. *J. Agric. Food Chem.* 33, 862–866.
- Ryu, D., Hanna, M.A., Bullerman, L.B., 1999. Stability of zearalenone during extrusion of corn grits. *J. Food Prot.* 62, 1482–1484.
- Schollenberger, M., Müller, H.M., Rühle, M., Suchy, S., Planck, S., Drochner, W., 2005. Survey of *Fusarium* toxins in foodstuffs of plant origin marketed in Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 97, 317–326.
- Schollenberger, M., Müller, H.M., Rühle, M., Suchy, S., Planck, S., Drochner, W., 2006. Natural occurrence of 16 *Fusarium* toxins in grains and feedstuffs of plant origin from Germany. *Mycopathologia* 161, 43–52.
- SCOOP, 2003. Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU Member States. Sub-task Zearalenone. SCOOP European Project. Task 3.2.10. In: Vidnes, A., Bergsten C., Paulsen B. (Eds.), pp. 241–481.
- Scudamore, K.A., Nawaz, S., Hetmanski, M.T., 1998. Mycotoxins in ingredients of animal feeding stuffs: II. Determination of mycotoxins in maize and maize products. *Food Addit. Contam.* 15, 30–55.
- Skrinjar, M., Stubblefield, R.D., Stojanovic, E., Dimic, G., 1995. Occurrence of *Fusarium* species and zearalenone in dairy cattle feeds in Vojvodina. *Acta Vet. Hung.* 43, 259–267.
- Takahashi-Ando, N., Kimura, M., Kakeya, H., Osada, H., Yamaguchi, I., 2002. A novel lactonohydrolase responsible for the detoxification of zearalenone: enzyme purification and gene cloning. *Biochem. J.* 365, 1–6.
- Tanaka, T., Hasegawa, A., Yamamoto, S., Li, U.-S., Sugiura, Y., Ueno, Y., 1988. Worldwide contamination of cereals by the *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol and zearalenone. 1. Survey of 19 countries. *J. Agric. Food Chem.* 36, 979–983.
- Tanaka, T., Yamamoto, S., Hasegawa, A., Aoki, N., Besling, J.R., Sugiura, Y., Ueno, Y., 1990. A survey of the natural occurrence of *Fusarium* mycotoxins, deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone, in cereals harvested in The Netherlands. *Mycopathologia* 110, 19–22.
- Türk Gıda Kodeksi, Tebliğ 2007/21, Gıda Maddelerinde Mikotoksinlerin Seviyesinin Resmi Kontrolü İçin Numune Alma, Numune Hazırlama Ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği, Ek-11, Tablo 5.
- Türk Gıda Kodeksi, Tebliğ 2008/26, Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ, Ek-2, Tablo 2.5.
- Ueno, Y., Tashiro, F., Kobayashi, T., 1983. Species differences in zearalenone-reductase activity. *Food Chem. Toxicol.* 21, 167–173.
- Urry, W.H., Wehrmeister, H.L., Hodge, E.B., Hidy, P.H., 1966. The structure of zearalenone. *Tetrahedron Lett.* 27, 3109–3114.
- Van Egmond, H.P., 1993. Rationale for regulatory programmes for mycotoxins in human foods and animal feeds. *Food Addit. Contam.* 10, 29–36.

- Varga, J., Pe'teri, Z., Ta'bori, K., Te'ren, T., Va'gvo" lgyi, C., 2005. Degradation of ochratoxin A and other mycotoxins by *Rhizopus* isolates. *Int. J. Food Microbiol.* 99, 321–328.
- Veldman, A., Borggreve, G.J., Mulders, E.J., van de Lagemaat, D., 1992. Occurrence of the mycotoxins ochratoxin A, zearalenone and deoxynivalenol in feed components. *Food Addit. Contam.* 9, 647–655.
- Visconti, A., Pascale, M., 1998. Determination of zearalenone in corn by means of immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. A* 815, 133–140.
- Vrabcheva, T., Gebler, R., Usleber, E., Martlbauer, E., 1996. First survey on the natural occurrence of *Fusarium* mycotoxins in Bulgarian wheat. *Mycopathologia* 136, 47–52.
- Yamashita, A., Yoshizawa, T., Aiura, Y., Sanchez, P.C., Dizon, E.I., Arim, R.H., Sardjono, 1995. *Fusarium* mycotoxins (fumonisins, nivalenol and zearalenone) and aflatoxins in corn from southeast Asia. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59, 1804–1807.
- Yoshizawa, T., Jin, Y.Z., 1995. Natural occurrence of acetylated derivatives of deoxynivalenol and nivalenol in wheat and barley in Japan. *Food Addit. Contam.* 12, 689–694.
- Yoshizawa, T., 1997. Geographic difference in trichothecene occurrence in Japanese wheat and barley. *Bull. Inst. Compr. Agric. Sci. Kinki University* 5, 23–30.
- Yu, Z., Zhang, L., Wu, D., Liu, F., 2005. Anti-apoptotic action of zearalenone in MCF-7 cells. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 62, 441–446.
- Zakharova, L.P., Obol'skii, O.L., L'vova, L.S., Bystriakova, Z.K., Kravchenko, L.V., Tutel'ian, V.A., 1995. *Fusarium* toxins in the cereal crop in Russia (situation in 1993 and 1994). *Vopr. Pitan.* 2, 26–29.
- Zinedine, A., Brera, C., Elakhdari, S., Catano, C., Debegnach, F., Angelini, S., De Santis, B., Faid, M., Benlemlih, M., Minardi, V., Miraglia, M., 2006. Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. *Food Control* 17, 868–874.
- Zinedine, A., Soriano, J.M., Molto, J.C., Manes, J., 2007. *Food and Chemical Toxicology* 45, 1-18

TEŐEKKÖR

Üniversite öğrenimim boyunca bize bildiğimiz her şeyi öğreten tüm hocalarımıza, çalışmalarım esnasında fikir, bilgi ve kaynakları ile büyük yardımlarını gördüğüm, zamanını ayırarak bana yön veren değerli hocam Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ'ye, zearalenon analizlerdeki yardımlarından dolayı İstanbul İl Kontrol Laboratuar Müdürlüğü Toksin Laboratuar Şefliği; Dr.Didem Hilkat AKSAKAL, Selim SÜNNETCİ, Durmuş EKEN, Ahmet ÖZDEMİR'e, bana her konuda maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen eşim Melahat ÇELİK, biricik kızım Zeynep Ilgın ÇELİK ve tüm aileme sonsuz şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

Ankara merkez 16.11.1978 tarihinde doğdu. İlkokulu İstanbul Maltepe İsmet İnönü İlkokulunda 1989 yılında, ortaokulu İstanbul Kartal Ahmet Şimşek Koleji'nde 1993 yılında, lise öğrenimimi de İstanbul Küçükyalı Kadir Has Lisesi'nde 1997 yılında tamamladı. 1997 yılında Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünde lisans eğitimine başladı. 2001 yılında lisans eğitimimi tamamladı. 2001 ile 2004 yılları arasında çeşitli yemek firmalarında görevler aldıktan sonra, 2004 yılında TKB İstanbul İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nde mühendislik kadrosunda göreve başladı ve halen aynı kurumda gıda mühendisi olarak görev yapmaktadır.

Evli ve bir kız çocuk babası.

EKLER

Ek-1. Zearalenon standardı ve numune HPLC kromatogramı

