

TRAKYA BÖLGESİ'NDE ÜRETİLEN SIĞIR SÜT  
KARMA YEMLERİNDE AFLATOKSİN B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>)  
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Selim SÜNNETCİ  
Yüksek Lisans Tezi  
Zootekni Anabilim Dalı  
DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ  
2008

**T.C.**

**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TRAKYA BÖLGESİ'NDE ÜRETİLEN SIĞIR SÜT KARMA YEMLERİNDE  
AFLATOKSİN B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

Selim SÜNNETCİ

ZOOTEKNİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ

TEKİRDAĞ 2008

Her hakkı saklıdır

Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ danışmanlığında, Selim SÜNNETCİ tarafından hazırlanan bu çalışma 04/02/2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Zootekni Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Muhammet ARICI

İmza:

Üye: Doç. Dr. H. Ersin ŞAMLI

İmza:

Üye: Yard. Doç. Dr. Fisun KOÇ

İmza:

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Enstitü Müdürü

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Trakya Bölgesi'nde Üretilen Sığır Süt Karma Yemlerin Aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) Düzeylerinin Belirlenmesi

Selim SÜNNETCİ

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ

Bu çalışmada Trakya Bölgesi'nde üretilen sığır süt yemlerinin, HPLC kullanılarak Aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) düzeyleri belirlenerek, sonuçlar Yem Kanunu ile karşılaştırılmıştır. AFB<sub>1</sub> seviyelerinin belirlenmesi için 8 ayrı fabrikadan iki sezonda (Haziran, Temmuz, Ağustos-Aralık, Ocak, Şubat) 104 adet yem örneği toplanmıştır. Aralık, Ocak, Şubat dönemindeki iki yem örneğinde (5,19 ve 7,83 µg/kg) Yem Kanunu tarafından belirlenen seviyenin (5 µg/kg) üzerinde değerler tespit edilmiştir. Çalışmada mevsimler arasındaki farklılıklar P<0,01 seviyesinde önemli bulunmuştur. Sonuç olarak toplanan yem örneklerinin %98,08 'zinde Yem Kanunu tarafından belirtilen sınır değerleri aşmadığı tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Aflatoksin B<sub>1</sub>, yem, Trakya Bölgesi, HPLC.

## **ABSTRACT**

MSc. Thesis

Determination Aflatoxin B<sub>1</sub> Levels of Mixed Dairy Cattle Feed Produced in Trakya Region

Selim SÜNNETCİ

Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Main Science Division of Animal Science

Supervisor: Assistant Doc. Dr. Fisun KOÇ

In this study, AFB<sub>1</sub> levels of mixed dairy cattle feed produced in Trakya Region were determined by HPLC and the results were compared with the AFB<sub>1</sub> limit values accepted by Turkish Aliment Codex. For determination 104 feed samples are collected from 8 factories in two different seasons (June-July-August; December-January-February). Two samples (5.19 and 7.83 µg/kg) collected in December, January, February season exceeded the tolerance limit value (5 µg/kg) accepted by Turkish Ailment Codex. In this study seasonal variations estimated statistically significant by the level of  $p<0,01$ . As a result, AFB<sub>1</sub> levels in 98.08 % of the samples did not exceed the tolerance limit established by Turkish Aliment Codex.

**Key words :** Aflatoxin B<sub>1</sub>, feed, Trakya Region, HPLC.

## SİMGELER/KISALTMALAR DİZİNİ

**AFB<sub>1</sub>** : Aflatoksin B<sub>1</sub>

**HPLC** : Yüksek basınçlı likit kromatografi

**ppb** : µg/kg

İÇİNDEKİLER	
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
SİMGELER DİZİNİ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1. Aflatoksinlerin Yapısı ve Özellikleri.....	3
2.2. Aflatoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler .....	5
2.3. Mikotoksinlerin Sağlık Üzerindeki Etkileri .....	7
2.3.1. Aflatoksinlerin Sığırlar Üzerine Etkileri .....	9
2.3.2. Aflatoksinlerin Kanatlılar Üzerine Etkileri .....	10
2.3.3. Aflatoksinlerin Domuzlar Üzerine Etkileri .....	12
2.3.4. Aflatoksinlerin Koyunlar Üzerine Etkileri .....	13
2.3.5. Aflatoksinlerin Balıklar Üzerine Etkileri .....	13
2.3.6. Aflatoksinlerin Atlar Üzerine Etkileri .....	14
2.3.7. Aflatoksinlerin Tavşanlar Üzerine Etkileri.....	14
2.3.8. Aflatoksinlerin İnsanlar Üzerine Etkileri.....	15
2.4. Gıdalarda ve Yemlerde Aflatoksin Sınır Değerleri.....	16
2.5. Aflatoksinlerin Yıkımlanması.....	18
2.5.1. Fiziksel Yöntemlerle Aflatoksinlerin Yıkımlanması.....	19
2.5.2. Mikrobiyolojik Yöntemlerle Aflatoksinlerin Yıkımlanması.....	20
2.5.3. Enzim, Vitamin ve Amino Asitlerin Aflatoksinler Üzerine Etkisi.....	21
2.5.4. Kimyasal Yöntemlerle Aflatoksinlerin Yıkımlanması.....	22
2.6. Dünya’da ve Türkiye’de Aflatoksin Üzerine Yapılan Çalışmalar.....	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	28
3.1. Yem Materyali.....	28
3.2. Analiz Yöntemi.....	28
3.2.1. Alet ve Ekipmanlar.....	28
3.2.2. Kullanılan Kimyasallar.....	28
3.2.3. Kullanılan Çözeltiler.....	29

3.2.4.	Ekstraksiyon.....	31
3.2.5.	Hesaplama.....	32
3.3.	Fungusların İdentifikasyonu.....	32
3.4.	İstatiksel Analizler .....	32
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	33
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	39
6.	KAYNAKLAR .....	41
	TEŞEKKÜR.....	47
	ÖZGEÇMİŞ .....	48



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Aflatoksinlerin molekül yapısı.....	5
Şekil 3.1.	Aflatoksin B <sub>1</sub> Kalibrasyon eğrisi .....	31
Şekil 4.1.	Sığır süt yemlerinin yaz dönemi aflatoksin B <sub>1</sub> ppb düzeyleri.....	36
Şekil 4.2.	Sığır süt yemlerinin kış dönemi aflatoksin B <sub>1</sub> ppb düzeyleri .....	36

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Aflatoksinlerin fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	4
Çizelge 2.2.	<i>Aspergillus</i> küfleri ve toksin üretebilmeleri için uygun ortam koşulları..	6
Çizelge 2.3.	Kanatlılarda mikozis ve mikotoksikozise neden olan başlıca mantarlar..	11
Çizelge 2.4.	Gıda Maddelerinde Maksimum Mikotoksin Seviyeleri.....	17
Çizelge 2.5.	Yem Maddelerinde Maksimum Aflatoksin Seviyeleri.....	18
Çizelge 2.6.	Farklı bakteri türleri ile maya hücre duvarından elde edilen biyolojik ürünlerin toksin bağlama kapasiteleri.....	21
Çizelge 2.7.	Türkiye’de 1990-94 yılları arasında yem maddelerinde saptanan toplam Aflatoksin (Aflatoksin B <sub>1</sub> Aflatoksin B <sub>2</sub> Aflatoksin G <sub>1</sub> Aflatoksin G <sub>2</sub> ) ve Okratoksin sıklığı .....	25
Çizelge 3.1.	Aflatoksin B <sub>1</sub> için Mw ve $\Sigma$ değerleri.....	29
Çizelge 3.2.	Çalışma-Kalibrasyon Standartları Hazırlama Tablosu.....	30
Çizelge 4.1.	Sığır süt yemlerinin yaz dönemi aflatoksin B <sub>1</sub> (ppb) düzeyleri.....	33
Çizelge 4.2.	Sığır süt yemlerinin kış dönemi aflatoksin B <sub>1</sub> (ppb) düzeyleri.....	34
Çizelge4.3.	Sığır süt yemlerinin yaz ve kış dönemi aflatoksin B <sub>1</sub> (ppb) düzeylerine ilişkin istatistiki analiz sonuçları.....	35
Çizelge 4.4.	Sığır süt yemlerinin iller bazında yaz ve kış dönemi aflatoksin B <sub>1</sub> (ppb) düzeylerine ilişkin istatistiki analiz sonuçları.....	35
Çizelge 4.5.	Sığır süt yemlerinin yaz v kış dönemine ilişkin küf florası sonuçları.....	37

## 1. GİRİŞ

Tahıl ve tahıl ürünleri tüm Dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de insanların beslenmesinde en önemli gıda kaynağıdır. Bu nedenle de tahıl üretiminin artırılması ve kalitenin yükseltilmesi için yoğun çalışmalar yapılmaktadır.

Dünya Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) verilerine göre dünyada üretilen tahılın ortalama %5'i tüketilmeden önce kayba uğramaktadır. Hindistan, Afrika ve Güney Amerika ülkelerinin bir kısmında bu oran %30 dolayına kadar çıkmaktadır. Açlık probleminin mevcut olduğu dünyamızda bu orandaki kayıplar son derece önemlidir (Özkaya 1989).

Tarımsal ürünlerin üretim ve tüketim sürecinde uğradıkları kayıpların en önemli etmenlerinden birisi mikroorganizmalardır. Mikroorganizmalar içerisinde küf mantarları doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Hemen her çeşit gıdada ve yemde gelişerek bir yandan ürünün kalite ve kantitesini değiştirip bozulmasına neden olurken, diğer yandan sağlık için zararlı toksik bileşikler üretirler (Jay 1992, Topal 1995).

Tarımsal ürünlerin üretiminden tüketimine kadar geçen işlem aşamalarında mikroorganizmalarla kontamine olma riski oldukça fazladır. Bu mikroorganizmalardan küflerin, tarımsal ürünlere hasattan önce başlayarak, hasat, harman ve depolama sırasında bulaşma oranlarının arttığı yapılan araştırmalar sonucunda ortaya çıkmıştır (Eke 1985, Çoksöyler ve Özkaya 1987).

Küflerin metabolizma faaliyetleri sonucunda meydana gelen iz miktardaki organik yapıdaki toksik maddelere mikotoksin denir. Mikotoksinler ile kontamine olmuş gıdaları ve yemleri tüketen insan ve hayvanlarda meydana gelen hastalıklara da mikotoksikozis adı verilir (Davis ve Diener 1978, Charles ve Hurburgh 1995).

Mikotoksin kelimesi Yunanca fungus anlamına gelen "Mykes" ve Latince zehir anlamına gelen Toxikon kelimelerinin birleşmesinden oluşmuştur. Mikotoksinler, küflerin ikincil (sekonder) metabolitleridir ve iz miktarlarda (ppm veya ppb seviyelerde) meydana gelirler. Çok düşük miktarları bile insan sağlığını etkiler. Mikotoksinleri belirli küf cinsleri üretir ve her birinin ürettiği mikotoksin farklı yapıdadır (Charles ve Hurburgh 1995).

1962'den beri yapılan çok sayıda araştırmada kanserojen özelliği en yüksek mikotoksinin aflatoksin olduğu kanıtlanmıştır (Davis ve Diener 1978).

Aflatoksin insan ve hayvanlarda çok sayıda değişik sağlık sorunlarına neden olması ve tarımsal ürünlerin değerini düşürerek ekonomik kayıplara yol açması bu konudaki araştırmaları yoğunlaştırmıştır.

Toksinlerle ilgili ilk ciddi çalışmalar 1960'larda aflatoksinlerin bulunuşundan sonra başlamıştır. Mikotoksinler içinde en toksik olan aflatoksinler *Aspergillus flavus*, *Aspergillus paraticus* ve *Aspergillus nomius* türü küfler tarafından üretilmektedir. Aflatoksinler ilk olarak İngiltere'de yerfıstığı küspesi ile beslenen 100.000 'in üzerinde hindi palazının ölümü sonucu yapılan araştırmalarda ortaya çıkarılmış ve bu zehirlenmeye aflatoksikozis denmiştir. Yapılan araştırmalarda bu toksinin *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus paraticus* tarafından üretildiği belirlenmiştir (Özkaya ve ark. 1995).

Günümüzde mikotoksinler ülkemiz açısından önemli sorun haline gelmiştir. Yurdumuzda bu konudaki çalışmalar dışarıya ihraç ettiğimiz ürünlerin aflatoksin içerdikleri için geri gönderilmeleri ile başlamıştır. 1967'de Kanada'ya gönderdiğimiz fındıklarda *Aspergillus flavus* bulunduğu bildirilmiş, 1971'de A.B.D'ye satılan 45 parti Antep fıstığının 36'sı aflatoksin bulunduğu gerekçesiyle geri gönderilmiştir. 1972'de Danimarka'ya satılan kuru mısırlarda 938 µg/kg aflatoksin bulunduğu bildirilmiştir (Denizel 1977, Atlı ve Köşker 1980). Bu ürünlerin aflatoksin içerdiği gerekçesiyle geri çevrilmesi ülke ekonomisi açısından büyük kayıp olduğu gibi sağlık yönünden de üzerinde önemle durulması gereken bir sorun olmuş ve bugüne kadar aflatoksin üzerine çeşitli gıdalarda, özellikle uluslararası ticareti yapılan ürünlerde araştırmalar yapılmıştır (Şahin ve Duru 1980, Akkurt 1991, İç 1992).

Aflatoksin oluşturan küfler daha çok ürünün hasadından sonra ölü hücrelerde gelişerek, uygun nem ve sıcaklık bulduğunda aflatoksin oluşturmaktadır. Aflatoksinin doğal oluşumuna fiziksel ve biyolojik pek çok faktör etki etmektedir. Bunlar arasında iklim koşulları özellikle sıcaklık ve nem önemli etkenlerdendir (Pitt 1981, Eke 1985).

Trakya Bölgesi coğrafi konumu bakımından çevresi denizlerle çevrili ve havanın bağıl nem oranı oldukça yüksek bir yöremizdir. Bu bakımdan yem hammaddelerinin ve yemlerin depolanması çok dikkat edilmesi gereken bir konudur.

Yapılan çalışmada Trakya Bölgesi'nde üretilen sığır süt yemlerindeki aflatoksinin bulunma riski ve varsa hangi düzeylerde olduğu araştırılmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Aflatoksinlerin Yapısı ve Özellikleri

Aflatoksinler *Aspergillus flavus* grubu küf mantarlarının toksik ve yüksek ölçüde kanserojen metabolitleridir. *Aspergillus flavus* tarafından oluşturduğu tespit edildiği için *Aspergillus* 'un (A) harfi, *flavus*'un da (fla) harfleri alınarak Afla kelimesi elde edilmiş ve bunun sonuna da toksin kelimesi ilave edilerek aflatoksin ismi türetilmiştir (Aytaç 1983).

Aflatoksin oluşturduğu bildirilen başlıca küfler, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium puberulum*, *Penicillium citrinum*, vb. 'dir (Eser ve ark. 1978).

Aflatoksinin yapılan kromotografik araştırmalarından önce, 4 komponentten ibaret olduğu, UV ışığı altında ikisinin mavi floraesan ışık, diğer ikisinin yeşil floresan ışık verdiği renklere göre mavi renk verenlere (Blue) B<sub>1</sub> ve B<sub>2</sub>, yeşil renk verenlere (Green), G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> adları verilmiştir. Daha sonra aflatoksin B<sub>1</sub> karışımı küspe ile beslenen hayvanların sütlerinde olmak üzere, idrar ve böbreklerinde aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>; G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub>'den küçük Rf değerli ve mavi floresan veren iki komponent daha belirlenmiş, sütte rastlandığı için (milk) M<sub>1</sub> ve M<sub>2</sub> denilmiştir (Aytaç 1983).

Aflatoksinler (AF) kimyasal olarak bifuran halkası ve lakton bağı içeren kumarin derivatlarıdır. Bugün bu derivatların sayısı 18 olduğu belirlenmiştir. Önemli aflatoksinler olarak AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>, AFM<sub>1</sub>, AFM<sub>2</sub> görülmektedir. Kimyasal yapıları Şekil 2.1.'de verilen bu toksinlerden AFB<sub>2</sub> toksini AFB<sub>1</sub>'in, AFG<sub>2</sub> toksini AFG<sub>1</sub>'in dihidre formlarıdır. AFM<sub>1</sub> ve AFM<sub>2</sub> ise AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub>'nin -OH içeren formlarıdır. AFB<sub>1</sub>'in biyosentez yolu kısmen aydınlatılmıştır. Aflatoksinin yapısında bulunan furan ve kumarin halkaları primer metabolitlerden olan asetik asit ve melonik asitten oluşmaktadır. Sekiz kademeli reaksiyon zincirinin son ürünü AFB<sub>1</sub>'dir. Başka funguslar tarafından oluşturulan, özellikle bazı *Aspergillus versicolor* suşlarının yüksek düzeyde ürettiği sterigmatosistin AFB<sub>1</sub> biyosentez yolunda bir ara metabolit olarak görülür.

Asetat → Norsolorinikası→ Averantin→ Averufanin→ Averufin→ Versikonal hemiasetalasetat→ Versikolorin-A→ Siterigmatosistin→ O-Metilsterigmatosistin→ AFB<sub>1</sub> (Aydın 2007).

AFB<sub>1</sub> toksijenik küfler tarafından üretilen mikotoksinlerin en tehlikelidir. Bu toksinle bulaşık diyetleri metabolize eden memeliler AFM<sub>1</sub> veya süt toksini olarak bilinen 4-hidroksi AFB<sub>1</sub> metabolitini sütlerine geçirirler. AFB<sub>1</sub>, karaciğerde metabolize edilmekte ve türe bağlı olarak başta AFM<sub>1</sub> olmak üzere birkaç metabolitik dönüşüme maruz kalmaktadır (Sert ve ark. 2006). Aflatoksin M<sub>1</sub> ve M<sub>2</sub>, AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub>'nin süt veren hayvanların bünyesinde

metabolize olarak OH içeren türevlere dönüşmesi ve süte salgılanması ile “süt kaynaklı toksin” (milk toxin) olduklarını belirtmek amacıyla M ile simgelenmiştir. Aflatoksinlere verilen rakamlar ise toksisite derecesini gösterir. Numara “1” ile simgelenenler yüksek toksisiteyi, numara “2” ile gösterilenler ise daha düşük toksisiteyi ifade ederler (Kalkan 2007).

En önemli AFB<sub>1</sub> ortamda çoğunlukla yüksek konsantrasyonlarda bulunmakta olup B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> düşük konsantrasyonlardadır. Bilinen aflatoksinlerden en toksik olanı B<sub>1</sub>'dir. Aflatoksinlerin türevi olan M<sub>1</sub>'in toksik etkisi B<sub>1</sub> ile aynı düzeydedir (Davis ve Diener 1978, Taydaş 1993).

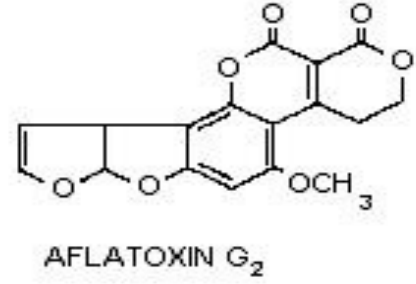
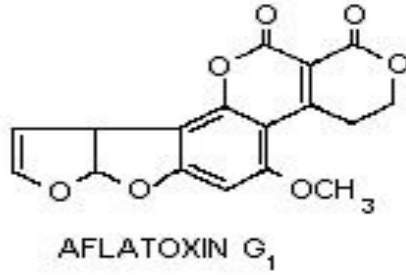
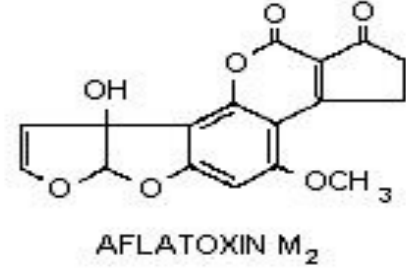
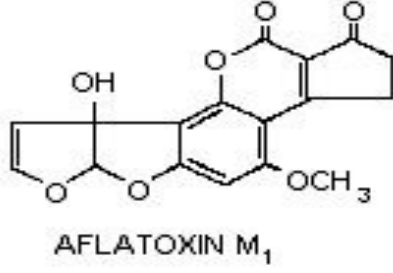
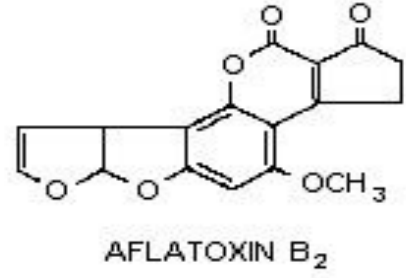
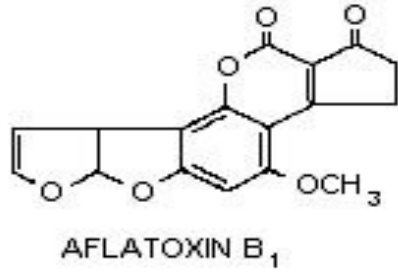
Potansiyel toksik etkisi en fazla olan 6 Aflatoksinin etkileri çoktan aza doğru B<sub>1</sub>>M<sub>1</sub>>G<sub>1</sub>>B<sub>2</sub>>M<sub>2</sub>=G<sub>2</sub> şeklinde sıralanmaktadır (Jay 1992).

Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri (molekül formülü, molekül ağırlığı ve erime noktası) Çizelge 2.1.'de, aflatoksinlerin molekül yapısı Şekil 2.1.'de verilmiştir.

**Çizelge 2.1.** Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Aflatoksin	Molekül Formülü	Molekül Ağırlığı	Erime Noktası
B <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	312	268-269
B <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	314	286-289
G <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	244-246
G <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	237-240
M <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	299
M <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	293
B <sub>2A</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	240
G <sub>2A</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub>	346	190

Kaynak: Ciegler ve ark. 1971, Taygur 1991



**Şekil 2. 1.** Aflatoksinlerin molekül yapısı (Betina 1989, Taydaş 1993)

Aflatoksinler saf olarak açık havada yüksek sıcaklıkta ısıtıldıklarında kararlıdır. Ancak UV ışığı altında TLC plakada havanın etkisi ile yüksek polaritedeki çözücülerle nispeten kararsızdır. Kloroform veya benzende karanlık ve soğukta saklandıklarında yıllarca kararlı kalabilmektedirler (Taydaş 1993).

## 2.2. Aflatoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Rose (1979)'nin bildirdiğine göre; Davis ve Diener'in 1970 yılındaki bir çalışmalarında aflatoksin oluşumu için sıcaklığın en düşük 12 °C, optimum 27-30 °C ve en yüksek 40-42 °C olduğunu bulmuşlardır. *Aspergillus* cinsinin toksin üretebilmesi için nispi nem miktarının %80-85, sıcaklığın 26 °C olması gereklidir (Sert 1982, Moss 1987).

Demir (1996)'in bildirdiğine göre, Christensen ve Kaufman hububat taneleri üzerinde bulunan küfleri "Tarla küfleri" ve Depo küfleri" olarak iki grupta incelemiştir. Tarla küfleri

(*Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium*, *Fusarium* türleri) hasattan önce bitki tarlada iken tane üzerinde gelişebilen ve gelişmeleri için %22-25 gibi yüksek rutubete gereksinim duyan küflerdir. Depo küfleri (*Aspergillus*, *Penicillium*) ise daha üründe düşük rutubete %13-18 su miktarına gereksinim duyar ve depolanmış hububat tanelerinde bozulmaya yol açar. Ürünün fiziksel bütünlüğünün bozulması küf üremesi ve aflatoksin oluşumunu kolaylaştırır. Besinlerin küflerle bulaşması sonucu aflatoksin 3-7 gün içinde oluşur. Depolanan her besin maddesinde, özellikle karbonhidrat içeren buğday ve pirinçte, yağlı tanelerde aflatoksin üreten küfler kolaylıkla üreyebilirler (Brien 1976, Şahin 1978).

Küflenen her tahılda toksin gelişimi olmaz. Bir genelleme yapılacak olursa zedelenmiş tahıl tanelerinde toksinlerin oluşumu riski sağlam tanelerden fazladır (Charles ve Hurburgh 1995). Chang ve Morkasis (1981)'e göre toksinlerin gelişebilmesi için ortam şartlarının uygun olması gerekir. Yapılan bu araştırmada, değişik rutubetlerde depolanan arpalar *Aspergillus parasiticus* ile aşılınarak sonuçta %13,5'in altındaki rutubetlerde aflatoksin oluşmadığı %16,5 rutubette ise eser miktarda aflatoksin oluşumu belirlemişlerdir. Maksimum aflatoksin birikiminin %28-31 rutubet aralığında meydana geldiği için arpaların %16 ve üzerindeki rutubetlerde 25°C de depolanmasının aflatoksin oluşumu bakımından tehlikeli olduğu sonucuna varmışlardır. Çizelge 2.2'de toksin üreten önemli küf mantarlarından *Aspergillus* için gerekli ortam koşulları verilmiştir.

**Çizelge 2. 2.** *Aspergillus* küfleri ve toksin üretebilmeleri için uygun ortam koşulları

<b>Küf</b>	<b>Muhafaza Koşulları</b>
	Tane olgunlaşma sırasında sıcak ve kuru hava,
	32-35°C' nin üzerinde sıcaklıklar, kuraklık
<i>Aspergillus</i>	16°C'den fazla ve %17'den yüksek depolama şartları
küfleri	İnsekt etkisi
	Serin yağışlı havalar, nem miktarı % 22'nin üzerinde olan yeterince kurutulmamış tahıllar

Kaynak: Charles ve Hurburgh 1995

Ciegler ve ark. (1971)'e göre nemin mısırdaki %16-25, unlarda %16, pirinçte %20-22, buğdayda %17-28 oranında bulunması aflatoksinin miktarını maksimuma çıkarmıştır. Üründeki nemin %18'den aşağı ve % 40'dan fazla olması *Aspergillus flavus*'un gelişmesini inhibe etmektedir.



### 2.3. Mikotoksinlerin Sağlık Üzerindeki Etkileri

Mikotoksinler vücudun organ ve dokularında bozukluklar meydana getirirken en çok karaciğeri etkilerler; bunun yanında, böbrekleri, sinir ve kasları, sindirim sistemini, deriyi, solunum sistemini ve üreme sistemini etkilerlerken bazılarının teratojenik ve karsinojenik etkileri de vardır (Kaya ve Yarsan 1995).

Aflatoksinler yüksek dozlarda akut, sub-letal dozlarda ise kronik toksisite göstermektedirler. Düşük dozda sürekli alımları, birçok hayvan denemesinde karsinojen etki ile sonuçlanmıştır. Aflatoksinler içerisinde en yüksek toksisiteyi aflatoksin B<sub>1</sub> göstermektedir. Aflatoksinlerden hayvanların birçoğu etkilenmektedir, ancak duyarlılık türden türe değişmektedir ve aynı türün genç olanları yaşlı olanlardan daha duyarlıdır. Ayrıca toksik etki, tüketilme miktarı ve sıklığına, hayvanın cinsine, yaşına, cinsiyetine, sağlık durumuna ve beslenmesine bağlı olarak değişmektedir. Cıvcıv, piliç ve ördek yavruları en duyarlı olanlardır, bunları sırasıyla hindi yavrusu, sülün palazı, tavuklar ve bildircinler izler. Memeliler arasında ise aflatoksinde etkilenme sırası; 3-12 haftalık domuzlar, hamile domuzlar, yetişkin domuz, sığır ve koyunlar şeklindedir. Alabalıklar ve köpekler de aflatoksinde duyarlı hayvanlardır. Alabalıklarda, ppb düzeyindeki çok düşük konsantrasyonda bile karaciğer kanseri etkisi görülmektedir (Özkaya ve ark. 2007).

Kuvvetli bir kanserojen olan AFB<sub>1</sub> akut hasar esas olarak karaciğerde oluşur. İnsanlarda bildirilen aflatoksikoz vakası çok azdır, ancak çoğu durumda teşhis konamamış olması ihtimaline dikkat edilmelidir. Bir vakada şu özellikler görülürse aflatoksikozdan kuşkulandırılabilir:

- Hastalığın nedeninin saptanamaması
- Hastalığın temasla geçmemesi
- Sendromlarla belli yiyecek kargoları arasında ilişki kurulabilmesi
- Antibiyotiklerin ve başka ilaçların etkisiz kalması
- Vaka sıklığının mevsimlerle bağlantılı olması (hava koşulları küflenme hızını etkileyebilir)

Aflatoksinlerin genel olarak iki tür etkisinden söz edilebilir.

- Akut Aflatoksikoz: Orta düzeyin üstünde aflatoksin alımıyla ortaya çıkar. Kanama, akut karaciğer hasarı, ödem, gıda sindirimi, emilim ve/veya metabolizmasında değişiklik ve ölüm gibi sonuçlar olabilir.

- Kronik Aflatoksikoz: Düşük ve orta düzeyde aflatoksin alımıyla ortaya çıkar. Teşhisi zordur. Ortak belirtiler arasında gıdaların sindiriminde sıkıntı ve düşük büyüme hızı yer alır. Bunlara ek olarak bilinen aflatoksin sendromlarında görülebilir.

Mikotoksinler içinde yüksek organizmalara en etkili olanlar aflatoksinlerdir. Yer fıstığı, baharat, fındık, yem, hububat, süt vs. ürünlerde bulunan aflatoksinler memeli canlılarda hepatotoksik, kanserojen ve teratojen etkide bulunabilirler. Canlılarda alınan mikotoksin dozuna bağlı olarak iki farklı etki görülebilir. Yüksek dozda alındıklarında akut toksik etki meydana gelir ve gıda veya yemin tüketilmesinin ardından kısa sürede ölüm görülebilir. Bazı mikotoksinler ölümden önce çok az belirgin semptomlar gösterirler. Bir kısmı ise deri nekrozlarına, lökopeni (kanda lökosit sayısının azalması) ve immunosupresif (bağışıklık sisteminin baskılanması) etkileri ile belirginleşirler ve ağır hastalıklara neden olurlar. Daha az dozların uzun süre alınmaları sonucunda kronik hastalıklar görülür. Bunlar özellikle karaciğer, böbrek gibi organlarda hastalıklar, dejenerasyonlar, bağışıklık sisteminde bozukluklar, kusurlu ve eksik organ oluşumları deri nekrozları, üremede azalma ve kilo kaybı gibi bozukluklardır. Akut toksik etkiye bireyin duyarlılığı genetik ve fizyolojik özellikleri ve çevresel faktörler etkendir (Aydın 2007).

Mikotoksinler içerisinde insan sağlığı için en fazla risk taşıyanı aflatoksinlerdir. Fakat aflatoksinlerin sağlık üzerindeki olumsuz etkileri kesin olarak aydınlatılmış değildir. Bunun en önemli nedeni de insanlarda laboratuvar şartlarında toksisite denemeleri yapmanın sözkonusu olmamasıdır. Bu bakımdan çalışmalar çeşitli deney hayvanlarının üzerinde yürütülmekte ve sonuçlar insanlar içinde ışık tutmaktadır. İnsanlarda mikotoksinlerin yol açtığı vakalar da mevcuttur. Spagetti yedikten sonra hastalanan iki çocuğun yedikleri spagettide 12,5 ppb aflatoksin belirlenmiştir (Van Walbeek ve ark. 1968). Nitekim yiyeceklerine istenmeden aflatoksin karışan insanların idrar, dışkı ve doku biyopsilerinde aflatoksin bulunmuştur. AFB<sub>1</sub> içerdiği sonradan anlaşılan yer fıstığı tüketen Filipinlilerin idrar ve dışkılarında AFB<sub>1</sub> olduğu belirlenmiştir (Eser 1966, Erdem 1982).

Deney hayvanları üzerinde yapılan denemelerde aflatoksinin karaciğer kanserine yol açtığı anlaşılmıştır. Böbreklerde, safra kesesi ve diğer bazı organlarda da aflatoksinlerden ileri gelen rahatsızlıklar görülmüştür. Hayvan yemlerinde bulunabilecek mikotoksin et, süt, yumurta gibi hayvansal ürünler yoluyla insanlar için tehlikeli olabilir. Diğer bir önemli mikotoksin olan Okratoksin A da bitkisel ve hayvansal gıdalardan insanlara geçebilmektedir. Avrupa Topluluğu tarafından aflatoksin için günlük kabul edilebilir doz insanlarda 0,014 ng/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir. Buna örnek olarak 60 kg'lık bir insan için günde alınabilir doz 0,84 ng'dır (Özkaya ve ark. 1995).

Taydaş (1993)'ın bildirdiğine göre insan ve hayvan sağlığı üzerindeki etkileri belirlendikten sonra, birçok ülke toksinlerin gıda ve yemlerde bulunabileceği maksimum sınırları belirlemişlerdir. Gıdalarda bulunabilecek miktarı ile ilgili sınırlamalar ise ülkeden ülkeye değişebilmektedir. Örneğin; Amerikan Gıda ve Tarım Komisyonu sütteki aflatoksin miktarını 0,5 ppb ve diğer gıdalardaki miktarını 20 ppb olarak sınırlamıştır. A.B.D. ve Meksika'da bütün gıdalar için toplam aflatoksin ( $B_1+B_2+G_1+G_2$ ) 20 ppb, Bağımsız Devletler Topluluğu bütün gıdalar için  $B_1$  5 ppb ve toplam 10 ppb, İngiltere fındık ürünleri için  $B_1$  50 ppb, Fransa'da bebek mamaları için sütte  $M_1$  0,01 ppb olarak limitler belirlenmiştir. Avrupa Birliği katkısız yemler ve tüm yemler (keçi ve süt ineği) için toplam ( $B_1+B_2+G_1+G_2$ ) 20 ppb, tüm domuz ve kümes hayvanları için toplam 20 ppb, diğer tüm yemler için toplam 10 ppb ve tamamlayıcı yemler için 20 ppb olarak aflatoksin sınırını belirlemişlerdir (Coker ve ark. 1984, Bhat 1987, Jay 1992).

### 2.3.1. Aflatoksinlerin Sığırlar Üzerine Etkileri

Sığırlarda gelişme bozukluğu, süt miktarında azalma, yemden yararlanamama, yaralanmaya karşı aşırıduyarlılık, kan tablosunda ve böbrek fonksiyonlarında bozukluklar, immun sistem bozuklukları, infeksiyöz hastalıklara karşı duyarlılık, genel zaafiyet, ürkeklik, depresyon, dispne, öksürük, burun akıntısı, anemi, epistaksis, kanlı dışkı, konvülsiyonlar, ishal, zayıflama, körlük, salivasyon, kaslarda kramp gibi klinik tablo yanısıra kanın pıhtılaşma süresinde bozulma, plazmada enzim düzeyinde artma, karaciğerde A vitamini noksanlığı gibi biyokimyasal değişmeler de görülür. Nekropside, akut ve subakut olgularda iç organlar, yemek borusu, mide, bağırsaklar, iskelet kasları, dokular ve subkutiste hemorajiler, bağırsaklarda kanlı içerik ve abdominal boşlukta kanlı bir sıvı toplanması, kronik olgularda ise ikterus, karaciğerde yağ dejenerasyonları, karaciğer ve hücrelerinde nekrozlar, safra kanallarında proliferasyon, loplarda atrofik değişmeler, sentrilobular karaciğer venlerinde kronik endoflebitis, difüz fibrozis gibi önemli bozukluklar şekillenir (Aydın 2007).

Kilo kaybı, anoreksi ve depresyonla seyreden doğal aflatoksikozise danalar çok duyarlıdır. Taşipne, dispne, nazal akıntı, kesintili diare ile idrar güçlüğü görülen diğer semptomlardır. Laktasyon dönemindekilerde süt verimi azalır; danalarda yem dönüşümü değişir. Bu semptomlara retikilo-rumen motilitesinde ve uçucu yağ asitleri üretiminde azalma eşlik eder. Zehirlenmenin ileri dönemlerinde safra kanallarının proliferasyonu ve perilobiler fibrozla karakterize olan hepatik bozukluklar egemenlik kazanır. Vena portada tromboz olduğu da bildirilmiştir. 1,8 mg/kg aflatoksin ile danalarda yapılan deneysel çalışmada alkali fosfataz

ve total bilirubin düzeyinde artışla birlikte mortalite görülmüştür. 600 ppb AFB<sub>1</sub> içeren rasyonla ve 155 gün süre ile beslenen 250 kg'lık danalarda kilo kaybı ile alkali fosfataz aktivitesinde artış gözlenmiş, 60-300 ppb doza haftalarca tolere edildiği saptanmıştır. Küçük ruminantlar; koyun ve keçi aflatoksinlere genellikle dirençli olan türlerdir. AFB<sub>1</sub>'in koyunda oral yolla LD<sub>50</sub> (lethal doz) değeri 2 mg/kg'dır. Bununla birlikte kontamine yemlerle beslenenlerde klinik tablo ve lezyonlar bildirilmiştir. Deneysel çalışmalarda elde edilen sonuçlar sığırlara önemli ölçüde benzerlik göstermiştir (Şener ve Yıldırım 2000).

Akut aflatoksikoziste fazla miktarda Aflatoksinin birden alınması halinde ortaya çıkar(1 kg yemde 100 mikrogramdan yüksek miktarlardaki aflatoksin sığırlar için toksiktir). Akut olaylarda körlük, sallantılı yürüyüş, ataksi, koordinasyon bozuklukları, iştahsızlık, diş gıcirtısı, inleme, ishal gibi belirtiler görülür. Hastalığın ileri dönemlerinde felç ve koma hali, gebe ineklerde yavru atma olayları görülür. Kronik aflatoksikozis seyredir. Hayvanın hastalıklara karşı direnci düşer. Klinik semptomlar ve otopsi bulguları spesifik değildir. Mantar toksinleri ile zehirlenmeler birçok hastalık ile karışabilir (Gürel 2007)

### **2.3.2. Aflatoksinlerin Kanatlılar Üzerine Etkileri**

Tavuk ve civcivlerde gelişme bozuklukları, yumurta veriminde düşme ve durgunluk gözlenir. Bu hayvanlarda aflatoksikozis kronik bir seyir izler. Hindi ve ördek yavrularında yeme karşı isteksizlik, genel bir zafiyet, tüylerin kabarması, uyuşukluk, opistotonus vardır. Ördek yavruları diğer kanatlılardan çok daha fazla duyarlıdır. Hastalık akut bir seyir izler ve öldürücüdür. Nekropside, iç organ ve dokularda hemorajiler, safra kanallarında hiperplazi, karaciğer parenkiminde nekrozlar, siroz, yağ infiltrasyonları görülür (Aydın 2007).

Klinik tablo hemen tüm kanatlılarda özdeştir; yorgunluk, anoreksi, gelişmede gecikme ya da kilo kaybı, ataksi ve terminal konvülsiyonlarla ölüm temel klinik tablodur. Otopside hepatik lezyonlar egemendir; akut ve subakut zehirlenmelerde farklı dokularda kanama da görülebilir. Tavukta; yumurta tavukları, civciv ve gelişme dönemindeki piliçler aflatoksikozise karşı nispeten dirençlidirler. Bu türde oral yolla AFB<sub>1</sub>'in LD<sub>50</sub> değeri 6,5-16,5 mg/kg'dır. Ancak deneysel çalışmaların bu türde yoğunlaştığı ve aflatoksinlerin etki mekanizmaları, toksisitelerinin hayvan türü, ırk ve cinsiyete bağlı olarak değiştiği gibi verilere bu çalışmalarla ulaşıldığı dikkat çekicidir. Şener ve Yıldırım (2000)'ın yapmış oldukları kanatlılarda mikozis mikotoksikozise neden olan başlıca mantarların tespiti çalışmasında *Aspergillus* türlerinin mikozis ve mikotoksikozise neden olan küfler oldukları Çizelge 2. 3'de görülmektedir.

**Çizelge 2. 3.** Kanatlılarda mikozis ve mikotoksikozise neden olan başlıca mantarlar

<b>Mantar</b>	<b>Mikozis</b>	<b>Mikotoksikozis</b>
<i>Aspergillus</i>	+	+
<i>Penicilium</i>		+
<i>Trichophyton</i>	+	
<i>Claviceps</i>		+
<i>Fusarium</i>		+
<i>Candida</i>	+	
<i>Stachybotrys</i>		+

Civcivde 2,5 ppm AFB<sub>1</sub> içeren rasyon 3 haftada ikter, koagülasyon bozukluğu, gelişmede gecikme, bursa fabricicusta atrofi ile fosfataz alkali, laktaz dehidrojenaz aktivitesinde azalmaya; lezyon olarak karkasta depigmentasyon ile hepato-selüler lipodiz, nekroz, lenfosit infiltrasyonu ve safra kanallarında proliferasyon ile karakterize olan hepatik bozukluklara neden olmuştur. Aynı zamanda glomerüler membranda kalınlaşma ve proksimal tübül hücrelerinde dejenerasyon ile karakterize renal lezyonlar da gözlenmiştir. Bu lezyonlar AFB<sub>1</sub> verilmesinden 3 hafta sonra kaybolmuştur. Aflatoksikozda pankreas, proventrikül ve kalp de ağırlık artışı da şekillenmiştir. Tavuklar, civcivlere oranla daha dirençlidir. 1 ppm AFB<sub>1</sub> içeren rasyonla 3 hafta beslenme sonunda klinik semptom ve hepatik lezyon görülmemiştir. 1,68 ppm AFB<sub>1</sub> içeren yemle 28 gün süre ile beslenen yumurta tavuklarında karaciğer, dalak ve böbrekte büyüme ile hepatik hemoraji ve yumurta veriminde azalma görülmüştür. Kanatlılarda aflatoksinler immun sistemde baskılanmasına neden olmaktadır. Ördek, aflatoksinlere çok duyarlıdır. LD<sub>50</sub> değeri 0,34-0,56 mg/kg (oral) ya da ördek yavruları için 30 µg total aflatoksindir. Bu nedenle, ördek palazları aflatoksinlerin deteksiyon, identifikasyon ve semi-kantitatif dozajı için biyolojik test aracı olarak kullanılır. Oral yolla 0,1 mg/kg AFB<sub>1</sub> 48-72 saat içinde safra kanallarında hiperplaziye daha sonraki günlerde de hepatik fibroz, nodüler hiperplazi ve birkaç haftada da hepatik tümöre neden olur. 50 ppb AFB<sub>1</sub> 15 günde gelişmede gecikme hepatik fonksiyon bozuklukları sonucu da plazma enzim parametrelerinde değişikliğe neden olur. Hindide, İngiltere’de 1960 yılında 200.000 hindinin ölümüne neden olan hastalık etiyoloji belirlenmeden önce, “Turkey X disease “ olarak adlandırılmıştır. Bu tür ördeklere oranla daha az duyarlıdır. 200 ppb AFB<sub>1</sub>’li yeme 5 hafta tolare edebilen hindilerde ilk 15 gün herhangi bir semptom ve lezyon

görülmemiştir. Akut, subakut ve kronik aflatoksikoziste hepatik lezyonlar ördeklere benzer, bu türde renal dilatasyon ve konjesyon daha sık görülür (Şener ve Yıldırım 2000).

Aflatoksinlerin etçi piliçlerde bağışıklık sistemi üzerine etkisi ile ilgili yapılan bir çalışmada, Rose-PM3 ırkı, günlük 50 adet etçi civciv kullanılmıştır. Civcivler biri kontrol (I. Grup) dördü deneme olmak üzere (II., III., IV., V. Grup) beş gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna normal yem, deneme gruplarına sırasıyla 0,05, 0,1, 0,5 ve 1 ppm total aflatoksin içeren yem otuz gün süre ile verilmiştir. Hayvanların bağışıklık sistemi B. abortus suşu kullanarak uyarılmıştır. Çalışmanın, 15. ve 30. günlerde kan alınmış, eş zamanlı olarak Bursa fabrisius ve timüsün ağırlıkları tespit edilmiş ve bu organların histopatolojisi incelenmiştir. Elde edilen verilerden hareketle, otuz gün süre ile 0,5 ppm ve 1 ppm aflatoksin alan hayvanların bağışıklık sisteminde baskılanma tespit edilmiştir. Buradan da, yüksek dozlarda (0,5-1 ppm) uzun süre (30 gün) aflatoksin alımı durumunda piliçlerde bağışıklığın baskılanabileceği anlaşılmıştır (Eraslan ve ark. 2003).

### **2.3.3. Aflatoksinlerin Domuzlar Üzerine Etkileri**

Domuzlarda durgunluk, anoreksia, sütte azalma, zayıflama, büyümede gerileme, sarılık, serumdaki gama globulinlerde azalma, dokularda hemorajiler, plazma enzim düzeyinde artış, kanın pıhtılaşma süresinde bozukluklar, karaciğerde çeşitli dejenerasyonlar görülür. (Aydın 2007)

Aflatoksinlere duyarlı olan bu türde kontamine yemler akut ve subakut zehirlenmeye neden olabilmektedir. Akut zehirlenme anoreksi, sentral nervöz depresyon, ikter, hemorajik hepatit, hemorajik gastroenterit ve şiddetli dehidretasyonla seyrederek. Bu bulgularla seyreden sendrom aflatoksinlerin identifikasyonlarından önce Amerika'da "moldy corn disease" olarak adlandırılmıştır. Deneysel haftalık 12-15 kg'lık domuz yavrularında 1.2 mg/kg AFB<sub>1</sub> ile (oral) toksikozis oluşturulabilir. Klinik semptomlar yanında serum alkalik fosfatase, sorbitol dehidrogenaz gözlenir. Sitolizle yaygın hepatit gelişir. Karaciğerin mikroskopik yoklamasında ilk 24 saatten sonra sentrolobüler dejeneratif bozukluklar görülür. Bu lezyonlara 48 saat sonra lökosit, monosit ve makrofaj infiltrasyonu, 72 saat sonra da sentrolobüler hepatositlerde lipidik vakuoller eşlik eder. 6 haftalık domuz yavrularında 28 gün süre ile 1 ppm AFB<sub>1</sub> gelişmede gecikmeye neden olur. Bu subakut formun biyolojik bulguları hepatit ve kolestazdır. Histopatolojik olarak da intralobüler fibroz, safra kanalcıklarında hipertrofi ve perikortal lipidoz ile lenfosit infiltrasyonu karakteristiktir (Şener ve Yıldırım 2000).

#### **2.3.4. Aflatoksinlerin Koyunlar Üzerine Etkileri**

Koyunlar AFB<sub>1</sub>'e diğer hayvanlardan çok daha dirençlidirler. Deneysel intoksikasyonlarda hayvanlarda kanlı ishal, salivasyon, hızlı solunum, pireksia ve karaciğerde sentrilobular nekrozlar oluşabilir (Aydın 2007).

#### **2.3.5. Aflatoksinlerin Balıklar Üzerine Etkileri**

Şişman ve ark. (2007) yaptığı bir çalışmada, toksik bir küf metaboliti olan Aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>)'in *Danio rerio* embriyolarının gelişimi üzerine olan teratojenik etkileri araştırılmıştır. Artan konsantrasyonlarda AFB<sub>1</sub> uygulanan balık embriyolarında çeşitli anormallikler 96 saat süreyle gözlenmiştir. Bu anormallikler Rasisis (gelişimde gerileme), Lordoz (vertebra anormalliği), kardiyak ödem, çeşitli vücut kısımlarının oluşmamasıdır. AFB<sub>1</sub>'e maruz kalma süresi ve konsantrasyon arttıkça anormalliklerin görülme sıklığı ve ölümler de artmıştır. Hemen hemen bütün dozlarda anormallikler gözlenmiş ancak kontrol gruplarında hiçbir anormallik gözlenmemiştir. Kontrol ve deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05). AFB<sub>1</sub>'in neden olduğu malformasyonların olası mekanizması tartışılmıştır. Çalışmada, AFB<sub>1</sub>'in Zebra balığının embriyoları üzerine olan teratojenik etkileri incelenmiştir. İncelemelerde AFB<sub>1</sub>'in balık embriyolarında çeşitli hatalara yol açtığı belirlenmiştir. Bunların başlıcaları ölümlerin artması, gelişimde gerileme, çeşitli vücut kısımlarının oluşmaması ve vertebra defektleridir. Aflatoksinlerle ilgili çalışmalarda, aflatoksinlerin rat ve gökkusagı alabalığında, çiftlik hayvanlarında ve maymunlarda karsinojenik ve toksik etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Mikotoksinler ve özellikle aflatoksinler DNA, RNA ve protein gibi hücresel makromoleküllere afinite gösterirler ve onların sentezini inhibe ederler. DNA'ya bağlı RNA polimeraz aktivitesi de bloke edilir. Makromoleküllerin inhibisyonundan, sitokrom p-450 ve aril hidrokarbon hidroksilaz gibi bir takım enzimlerin etkisi sonucu ortaya çıkan metabolitlerin sorumlu olduğu bildirilmektedir. Bu metabolitler ise muhtemelen, AFB<sub>1</sub>-8,9-epoksit ve AFB<sub>1</sub>-2,3-epoksittir. Moleküler düzeyde yapılan araştırmalar, AFB<sub>1</sub> metabolitlerinin hücre DNA'sına bağlandığını, hedef bazın guanin olduğunu ve AFB<sub>1</sub>-8,9 epoksidin DNA'daki guanine bağlanarak 8,9 dihidro-9-hidroksi (N7-guanil) AFB<sub>1</sub> formu oluştuğunu göstermiştir. Bu form AFB<sub>1</sub>-DNA kompleksinin %90'ını oluşturmakta ve böylece DNA'da promotajenik alanın artmasıyla tümör oluşumu başlamış olmaktadır. Yapılan diğer bir araştırmada, ergin Zebra balıklarına 50- 400 µg/kg arasında değişen dozlarda AFB<sub>1</sub> 24 saat süreyle injekte edilmiş ve sonuçta

karaciğer kanseri gözlemlenmiştir. Bu durum ise AFB<sub>1</sub>'in balık vücudunda hızlı bir şekilde metabolize olarak (biyoaktivasyon ve biyoakümülyasyon) DNA'ya bağlanmasıyla izah edilmiştir. Sonuç olarak denilebilir ki, AFB<sub>1</sub> Zebra balığının embriyoları üzerinde teratojenik etkiye sebep olmaktadır. Genetik yapıdaki düzensizliklerden dolayı ksenobiyotik (xenobiotik) metabolizma enzimlerinin eksikliği ya da sentezlenmemesi (arilhidrokarbon hidroksilaz gibi) detoksifikasyon mekanizmasının çalışmasını engellemekte; bu da Zebra balığının çeşitli gelişim dönemlerinde toksik etki ya da mortaliteye sebep olmaktadır (Şişman ve ark. 2007).

### **2.3.6. Aflatoksinlerin Atlar Üzerine Etkileri**

Oral yolla LD<sub>50</sub> değeri 0,6-1 mg/kg'dır. Akut aflatoksikoziste ensefalomalasi, safra kanallarında hiperplazi, hepatik fibroz, böbrekte yağ infiltrasyonu, sindirim kanalında hemoraji ve miyokard dejenerasyonu bildirilmiştir. Bu olguların mısır yönünden zengin ve 216-940 ppb AFB<sub>1</sub> içeren rasyondan kaynaklandığı ve karaciğerde de AFB<sub>1</sub> bulunduğu belirlenmiştir. Yine 0,075 mg/kg aflatoksin içeren rasyonun 36-39 gün süre ile yedirilmesi sonucu tayda subakut aflatoksikozise neden olduğu saptanmıştır. Safra kanallarında da proliferasyon, biliyer stazis ve nefroz görülmüştür. 0,5-7,4 mg/kg AFB<sub>1</sub> oral yolla hipertermi, taşikardi, kolik, kanlı dışkı ve konvülsiyona neden olmuş; bu olgu da histopatolojik olarak hepatik nekrozi hepatositlerde vakuolizasyon ve safra kanallarında hiperolazi rapor edilmiştir (Şener ve Yıldırım 2000).

### **2.3.7. Aflatoksinlerin Tavşanlar Üzerine Etkileri**

Aflatoksinlere aşırı duyarlılığı nedeniyle deneysel çalışmalarda en çok kullanılan memelidir. Akut aflatoksikozis (0,4 mg/kg, oral) yem-su tüketiminde azalma, kilo kaybı, dehidratasyon ve uyuşuklukla karakterizedir. Bu bulgulara serum asparatat aminotransferaz aktivitesinde ve bilirubin düzeyinde artış eşlik eder. Solgun ve gevşek karaciğer, histopatolojik olarak da hepatositler nekroz, hemoraji ve safra kanallarında proliferasyon dominant lezyonlardır. Subakut form 01 mg/kg/gün dozda ve 5-15 günlük periyotta şekillenir. Zehirlenmenin bu şekilde kilo kaybı ve yem tüketiminde azalma klinik tabloya egemendir. Mikroskopik olarak karaciğerde dejenerasyon, periportal hepatositlerde vakuolizasyon, safra kanallarında poliferasyon, konjktiv skleroz ve hepatositer hiperplazi nodülleri görülür. Bu lezyonlara laktat dehidrogenaz, alkalın fosfataz, asparatat aminotransferaz, alanin aminotransferaz ve



plazma bilirubin düzeyinde artış eşlik eder. Aynı zamanda lökositemi azalmış, koagülasyon zamanı da net bir şekilde uzamıştır (Şener ve Yıldırım 2000).

### **2.3.8. Aflatoksinlerin İnsanlar Üzerine Etkileri**

Mikotoksinlerin insanlar üzerine etkilerini net olarak söyleyebilmek olanaklı değildir. İnsanlar üzerinde direkt araştırmalar yürütülemediğinden toksisite denemeleri en duyarlı hayvan olan ördek yavruları, fareler ve ratlar (sıçan) kullanılarak genellikle oral dozlar bazen de subkutan yolla (deri altı enjeksiyonları ) ile yapılır. Bir mikotoksinin toksisitesi belli bir hayvan türü için onun letal dozu (LD 50) ile belirtilir. Bu değer hayvanlarda kilogram başına bazen de birey başına düşen doz (mg, µg, ng ) olarak verilir. Hayvan denemelerinde akut ve kronik etkileri saptanan mikotoksinlerin insanlar için de tehlikeli olacağından kuşku duyulmamalıdır. En azından bu mikotoksinlerin gıdalarda ve yemlerde bulunması tolare edilmemelidir. Mikotoksinlerin vücutta etkili oldukları organ ve dokulara göre veya etki mekanizmalarına bağlı olarak çeşitli etkilerinden söz edilir. Karaciğere etki edenler hepatotoksik, deriye etki edenler dermatoksik, böbreklere etki edenler nefrotoksik, sinir sistemine etki edenler nörotoksik, bağışıklık sistemini etki edenler immunotoksik olarak tanımlanırlar. Toksik etkilerinden başka mutajenik, kanserojenik, teratokjenik, halusinojenik, östrojenik, tremorjen etkileri de görülebilmektedir. Mikotoksinlerin çeşitli biyolojik etkileri onların reaksiyonca aktif kimyasal yapılarından ileri gelir. Küçük molekülü bu bileşikler metabolizmada önemli işlevleri olan çok sayıdaki molekülün reseptörleri olarak davranırlar. DNA, RNA fonksiyonel proteinler, enzim kofaktörleri, membrandaki kimyasal yapılar ile reaksiyona girerler. Hormon aktivitesine etkili olurlar, biyosentez yollarını ve enerji üretimini inhibe ederler. Örneğin difuran kumarin derivatı olan AFB<sub>1</sub>'in kabul edilen etki mekanizması, toksin molekülünün DNA'ya bağlanarak RNA-polimeraz enziminin çalışmasını inhibe ettiği şeklindedir. mRNA sentezinin yapılamaması protein sentezinin gerçekleşmesini engeller. Hepatotoksik ve kanserojen olan AFB<sub>1</sub>'in karaciğer kanserine neden olması molekülün nükleik asitlere etkisinin sonucu olarak görülür (Şener ve Yıldırım 2000).

Aflatoksinlerin akut toksisitesi deney hayvanlarında bu şekilde gözleendiği gibi, insanlarda akut zehirlenme yaptığını gösteren olaylar da literatüre geçmiştir. Tayvan'da küflü pirinç tüketen 26 kişi hastalanmış ve bunların arasında 3 çocuk, ayaklarda ödem, karın ağrısı, kusma, karaciğerde büyüme gibi belirtilerden sonra ölmüştür. İncelenen pirinç örneklerinde 200 ppb aflatoksin B1 bulunmuştur. Uganda'da 15 yaşında bir çocuk, Tayvan'daki çocuklara

çok benzer belirtilerle ölmüş ve bu çocuğun da 1,7 ppm aflatoksin içeren “cassava” yediği belirlenmiştir. Patolojik bulgu olarak akciğerde ödem, kalp yetmezliği, karaciğerde nekroz ve yağlanma görülmüştür. Aynı aileden iki çocuk daha hastalanmış, ancak daha az yedikleri için kurtulabilmişlerdir. Tayland’da da 3 yaşındaki bir çocuk “Reye’s sendromu” sonucu ölmüş ve çocuğun 2 gün önce yediği pirincin 10 ppm aflatoksin içerdiği saptanmıştır (Bullerman 1979).

1974’de Hindistan’da, 15 ppm kadar yüksek düzeyde aflatoksin içeren kontamine mısırı yiyen 320 kişinin %25’i ölmüştür. Ancak bu kadar yüksek bir kontaminasyonla karşılaşma olasılığı çok azdır (Pohland 1993). Birçok araştırmada, çocuklarda görülen ve kusma, hipoglisemi, konvulsiyon (kıvrınma, çırpınma) ve koma ile karakterize olan, çoğu kez de ölümlü sonuçlanan Reye’s sendromu ile aflatoksin alımının ilişkisi olabileceği birçok araştırmada da ileri sürülmektedir(Bullerman 1986).

#### **2.4. Gıdalarda ve Yemlerde Aflatoksin Sınır Değerleri**

Gıda ve yem maddelerinde mikotoksin sınır değerleri Çizelge 2.4’de ve Çizelge 2.5’te verilmiştir. AFB<sub>1</sub> sınır değerleri; tahıllar ve tahıl ürünleri 2 ppb, diğer gıda maddelerinin ise 5 ppb olduğu, süt sığırları için tam yemlerde ise AFB<sub>1</sub> sınır değerinin 5 ppb olduğu görülmektedir.

**Çizelge 2. 4.** Gıda Maddelerinde Maksimum Mikotoksin Seviyeleri (Anonim 2002)

Gıda Maddesi	Maksimum Seviye (ppb)				
	Aflatoksin			Okratoksin A	Patulin
	B <sub>1</sub>	B <sub>1</sub> +B <sub>2</sub> +G <sub>1</sub> +G <sub>2</sub>	M <sub>1</sub>		
Fındık, yer fıstığı ve diğer yağlı kuru meyveler, yağlı tohumlar, incir üzüm ve kurutulmuş meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar	5	10			
Tahıllar (karabuğday <i>Fagopyrum</i> sp.dahil) ve tahıl ürünleri	2	4			
Süt			0,05		
Süt tozu			0,5		
Peynir			0,25		
Bebek mamaları ve devam formülleri (süt bazlı)			0,05		
Bebek mamaları ve bebek gıdaları	1	2			
Baharat	5	10			
Diğer gıda maddeleri	5	10			
İşlenmemiş tahıl taneleri (çeltik ve karabuğday dahil)				5	
Tahıllardan elde edilen bütün ürünler (tahıl bazlı işlenmiş ürünler ve doğrudan insan tüketimine sunulan tahıl taneleri)				3	
Kuru üzüm				10	
Elma suyu ve elma suyu içeren içecekler ve sirkeler					50

**Çizelge 2. 5.** Yem Maddelerinde Maksimum Aflatoksin Seviyeleri (Anonim 2002)

Yemler	AFB <sub>1</sub>
Yem Maddeleri	20
Sığır koyun ve keçi tam yemleri; Aşağıdakiler dışında	20
Süt sığırları için tam yemler	5
Buzağı ve kuzular için tam yemler	10
Kanatlı ve domuz tam yemleri; genç hayvanlar hariç	20
Diğer tam yemler	10
Sığır koyun ve keçi tamamlayıcı yemleri; süt hayvanları buzağı ve kuzu yemleri hariç	20
Kanatlı ve domuz tamamlayıcı yemleri; genç hayvanlar hariç	20
Diğer tamamlayıcı yemler	5

## 2.5. Aflatoksinlerin Yıkımlanması

Aflatoksinler arasında en güçlü etkili olan AFB<sub>1</sub>'in moleküler yapısı fiziko-kimyasal ve biyokimyasal olarak incelendiğinde, toksikolojik etkiden sorumlu iki önemli yapıdan söz edilebilir. Birinci yapı, furan halkasında bulunan 8 ile 9 uncu karbon atomları arasındaki çift bağıdır. Aflatoksin ile DNA ve protein yapıları arasındaki etkileşme bu yapıdan kaynaklanır ve sonuçta hücresel düzeyde zararlı etkiler ile biyokimyasal fonksiyonlarda değişimler meydana gelir. İkinci yapı ise kumarin türevlerindeki lakton halkasıdır. Aflatoksinlerin yıkımlanmasında etkili olan bu yapı kolaylıkla hidrolize olabilir niteliktedir. Yıkımlanma olayı, furan halkasındaki çift bağı doyurulmasıyla veya lakton halkasının hidrolize olup açılmasıyla gerçekleşir. Buradaki değişiklikler önce lakton halkasında başlar ve sonra furan halkasının çift bağı doyurularak toksinin yıkımlanması sağlanır (Kaya ve Yarsan 1995).

Aflatoksinle bulaşık gıdaların ve yemlerin detoksifikasyonu için akla gelebilecek her yöntem denenmiştir. Aflatoksin gıdalar içerisinde çok stabildir. Termoresistans özelliğinden dolayı pastörizasyon, buharla pişirme, fırında pişirme ve hatta sterilizasyon yöntemleri ile toksinin parçalanması olanaklı değildir (Aydın 2007).

### 2.5.1. Fiziksel Yöntemlerle Aflatoksinlerin Yıkınlanması

Fiziksel metotlarla aflatoksinlerin yıkınlanmasında en önemli yeri ısı uygulaması tutar. Saf ve susuz şekildeki aflatoksinlerin, ergime noktalarına kadarki sıcaklıklara dayanıklı oldukları bilinmektedir. AFB<sub>1</sub> kuru havada dayanıklıdır: Ergime noktası 260 °C'dir ve 269 °C'de yıkınlanır. Yerfıstığı ve mısır yağlarında 250 °C'ye kadar AFB<sub>1</sub> miktarında değişiklik meydana gelmeyebilir. Rafine edilmemiş yerfıstığı yağları 250 °C de 10 dakika ısıtıldıklarında AFB<sub>1</sub> miktarı %96 oranında azalmakta, 160 °C'de 30 dakika kavruan yerfıstıklarında ise 100 ppm'den 5 ppb'ye düşmektedir. Yemlerde aflatoksinler bakımından önemli bir kirlenme kaynağı olan mısırdaki, 145-165 °C'de kavrulma işleminden sonra AFB<sub>1</sub> yoğunluğu %40-80 azalmaktadır. Doğal olarak bulaşık mısırlarda AFB<sub>1</sub>'in %28'i haşlama ve yağda kızartma işleminden sonra parçalanmaktadır. Saf haldeki aflatoksinler, sulu çözeltilerde, 120 °C'de 4 saat otoklav işleminden sonra floresans vermeyen türevlere dönüşürler. Sulu çözeltilerde AFB<sub>1</sub> miktarında 120 °C'de 20 dakika otoklav işleminden sonra %20 azalma olabilmektedir. Aflatoksinlerin sulu çözeltilerde lakton halkasının açılması ve dekarboksilasyon gibi hidrolitik olayların etkisiyle, ısıya karşı dayanıklılığının azaldığı bilinmektedir. Ekmeğin pişirilmesi sırasında uygulanan ısı işleminin aflatoksinlerin parçalanmasına yeterli olmadığı, buna karşın hamur yapımında özellikle yoğurma işlemi sırasında, muhtemelen oksidatif veya hidrolitik olaylar nedeniyle, aflatoksin miktarında önemli bir azalma olabilmektedir. Pastörizasyon ve sterilizasyon işlemleri sırasında ise sütlerde aflatoksinlerin kısmen yıkınlanmaya uğradığı gözlenmiştir. Bu yıkınlanma (%22-28) daha çok sterilizasyon işleminde ortaya çıkmaktadır. Yıkınlanma için etkili bir yöntem olan ısıyla muamele işleminde, yüksek sıcaklıklara kadar çıkılırsa, besinin organoleptik kalitesinde ve besleyici özelliklerinde değişikliklerin olabilmesi söz konusudur (Kaya ve Yarsan 1995).

Pastörizasyonun etkisi aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub> içeren elma sularında denenmiş ve 120 °C gibi yüksek sıcaklıkta 10 dakika tutulsalar dahi toksinin %10 oranında elma sularında kaldığı belirlenmiştir. Sütte bulunan AFM<sub>1</sub>'in de pastörizasyonla yıkınlanmasının olanaksız olduğu açıktır. Yüksek sıcaklık uygulamaları en fazla yerfıstığı, ceviz, fındık veya yerfıstığı unu ve kombine ürünlerde denenmiştir. Pişirme ve fırınlama işlemleri yetersiz kalınca kavurma ve kombine işlemler üzerinde yoğun çalışmalar yapılmıştır. 50 ppb aflatoksin içeren yerfıstığı yağı 160 °C de 60 dakika ısıtıldığında toksin miktarı ancak 40 ppb ye kadar düşürülürken, 100 ppb aflatoksin içeren yerfıstıkları 160 °C de 30 dakika kavru olduklarında aflatoksin miktarı 0,5 ppb düzeyine indirilebilmiştir. Bir başka denemede 150 °C de 90 dakika kavruan

yerfıstıklarında AFB<sub>1</sub> miktarında %60 oranında düşüş sağlanmıştır. Yerfıstığı unlarına uygulanan kombine işlemlerde fıstıklar, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında pH 9,5 de ve 80 °C de 30 dakika tutulduğunda toksinin tamamının detoksifikasyonu başarılmıştır. Su, tuz çözeltileri ve organik çözücüler kullanılarak aflatoksin ekstraksiyon yolu ile gıda ve yemlerden arındırılması genellikle çok iyi sonuçlar vermemekle birlikte bazı ürünlerde uygulanabilir bulunmuştur. Örneğin mısır ıslak öğütüldüğünde afatoksin içeriğinin %45'i suya geçmekte, %35'i selüloz, %15'i protein fraksiyonda, %10'u da embriyoda kalmaktadır. Yağlı tohumlardan, aflatoksinin arındırılması amacıyla denenen etanol ve prapanol ekstraksiyonlarının başarısı %10 redüksiyonu ile sınırlı kalmıştır. Aflatoksinlerin yıkımlanması amacıyla yapılan bir başka yöntem de ışınlama işlemidir. Bu konuda yapılan çalışmalar, ışınlamanın hem *Aspergillus* türü küfler ve aflatoksin oluşumuna etkisi ve hem de mevcut aflatoksinleri yıkımlayıcı etkisi üzerinedir. 0,1-0,5 KGy dozlardaki ışınlamanın *Aspergillus flavus*'un aflatoksin meydana getirme yeteneğini etkilemediği bilinmektedir. Işınlama olayında en etkili olan ve en çok kullanılan gama ışınlarıdır. Gama ışınlarıyla yapılan yıkımlamada da doz ayarlaması önemli bir konudur. Düşük dozda uygulanan gama ışınları *Aspergillus* türü mantarların üremesini hızlandırmaktadır. Besinlerin gama ışınlarına maruz bırakılması sırasında ışınlama süresi uzarsa, bu durumda zehirli yıkımlanma ürünleri de oluşabilir. Gama ışınları ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in birlikte uygulanması sonucu mikotoksinler daha iyi yıkımlanabilmektedirler. Bu durumun, ortaya çıkacak serbest O<sub>2</sub> gruplarıyla aflatoksin molekülünün tepkimeye girmesinden kaynaklandığı düşünülürse de, konuyla ilgili net bir görüş yoktur (Aydın 2007).

Aflatoksinlerin yıkımlanması amacıyla ultraviyole ışınları (UV) ve güneş ışığı da kullanılmaktadır. Bu durumda solar yıkımlamaya karşı hassas olan furan halkasında değişiklikler meydana gelir ve çift bağda açılma şekillenir. UV ışınların kullanılması sonucu, aflatoksin molekülünde kopmalar meydana gelerek, 12 den fazla yıkımlanma ürünü oluşur. Ayrıca UV ile muamele sonucu gıda maddelerinde oksidatif değişiklikler ve kalitesinde bozulmalarda meydana gelir. Aflatoksinlerin yıkımlanması amacıyla güneş ışınları özellikle ürünün kurutulması aşamasında etkili olmaktadır (Kaya ve Yarsan 1995).

### **2.5.2. Mikrobiyolojik Yöntemlerle Aflatoksinlerin Yıkımlanması**

Bazı mikroorganizmalar aflatoksini metabolize edebilme yeteneği gösterirler ve toksini daha az toksik bileşiklere çevirirler. Sayıları çok sınırlı olan bu mikroorganizmalar içinde sadece *Aspergillus niger* grubundan bazı küfler yer alır. Bu küfler toksik olan AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub>'i çok

daha az toksik olan AFB<sub>2</sub> ve AFG<sub>2</sub>'i derivatlarına çevirebilirler. Bakterilerden de *Flavobacterium aurantiacum* NRBI B-184 suşu. Test edilen yaklaşık 1000 mikroorganizma içerisinde aflatoksini adsorbsiyon yolu ile elemine eden tek bakteridir (Aydın 2007). Fiziksel ve kimyasal yöntemlerin uygulama zorluğu, pahalı bir yatırımı gerektirmesi ve yemdeki oluşturdukları organoleptik ve fiziksel bozukluklar araştırmacıları biyolojik ürünlerin kullanılmasına itmiştir. Bu bağlamda bazı bakteri türleri (Laktobasiller) ile *Saccharomyces cerevisiae* türü mayalar bu amaçla denenmiş ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Söz konusu maya türü doğrudan yeme ilave edilebileceği gibi maya hücre duvarından elde edilen glucomannan veya esterleşmiş şekli mannanoligosakkaritler de kullanılmaktadır (Basmacıoğlu ve Ergül 2003).

**Çizelge 2. 6.** Farklı bakteri türleri ile maya hücre duvarından elde edilen biyolojik ürünlerin toksin bağlama kapasiteleri

<b>Mikroorganizma</b>	<b>Mikotoksin</b>	<b>Bağlama kapasitesi (%)</b>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (G.G.)	AFB <sub>1</sub>	80
<i>Propionibacterium</i>	AFB <sub>1</sub>	80
<i>Bifidobacterium bifidum</i> HY türü	Aflatoxin B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> ve G <sub>2</sub>	74, 80 ve 80

Kaynak: Basmacıoğlu ve Ergül 2003

### 2.5.3. Enzim, Vitamin ve Amino Asitlerin Aflatoxinler Üzerine Etkisi

Mikotoksinlerin detoksikasyonunda en yeni tekniklerden biri de toksinli yemlere enzim ilavesidir. Enzimler mikotoksin molekülleri içindeki atomik grupları parçalayarak toksik etkisi olmayan bileşiklere dönüştürürler. Son bir kaç yıldır mikotoksin kontrolünde yemin vitamin ve aminoasit içerikleri üzerinde yoğun olarak durulmaya başlanmıştır. Vitamin C'nin sadece antioksidant özelliği ve bağışıklık sistemi üzerinde etkili olmadığı aynı zamanda mikotoksin kontrolünde de etkili olduğu belirtilmiştir. AFB<sub>1</sub>'in toksik etkisi AFB<sub>1</sub> 8,9 epoksid ve daha sonra da AFB<sub>1</sub> dihydrodiol dönüşümü ile bağlantılıdır. Oluşan epoksid nükleik asitin bağlanmasını ve dihydrodiol üretimini gerçekleştirir. Dihydrodiolde lisini bağlayarak protein aktivitesinde azalmaya neden olur. Vitamin C AFB<sub>1</sub> epoksidasyonunu bloke etmede önemli bir potansiyeldir. Son yıllarda mikotoksin kontrolünde ortaya atılan diğer bir görüşte mikotoksin ile bulaşık yemlere fazla miktarlarda methionin ilavesinin yapılması gerekliliğidir. Mikotoksinler bağırsaklar tarafından absorbe edilirler, kana karışırlar ve karaciğerde detoksifiye olurlar. Biyolojik olarak karaciğerde aflatoksinin detoksifiye edilmesi glutathiona

bağlıdır. Glutathion kısmen methionin ve sistinden oluşur ve böylece methionin düzeyindeki azalma sonucunda büyüme ve hayvanın performansı olumsuz yönde etkilenmektedir. (Basmacıoğlu ve Ergül 2003).

#### **2.5.4. Kimyasal Yöntemlerle Aflatoksinlerin Yıkınlanması**

Aflatoksinin kimyasal yapısında bulunan lakton bağı onları alkalilere duyarlı kılar, ayrıca oksidan maddelere karşı da aflatoksin stabilitesini koruyamaz. Pek çok kimyasal madde aflatoksinin inaktivasyonunu sağlar. En etkili olanları; amonyak, klor gazı, hidrojen peroksit, sodyum hipoklorit ve ozondur. Bu maddelerin kullanılması ile detoksifikasyon sağlanabilirse de gıdalarda ve yemlerde istenmeyen değişiklikler meydana geldiğinden veya bazı maddelerin besin değeri azaldığından özellikle gıda sektöründe kullanılmaları olanaklı değildir. Yemlerin detoksifikasyonunda bir dereceye kadar alkali uygulamasından yararlanılabilir. Yem maddelerine amonyak gazı verilmesi pratikte en fazla değer taşıyan yöntemdir. Bu türlü yemler hem çiftlik hayvanlarının beslenmesinde hem de Gökkuşluğu alabalığı yetiştiriciliğinde kullanılır. Pamuk tohumu ve yer fıstığı küspelerinden aflatoksinin detoksifikasyonunda amonyak uygulamasının başarısı diğer alkalilerden üstündür. Yer fıstığı ve pamuk yağlarından ekstraksiyon sonrası kalan az miktardaki aflatoksinin giderilmesinde de alkali ekstraksiyonundan yararlanılır (Aydın 2007).

Aflatoksinlerin yıkınlanmasında kullanılan kimyasal maddelerin başlıcaları; klorlaştırıcı maddeler (sodyum hipoklorid, klordioksit, gaz halindeki klor); oksitleyici maddeler (hidrojen peroksit, ozon ve sodyum bisülfid) ve hidrolitik maddeler (asitler ve alkaliler)'dir (Kaya ve Yarsan 1995) .

#### **2.6. Dünyada ve Türkiye’de Aflatoksin Üzerine Yapılan Çalışmalar**

Janicki ve ark. (1975) Polonya’da süt tozu, buğday, arpa, çavdar ve yulaftan oluşan tahıl ürünlerinden toplamışlar ve aflatoksin B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> ve M<sub>2</sub> için ürünleri analiz yapmışlardır. Sonuç olarak süt tozunda hiç bulunmazken, 35 adet tahıl ürünlerinden bir tanesinde aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>’e rastlamışlardır.

Virginia, Kuzey Carolina, Missouri, S. Illion ve Kentucky’de yapılan bir çalışmada toplanan buğday ve soya örneklerinin tamamında aflatoksine rastlanmamıştır. Ancak 42 buğday örneğinin 19 tanesinde Zearelonone’a rastlanmıştır (Shotwell ve ark. 1977).



Chelkowski ve ark. (1978) Polonya'da çeşitli gıda maddeleri ve yağlı tohumlar ve hububatlarda aflatoksin kontaminasyonunu incelemişler, gıdalarda 21 örnekten bir tanesinde 8,4 µg/kg, 24 arpadan 1 tanesinde 15,3 µg/kg AFB<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. Çavdar ve yulaf örneklerin de aflatoksine rastlamamışlardır.

İtalya'da önemli gıda ve yemler toksikolojik olarak incelenmiş buğdayların üç tanesinde 20-50 µg/kg arasında aflatoksin bulunmuştur (Bottalic 1979).

Yugoslavya'da yapılan çalışmada 14 farklı türden oluşan gıda örneklerinden 666 adet örnek toplanmış ve AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub>, Okratoksin ve Zearalenon analizi yapılmıştır. Bu örneklerin %26'sında (173 örnek) AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> bulunmuş, bunun %22,9'unda 5 ppb'den düşük, %1,5'inde 10 ppb'den düşük ve % 1,5'inde 10 ppb'den yüksek aflatoksin tespit edilmiştir. Tahılların toplam 242 örneğinden % 51,3'ün de AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> kontaminasyonuna rastlanmıştır (Pantovic ve Adamovic 1980).

Kulmanov (1982), Alma-Ata ve Dzhangbul'da mısır, buğday, arpa, darı ve pirinçten oluşan 160 adet depolanmış tahıl ürünü toplamış, TLC kullanarak aflatoksin analizi yapmıştır. Sonuçta buğdayın %4-5'inde 5-10 µg/kg arasında AFB<sub>1</sub> tespit edilmiştir.

Miguel ve Andus (1982), 15 farklı üründe TLC yöntemi kullanarak aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, Okratoksin A ve Zearalenon analizi yapmışlar, buğdayda 3 µg/kg toplam aflatoksin tespit etmişlerdir.

Virginia'da 1976-1980 arasında her yıl 100 örnek toplanmış ve örneklerde aflatoksin, zearalenon ve okratoksin A için analiz yapılmıştır. Örneklerin tamamında ne aflatoksin ne de diğer mikotoksin türüne rastlanmamıştır (Shotwell ve Hesseltine 1983).

Polonya'da yapılan başka bir çalışmada ise 44 arpa, 42 buğday, 45 çavdar numunesi toplanmış ve TLC kullanılarak mikotoksin analizi yapılmıştır. Arpanın ve buğdayın sadece bir tanesinde 20-26,4 µg/kg arasında AFB<sub>1</sub> olduğunu belirlenmiştir (Czerwiecki 1982).

Kazakistan'da yapılan bir çalışmada 1980-1982 yılında 657 buğday, 339 un, 301 pasta, 97 yulaf, 161 pirinç ve 20 süt numunesinden oluşan toplam 1575 örnek toplanmış ve bu örneklerin mikoflora ve aflatoksin düzeyi kontrol edilmiştir. Unda ve pastada *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans*, *Penicillium* sp. olduğu saptanmıştır. Gıdalarda aflatoksin bulunmamış, fakat süt tozundan yapılmış ve şişelenmiş veya polietilenle paketlenmiş on tane sütte aflatoksin B<sub>1</sub> düzeyinin 01-0,5 µg/l, ikisinde de AFM<sub>1</sub> düzeyinin µg/l olduğu ve özellikle AFB<sub>1</sub>'in yanlış depolama sonucunda ortaya çıktığı ifade edilmiştir (Sharmanov ve ark. 1984).

Aflatoksinlerin keşfinden günümüze kadar yapılan çalışmalar, genellikle tropik ve subtropik bölgelerde yetişen yağlı tohumlar, yerfıstığı, mısır, sert kabuklu meyvelerde aflatoksin

oluşturduğunu, esas olarak küflü gıdalarda görülmesine karşın gözle görünür şekilde küflenme olmayan ve direkt olarak insan tüketimine uygun görülen gıdalarda da aflatoksin bulunabileceğini göstermiştir. Araştırmalar aflatoksinle bulaşık yem yiyen hayvanların et, süt ve yumurtalarının önemli sayılabilecek miktarda aflatoksinin geçtiği ve insan sağlığını olumsuz biçimde etkilediğini göstermektedir (Bullerman ve ark., 1984).

Saeed (1985), Irak'ta satılan buğday, arpa, işlenmiş ve işlenmemiş pirinç, buğday unu, kepek, kırılmış buğdaydan oluşan tahıl ve ürünlerini toplamış, aflatoksin ve zearalonon bakımından incelemiştir. Aflatoksinin tüm örneklerde nisan ayında 0,01-8,4 ppm arasında olduğunu toksin konsantrasyonunun nisan ayında ekime göre daha fazla olduğunu gözlemiştir.

Warner ve Pestka (1987), tahıl ürünlerinde Elisa testi ile AFB<sub>1</sub> bakımından analiz etmişler ve 79 ürünün tamamında AFB<sub>1</sub> bulamamışlardır.

Joshi ve ark. (1987), buğdayların ve çeltik ürünlerinin depolanması sırasında sel ve yağmura maruz kalması ile mikoflora ve aflatoksin arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu ürünlerden *Aspergillus flavus*, *Aspergillus candidus*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Diechslera*, *Mucor* ve *Absidia* spp. izole etmişlerdir. Örneklerin hepsinde, AFB<sub>1</sub> oranını 8-40 ppb arasında olduğunu saptamışlar, aflatoksinin depolamada renklerin solmasına ve lekelerle sebep olduğunu gözlemiştir.

Fukal ve ark. (1988), topladıkları gıda örneklerinde AFB<sub>1</sub> taraması yapmışlar, buğdayda 0,1 µg/kg, mısırdaki 0,5 µg/kg, yerfıstığında 0,5 µg/kg olduğunu bulmuşlardır.

Tunus 'da yapılan bir çalışmada, hububat, hayvan yemi ve gıda ürünlerinde aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> bulunmuştur. Mikotoksin kontaminasyonu ile depolama şartları, lokal tüketimler ve iklim faktörleri arasında bir bağlantı olduğu saptanmıştır. Bu çalışma ile insan ve hayvan yemi olan hububatların mikotoksin ihtiva ettiği ortaya çıkarılmıştır (Bacha ve ark. 1988).

Hetmanski ve Scudamore (1989), tahıl ve hayvan yemlerinde aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> analizi yapmışlar ve sonuçta buğdaylarda 1µg/kg dan düşük düzeyde aflatoksin bulmuşlardır.

Yine bir çalışmada Sudan'da içinde buğday ve diğer tahıl ürünlerini içerdiği tahıl ve baklagil tohumları toplanmış ve hiçbirinde aflatoksin bulunmamıştır (Abdel ve ark. 1989).

Ramakrishna ve ark. (1990), gıdalar ve yemlerde mikotoksin oluşumunun incelendiği çalışmalarında toplam 468 numune toplamışlar ki bunun 58'i buğday, 19 buğday unu, 37 elenmiş temizlenmiş buğday unu, 102 karıştırılmış hayvan yeminden oluşmuştur. Aflatoksinin buğday ve ürünlerinde oluşmadığı, fakat yağmurdan etkilenmiş numunelerde Deoxynivalenol (DNO), Nivalenol, 3-acetydeoxynivalenol, T-2 toksini oluştuğunu tespit etmişlerdir.

Madsen ve Rasmussen (1990), 581 adet tahıl ve baklagil örneğinde HPLC ile aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> analizi yapmışlardır. Bunlardan 33 tanesi buğdaydan oluşmaktadır. 33 buğdayın sadece bir tanesinde aflatoksin bulmuşlar ve aflatoksin konsantrasyonunu 5µg/kg olarak tespit etmişlerdir.

Hindistan'da yapılan bir çalışmada 197 buğday ve 135 hardal örneği toplanmış geleneksel depolama şekillerine göre dört ayrı yerde depolanmıştır. Sonuç olarak 50 buğday örneğinde ve 42 hardal örneğinde aflatoksine rastlanmıştır. Çuvalda depolanan numunelerde *Aspergillus flavus* ve AFB<sub>1</sub> seviyesinin oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir (Ranjan ve ark. 1992).

Suudi Arabistan'da 1989 yılında yapılan bir çalışmada 209 buğday numunesi toplanmış ve bunlarda aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> ve Okratoksin ve bir tanesinde ise iz miktarda aflatoksin bulunmuştur (Ewaidah 1992).

Slovenya ve Baranja'da 450 un, 15 pasta, 83 hububat (mısır, arpa) örneğinde *Aspergillus flavus* kontaminasyonu araştırılmış, 450 un örneğinin 36 tanesi AFB<sub>1</sub> olmak kaydıyla 58 tanesinde 2-10 ppb arasında aflatoksin tespit edilmiştir. Yine pastanın 2 tanesi AFB<sub>1</sub> olmak kaydıyla 15 tanesinde, hububatlarda ise 83 örneğin 27 tanesi AFB<sub>1</sub>, toplam 32 tanesinde 5-20 ppb arasında aflatoksin bulunmuştur (Halt 1994).

Tokyo'da 1986-1990 yıllarında yapılan bir çalışmada marketlerden toplanan 3054 gıda numunesinde aflatoksin kontaminasyonu yönünden yapılan çalışmada en yüksek AFB<sub>1</sub> miktarı Hindistan cevizi ve Antep fıstığında tespit edilmiştir (Tabata ve ark. 1993).

Aşağıdaki Çizelge 2.7'de Türkiye'de 1990-1994 yılları arasında yem maddelerinde saptanan toplam aflatoksin (AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>) ve Okratoksin sıklığı gösterilmiştir.

**Çizelge 2.7.** Türkiye'de 1990-1994 yılları arasında yem maddelerinde saptanan toplam Aflatoksin (AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>) ve Okratoksin sıklığı

Yem Maddeleri	Kontaminasyon Sıklığı %		Sınır Değerin Üzerindekiler %	Örnek Sayısı
	Aflatoksin	Okratoksin-A		
Mısır	12,3	0,41	1,2	488
Ayçiçeği Tohumu Küspesi	5,8	3,95	0	380
Pamuk Tohumu Küspesi	17,3	0,32	0	318
Soya Küspesi	11,7	1,35	0	222
Karma Yem	13,7	1,08	1,8	277
Toplam Örnek Sayısı				1685

Kaynak: Çoksöyler ve ark. 1996

Hayvansal gıdalardan süt, karaciğer, böbrek, yumurta yoluyla aflatoksinlerle kontamine olurlar. Yemlerin kritik aflatoksin konsantrasyonlarında toksin; %0,01-0,3 oranı ile organ ve dokulara geçmektedir. Çizelge 2.8'de yemlerde bulunan AFB<sub>1</sub> in hayvan organ ve dokularına geiiyle ilgili değerleri toplu halde gösterilmektedir. Her bir hayvan türü için yemde ki kritik aflatoksin miktarı farklıdır (Aydın 2007).

Alp ve ark. (1988) tarafından yapılmış bir çalışmada yağlı tohum kspelerinde aflatoksin bulunma düzeyi %12 olarak saptanmıştır.

Dennis ve Hsieh (1985)'te yaptığı benzer bir araştırmada 8 süt yeminden hiçbirisinde toksin kalıntısı saptanmamıştır.

Benzer diğer bir çalışmada (Alp ve ark. 1997), yine kıyı bölgelerinden topladıkları toplam 47 mısır örneğini mantar ve mikotoksin kontaminasyonu açısından incelemiş 12, 18 ve 20 µg/kg düzeylerinde saptadıkları AFB<sub>1</sub>, AFG<sub>1</sub>, Okratoksin A, Patulin ve Rubratoksin gibi mikotoksinlerin varlığı nedeniyle bu hammaddelerin hayvan yemi olarak kullanılmasında dikkatli olunmasını önermiştir.

ukurova Bölgesi iklim koşullarında üretilip depolanan mısır, buğday kepeği, pamuk tohumu küspesi, arpa ve buğday gibi ürünler üzerinde gerçekleştirilen bir diğer araştırmada (elik ve ark. 1997), 70 örneğin 23'nde 2,5-30 µg/kg düzeylerinde AFB<sub>1</sub> saptanmıştır. Bu oran, tüm örneklerin %32,85'ni oluşturmaktadır.

Türkiye bazında gerçekleştirilen bir başka çalışmada (oksyler ve ark.1991). 404 yem hammaddesinin 40'ında değişik düzeylerde (1,22-18,40 µg/kg) mikotoksin (AFB<sub>1</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>2</sub>) saptamıştır.

Glenda ve ark. (2006) tarafından Brezilya'da yapılan benzer bir çalışmada 2003 mayıs ve 2004 nisanında toplanan tavuk yemlerinin (%66,7)'sinde AFB<sub>1</sub> bulunmuştur. Yine aynı çalışmada en yüksek AFB<sub>1</sub> seviyesine Şubat ayında en düşük değerlere ise temmuz ayında toplanan yemlerde ulaşıldığı belirtilmektedir.

Archileo (2006), yılında Uganda'da nemli bölgelerden topladıkları mısır örneklerinin %80'inde aflatoksin kontaminasyonu tespit etmişlerdir.

Ancak, bilindiği üzere aflatoksinler çok tehlikeli karaciğer toksinleridir. Karsinojen etkilerinin yanı sıra, teratojen ve mutajen etkileri de söz konusudur. Akut toksisitesi, kronik etkileri kadar yaygın değildir. Bu nedenle düşük düzeylerde uzun sreler toksin alan sürülerde kitlesel ölümler saptanmıştır. Karsinojen zellikleri hayvanlara oranla insanlarda daha fazla etkilidir (Jemmali 1975). Yemlerde bulunan 100 µg/kg düzeyindeki AFB<sub>1</sub>, sığır ve domuzlarda zehirlenmelere neden olmaktadır. Amerikan Gıda ve İlaç rgt (FDA) 100 ppb'den daha az aflatoksin içeren yemlerin ergin domuz ve kanatlılara verilebileceğini bildirmektedir (FDA

1977). Aynı kuruluş tarafından sütte bulunmasına izin verilen AFM<sub>1</sub> düzeyi 0,5 ppb/kg olarak bildirmiştir.

Brezilya cevizinde yapılan mikotoksin ve küf florası araştırmasında, toplam 163 tür küf izole edilmiş olup, bunların; 42 tanesi *Aspergillus* ve 78 tanesi *Penicillium* türü olarak belirlenmiştir. İzole edilen küfler laboratuvarında 22°C geliştirilip mikotoksin oluşumu gözlenmiştir. 3 *Aspergillus* türü (*A. versicolor* (sterigmatosistin), *A. ochraceus* (okratoksin) *A. parasiticus* (aflatoxin B<sub>1</sub>,G<sub>1</sub>) kendilerine ait mikotoksinleri yüksek miktarda ürettikleri saptanmıştır (Schindler ve ark. 1974).

Sebunya ve Yourtee (1990), yaptıkları bir çalışmada 13 mısır çeşidinin depolama koşullarıyla ilgili yürüttükleri bir çalışmada %77 oranında *Aspergillus flavus* ile bulaşık olduğunu tespit etmişlerdir.

Ssebukyu (2000), Nakamya (2002) ve Sseruwu (2003), Uganda'da yürüttükleri çalışmada mısır ve mısır yan ürünlerinde *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicilliumu* dominant mikroflora olarak bulmuşlardır.

Pek çok çalışmada yemlerde dominant olan funguslar sırasıyla *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri olurken, Magnoli ve ark. (2002), *Fusarium* türlerinin daha baskın olduğunu tespit etmişlerdir.

Araştırma sonuçları dikkate alındığında, pek çok çalışmada yemlerde dominant olan fungusların *Penicillium* ve *Aspergillus* türleri olduğu belirtilmektedir. Bu yönüyle çalışma diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Ancak AFB<sub>1</sub> düzeyleri ile fungusların identifikasyonları karşılaştırıldığında ise paralellik göstermemektedir. Bu sonuçlardan da mikotoksin oluşturan fungusun üründe bulunması, uygun koşullar olmadığı sürece mutlaka mikotoksinin de olmayacağı anlamına gelmemektedir. Tersine olarak da, mikotoksin oluşumu ile sonuçlanan bir fungus aktivitesinden sonra herhangi bir nedenle fungusun ölmesi, o üründe etken olmadığı halde mikotoksin bulunmasına neden olacaktır, görüşüyle paralellik göstermektedir (Bullerman ve ark. 1984).

Ürünün fiziksel bütünlüğünün bozulması aflatoksin oluşumunu kolaylaştırmaktadır. Ürünlere uygulanan depolama ve diğer işlemler bulaşmayı kolaylaştırır. Besinlerin küflerle bulaşması sonucu aflatoksin 3-7 gün içinde oluşmaktadır. Depolanan her besin maddesinde özellikle yüksek karbonhidrat içeren buğday, yağlı tanelerde aflatoksin üreten küfler kolaylıkla üreyebilir (Brien 1976).

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1. Yem Materyali**

Trakya Bölgesinde faaliyet gösteren 8 yem fabrikasından yaz ve kış dönemi olmak üzere iki ayrı dönemde, usulüne uygun olarak (Akyıldız 1984) alınan süt yemlerinden her dönemde 13'er ( toplam 104) adet yem örneği toplanarak, -18°C'de saklanmış ve İstanbul Florya İl Kontrol laboratuvarında aflatoksin analizleri yapılmıştır. Yem örneklerinden ayrılan diğer numunelerde de Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği mikrobiyoloji laboratuvarında fungusların tanımlanması yapılmıştır.

#### **3.2. Analiz Yöntemi**

Laboratuara getirilen yem örnekleri toz haline gelinceye kadar öğütüp, paçal usulü bölünerek homojen edilen yem örnekleri ekstraksiyon işlemine hazır hale getirilmiştir. Aflatoksin B<sub>1</sub> analizleri AOAC 2003.02 Hayvan yemlerinde aflatoksin B<sub>1</sub> analiz metodu ile HPLC cihazında yapılmıştır (Anonim 2003).

Aflatoksin analizleri Aflatest immuno-affinité kolonlar (Vicam) ve Aggilent 1100 serisi HPLC kullanılmıştır. Yöntemin teşhis limiti AFB<sub>1</sub> için 0,2 ppb'dir.

##### **3.2.1 Alet ve Ekipmanlar**

Araştırmada genel laboratuvar alet ve malzemeleri kullanılmıştır. Bunların yanı sıra; blender, kaba terazi, analitik terazi, otomatik pipet, filtre kağıdı (24 cm), mikrofiber filtre kağıdı (11 cm), enjektör 50 (ml), vakum manifoldu ve pompası, HPLC: (Enjeksiyon loop: 100 µL, Kolon: ODS-2 4,6 mmx 25 cm, Floresans dedektör: Fluorescence Ex.: 360 nm, Em.: 430 nm, Post Column Derivasyon Sistemi: Kobra cell), İmmuno-Affinité Kolonlar.

##### **3.2.2 Kullanılan Kimyasallar**

NaCl, KBr, Acetonitrile ( CH<sub>3</sub>CN ), Methanol (CH<sub>3</sub>OH ), Aseton (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>), PBS, %65 HNO<sub>3</sub>, Toluene

### 3.2.3 Kullanılan Çözeltiler

- 4M HNO<sub>3</sub>:28,1 ml %65 HNO<sub>3</sub> (veya 26,1 ml % 70 HNO<sub>3</sub>) su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.
- Ekstraksiyon Çözeltisi: 85 hacim CH<sub>3</sub>OH+15 hacim su karıştırılmıştır.
- Mobil faz=6 Hacim su 2 Hacim CH<sub>3</sub>CN+3 Hacim CH<sub>3</sub>OH karışımı ile mobil faz hazırlanmıştır.
- Elektrokimyasal olarak Br<sub>2</sub> eldesi için, mobil fazdan alınan 1 litrelik bir porsiyona:350 µL 4M HNO<sub>3</sub> ve 120 mg KBr ilave edilir. İyice karıştırılmıştır ve çözülmüştür.
- Toluene–Acetonitril (98:2 Toluene:Asetonitril) : 98 hacim Toluene+2 hacim Acetonitril ile karıştırılır.
- AFB<sub>1</sub> Standart Çözeltisi:

AFB<sub>1</sub> Ana Referans Standart Stok Çözeltisi: Kuru film veya kristal haldeki referans standart balona tartılmıştır ve toluen-asetonitril ile çözdürülmüştür. AOAC 970.44-971.22 (Anonim 1971) standart açma metodlarına göre çözme ve gerçek konsantrasyon hesabı yapılmıştır. Aflatoksin B<sub>1</sub> referans standart stok çözeltisinde gerçek AFB<sub>1</sub> konsantrasyonunun hesaplanması 350 nm civarındaki (en yakın) max. Absorbans (A) kullanılarak aşağıdaki eşikten B<sub>1</sub> in hakiki konsantrasyonu bulunmuştur:

$$\frac{A \times MW \times 1000}{\Sigma} = \text{AFB}_1 \text{ Konsantrasyonu ( } \mu\text{g/mL)}$$

MW (Molekül tartısı)

Σ (Molar absorbtivity) değeri Çizelge 3.1'den alınır.

**Çizelge 3.1.** AFB<sub>1</sub> için Mw ve Σ değerleri

Aflatoksin	Mw	Σ (Molar absorbtivity)			
		98 Benzene 2 Acetonitrile	98Toluene + 2 Acetonitrile	CH <sub>3</sub> OH	CH <sub>3</sub> CN
B <sub>1</sub>	312	19800	19300	21500	20700

Ara stok-2 düzey standart (98:2, hacim/hacim) Toluene: Acetonitrile kullanılarak, aflatoksin B<sub>1</sub> in gerçek konsantrasyonu dikkate alınıp hesaplanarak 1000 ng/ml AFB<sub>1</sub> içerecek vialer hazırlanmıştır (2. düzey stok). 2. Düzey stok standarttan 1 ml alındı ve 10 ml lik ölçülü balona pipetlendi. Toluene+Asetonitril (98 Hacim+2 hacim) çözeltisi 10 ml ye tamamlandı ve iyice

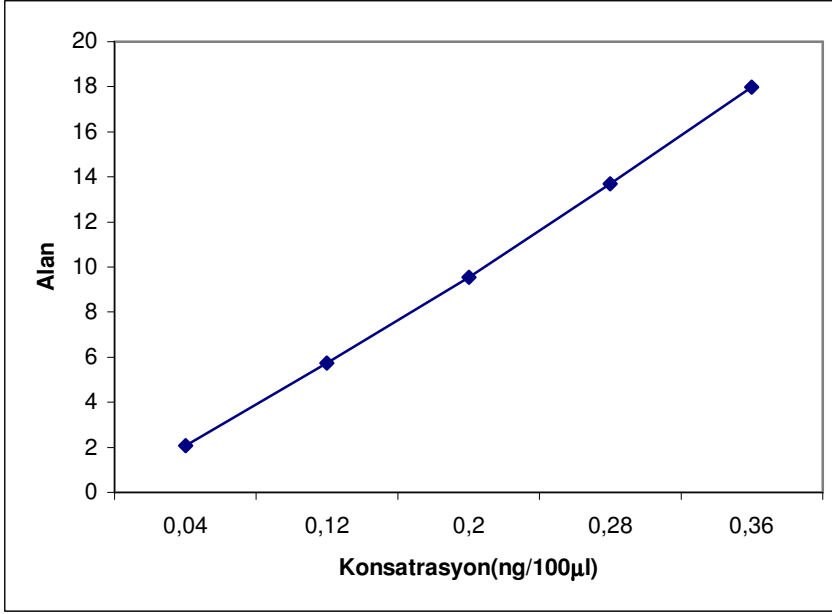
vortekslendi. Oluşan yeni karışımın (3. düzey stok standart) konsantrasyonu AFB<sub>1</sub> 0,1 ng/ml, oldu. 3. düzey stok standart çözeltilisinden Çizelge 3.2’de verilen miktarlarda viale alındı, çözücü azot gazında ve oda sıcaklığında uçuruldu. Her bir viale 1 ml Methanol (HPLC saflığında) eklendi, tüp karıştırıcıda karıştırılarak AFB<sub>1</sub>’in çözünmesi sağlandı ve ultra saf su ile 2,5 ml ye tamamlandı.

**Çizelge 3.2.** Çalışma-Kalibrasyon Standartları Hazırlama Tablosu

Standard No	Kalibrasyon Çözeltilisinden (3. Düzey stok) Alınacak Porsiyonlar (µl)	Çalışma Standardının (ng/ml)	Kalibrasyon Konsantrasyonu
1	10		0,400
2	30		1,200
3	50		2,000
4	70		2,800
5	90		3,600

Hazırlanan bu beş standart HPLC’de altışar defa okutuldu ve bu okuma sonuçlarına göre kalibrasyon tablosu oluşturuldu. Kalibrasyon doğruluk değeri 0,99984 olduğu görüldü ve 0,999 büyük olduğu için kabul edilebilir olarak değerlendirildi. Hazırlana kalibrasyon eğrisi her ölçümden önce farklı noktasal kontroller yapılmak suretiyle kontrol edildi. Çizelge 3.2’ye göre hazırlanan standartlar kullanılarak HPLC cihazında AFB<sub>1</sub> kalibrasyon tablosu oluşturuldu. Oluşturulan kalibrasyon tablosu ve ilgili bilgileri Şekil 3.1’de gösterilmiştir.





Doğrusallık denklemi:  
 $y=a+bx$

a = 0,0195849

b = 52,59147

Standart hata: 0,14511

Kolerasyon katsayısı:  
0,99984

Şekil 3.1. AFB<sub>1</sub> Kalibrasyon eğrisi

### 3.2.4. Ekstraksiyon

Her numune iki paralel çalışıldı. İyi örneklenip, öğütülmüş numuneden 50 gr tartıldı ve blendıra kondu. Blendıra 250 ml aseton:su (85:15) eklendi. 15-30 saniye kadar hızlıca elle çalkalandı. Daha sonra çalkalayıcıda 30 dakika süre ile çalkalandı. Bu dilüsyon kaba süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntüden 5 ml alınıp beher içinde 95 ml PBS üzerine koyuldu ve iyice karıştırıldı. Bu dilüsyonun tamamı microfibre süzgeç kağıdından süzüldü. Mikrofibre filtre kağıdından elde edilen süzüntüden 50 ml alındı; immuno-affinitite kolondan süzüldü. Süzülme sırasında kolondan damlalar 1-2 damla/saniye hızında daha fazla olmadı. Dilüe edilmiş numune süzüldükten sonra kolondan 15 ml ultra saf su geçirildi ve böylece kolon iyice yıkandı. Yıkama işlemi bittikten sonra temizlenen kolon temiz bir vialde alındı ve HPLC saflığındaki metanol'den 1 ml alınıp kolona kondu. Kolondan metanolün vialde akış hızı 1 damla/saniye hızından daha yavaş oldu.

Kolon metanol ile iyice yıkandıktan sonra vialde 1 ml ultra saf su kondu ve iyice karıştırıldı. Toplam hacmi 2 ml'ye tamamlandı. Vialdeki bu karışım iyice homojenize edildi. 100 µl HPLC'ye enjekte edildi. Her vialden iki enjeksiyon yapıldı.

HPLC İle Çalışma ve Post Column Türevlendirme için Kobra-Cell ile Br<sub>2</sub> üretilerek, 100 mikroamperlik elektrik akımı yardımı ile yapıldı.

### 3.2.5. Hesaplama

$$\text{AFB1 (ng/g)} = \frac{C \times A \times E \times D}{W \times T \times P \times I}$$

C= HPLC Kromotogram okuma sonucu

A=Ekstraksiyon için kullanılan çözücü hacmi (250 ml)

E=Enjeksiyon öncesinde elusyonun toplam hacmi (2 ml)

D=PBS veya su ile tamamlanan toplam hacim (100 ml)

W=Analize alınan numune miktarı (50g)

T=Ekstraktan alınan eluat miktarı (5 ml)

P=IAC uygulamasına alınan seyreltilmiş ekstrakt hacmi (50 ml)

I=HPLC sistemine enjekte edilen eluat hacim (0,1 ml = 100 µl)

### 3.3. Küflerin identifikasyonu

Araştırmada yem örneklerindeki toplam küf yükünü tespit etmek amacı ile besi yeri olarak Malt-Agar (MA) kullanılmıştır. Bakteriyel kontaminasyonları (bulaşmaları) engellemek için de besi yeri steril edildikten sonra, petri kaplarına dökülmeden önce İgepal 630' dan 100 µl/1litre MA konulmuştur. Her bir yem örneğinden 10 g tartıldıktan sonra 90 ml steril saf su içerisinde 30 dakika süre ile çalkalayıcıda homojenize edilmiştir.  $10^{-1}$  den  $10^{-3}$  e kadar seyreltme serileri hazırlandıktan sonra  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , den besi yerine 3 tekrarlı olarak steril spatülle yaymak suretiyle ekim yapılmıştır. Ekim yapılmış petri kapları inkubasyona bırakılmak üzere  $24^{\circ}\text{C}$ ' de 7-10 gün inkübatörde bekletilmiştir. *Aspergillus niger* gibi gelişme hızı yüksek olan fungusları teşhis etmek amacı ile petri kapları 3. günden itibaren kontrol edilmiştir. Sonuçlar, gelişen toplam küf kolonileri sayıldıktan sonra, farklı gelişen fungusların cins düzeyinde teşhisleri yapılmıştır.

### 3.4. İstatistik Analizler

Araştırmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 10.0 paket programı kullanılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılığın belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır (Soysal 1998).

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Trakya bölgesindeki dört ilde bulunan karma yem fabrikalarından alınan süt yemlerinin illere ve mevsimlere göre AFB<sub>1</sub> değerlerine göre dağılımı Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2’de toplu olarak gösterilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Süt yemlerinin yaz dönemi AFB<sub>1</sub> düzeyleri ppb ( $\mu$ /kg)

Örnek No	İstanbul	Tekirdağ	Edirne	Kırklareli
1	*TEDB	1,95	TEDB	0,63
2	TEDB	1,25	TEDB	TEDB
3	TEDB	1,32	0,83	0,87
4	TEDB	TEDB	0,45	TEDB
5	0,47	0,28	TEDB	TEDB
6	0,24	0,95	0,27	TEDB
7	1,26	TEDB	0,33	TEDB
8	0,35	TEDB	0,23	0,30
9	TEDB	0,78	0,41	0,36
10	0,37	TEDB	0,36	TEDB
11	0,28	TEDB	0,55	0,27
12	0,24	0,21	TEDB	TEDB
13	TEDB	0,41	0,28	0,21
En düşük	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB
En yüksek	1,26	1,95	0,83	0,63
Ort	0,15	0,55	0,29	0,20

\*TEDB: Tespit edilebilir düzeyde bulunamadı

**Çizelge 4.2.** Süt yemlerinin kış dönemi AFB<sub>1</sub> düzeyleri ppb ( $\mu$ /kg)

Örnek No	İstanbul	Tekirdağ	Edirne	Kırklareli
14	0,65	0,52	TEDB	TEDB
15	TEDB	0,69	TEDB	0,37
16	0,66	0,35	3,09	0,52
17	0,87	0,60	0,36	<b>7,83</b>
18	<b>5,19</b>	0,48	0,39	0,94
19	TEDB	1,37	TEDB	0,82
20	0,34	3,14	TEDB	0,69
21	0,32	2,25	TEDB	0,81
22	0,39	0,67	0,75	0,90
23	1,08	TEDB	0,49	1,25
24	0,98	0,36	0,49	0,34
25	0,52	0,28	0,55	0,83
26	TEDB	TEDB	0,31	0,94
En düşük	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB
En yüksek	5,19	3,14	3,09	7,83
Ort.	0,85	0,82	0,49	1,25

\*TEDB: Tespit edilebilir düzeyde bulunamadı

Analiz sonuçları incelendiğinde süt yemlerinin % 68,26 sında AFB<sub>1</sub> ile kirlenme saptanmıştır. Analiz sonuçları, yaz ve kış dönemi olarak değerlendirildiğinde ise yaz döneminde yemlerde AFB<sub>1</sub> % 57,69 oranında saptanırken, bu oran kış dönemindeki yemlerde % 78,84'e yükselmiştir. En yüksek kirlenme düzeyi de yine (5,19 ve 7,83 ppb) değerleriyle kış döneminde toplanan yemlerden elde edilmiştir. Yaz dönemi yemlerde yem hammaddeleri kısa bir depolama süresinden veya depolama yapılmadan hemen yem fabrikalarında karma yeme dönüştürülür. Kısa depolama süresince küf bulaşması ve gelişmesi için yeterli zaman oluşmayabilir. Ayrıca yaz dönemi ortam neminin en düşük olduğu dönemdir ve küf gelişmesi için gerekli olan nem düzeyinin oluşmaması da yaz dönemi üretilen yemlerde aflatoksin oluşmasına ve oluşmuş ise oluşma miktarının az olmasına sebep olabilir.

Yapılan istatistik analizi sonucunda toplanan yem örneklerindeki AFB<sub>1</sub> miktarının dönem bazı (yaz dönemi ve kış dönemi) dikkate alındığında Çizelge 4.3.'deki tabloda istatistiksel hesapla sonuçlarından da anlaşılacağı gibi, ortalamalar arası farklılıklar (P<0,01) seviyesinde

önemli bulunmuştur. Çizelge 4.4.'de süt yemlerinin iller bazında yaz ve kış dönemi AFB<sub>1</sub> düzeylerine ppb (µ/kg) ilişkin istatistiki analiz sonuçları verimli ve iller bazında yapılan istatistiki değerlendirmede dönem bazında Kırklareli ili dışında istatistiki anlamda bir farklılık gözlenmediği tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.3.** Süt yemlerinin yaz ve kış dönemi AFB<sub>1</sub> düzeylerine ppb (µ/kg) ilişkin istatistiki analiz sonuçları

AFB <sub>1</sub> ppb (µ/kg)		
Yaz dönemi	Kış dönemi	P
0,32±0,058	0,85±0,186	**

Ortalamalar arası farklılıklar (P<0,01) seviyesinde önemli

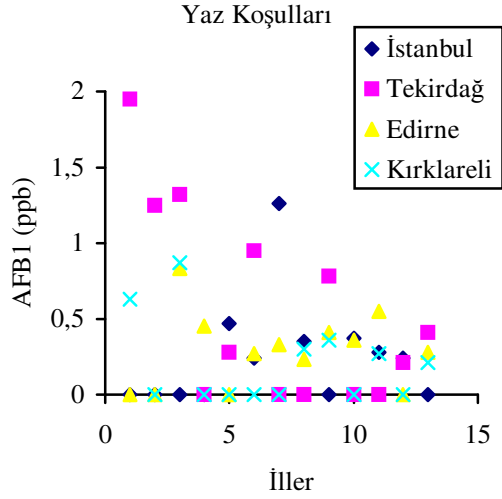
**Çizelge 4. 4.** Süt yemlerinin iller bazında yaz ve kış dönemi AFB<sub>1</sub> düzeylerine ppb (µ/kg) ilişkin istatistiki analiz sonuçları

AFB <sub>1</sub> ppb			
	Yaz dönemi	Kış dönemi	P
İstanbul	0,24±0,09	0,53±0,11	Ö.D.
Tekirdağ	0,55±0,17	0,82±0,02	Ö.D.
Edirne	0,28±0,06	0,49±0,22	Ö.D.
Kırklareli	0,20±0,07	0,64±0,10	**

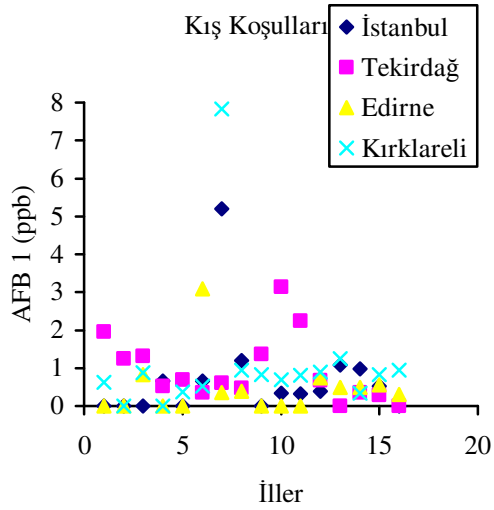
Ortalamalar arası farklılıklar (P<0,01) seviyesinde önemli

Yaz dönemi süt yemlerinin AFB<sub>1</sub> düzeylerinin (µ/kg) illere göre dağılımı Şekil 4.1.'de verilmiştir. Şekilden de anlaşılacağı gibi en yüksek konsantrasyonda AFB<sub>1</sub> içeren il Tekirdağ, daha sonra ise İstanbul'dur. Kırklareli'nde yedi örnekte Tekirdağ'da beş örnekte, İstanbul'da altı örnekte, Edirne'de dört örnekte AFB<sub>1</sub> tespit edilmemiştir.

Kış dönemi süt yemlerinin AFB<sub>1</sub> düzeylerinin (µ/kg) illere göre dağılımı Şekil 4.1.'de verilmiştir. Şekilden de anlaşılacağı gibi en yüksek konsantrasyonda AFB<sub>1</sub> içeren il Kırklareli daha sonra ise İstanbul olarak tespit edilmiştir. Kırklareli'nde bir örnekte Tekirdağ'da iki örnekte, İstanbul'da üç örnekte, Edirne'de beş örnekte AFB<sub>1</sub> tespit edilmemiştir.



Şekil 4.1. Süt yemlerinin yaz dönemi AFB<sub>1</sub> düzeyleri ppb ( $\mu$ /kg)



Şekil 4.2. Süt yemlerinin kış dönemi AFB<sub>1</sub> düzeyleri ppb ( $\mu$ /kg)

Araştırmada fungusların identifikasyonuna ilişkin veriler Çizelge 4.5.'te toplu olarak gösterilmiştir. Çizelge 4.5'de görüleceği gibi örneklerde % 33,65 oranında toplam küf enfeksiyonu belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan 69 örnekte küf saptanmamış örneklerin 35 tanesinde küf saptanmıştır. Örneklerin 30 tanesinde *Penicillium* cinsi, 4 örnekte *Aspergillus* cinsi, 1 örnekte *Rhizopus* cinsi küf tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.5.** Süt yemlerinin yaz ve kış dönemine ilişkin küf florası sonuçları

No	İstanbul	Tekirdağ	Edirne	Kırklareli	No	İstanbul	Tekirdağ	Edirne	Kırklareli
1	<i>Penicillum</i>	TEDB	<i>Penicillum</i>	TEDB	14	<i>Penicillum</i>	TEDB	TEDB	TEDB
2	TEDB*	TEDB	TEDB	TEDB	15	<i>Penicillum</i>	<i>Penicillum</i>	TEDB	TEDB
3	TEDB	TEDB	<i>Penicillum</i>	TEDB	16	TEDB	TEDB	TEDB	<i>Penicillum</i>
4	<i>Penicillum</i>	TEDB	TEDB	TEDB	17	TEDB	TEDB	TEDB	<i>Penicillum</i>
5	<i>Mucor</i>	TEDB	TEDB	TEDB	18	<i>Aspergillus</i>	TEDB	<i>Penicillum</i>	TEDB
6	TEDB	<i>Penicillum</i>	TEDB	TEDB	19	<i>Aspergillu</i>	<i>Penicillum</i>	<i>Penicillum</i>	<i>Penicillum</i>
7	<i>Penicillum</i>	<i>Rhizopus</i>	TEDB	<i>Penicillum</i>	20	<i>Penicillum</i>	<i>Penicillum</i>	<i>Aspergillu</i>	TEDB
8	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	21	TEDB	<i>Penicillum</i>	TEDB	TEDB
9	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	22	TEDB	<i>Aspergillu</i>	TEDB	<i>Penicillum</i>
10	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	23	<i>Penicillum</i>	TEDB	<i>Penicillum</i>	TEDB
11	TEDB	<i>Penicillum</i>	TEDB	TEDB	24	<i>Penicillum</i>	<i>Penicillum</i>	TEDB	<i>Penicillum</i>
12	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	25	TEDB	<i>Penicillum</i>	TEDB	<i>Penicillum</i>
13	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	26	<i>Penicillum</i>	TEDB	TEDB	<i>Penicillum</i>

TEDB\*: Küf kontaminasyonu tespit edilebilir düzeyde bulunamadı.

Dane yemlerdeki nem düzeyinin normal koşullarda küf oluşumuna izin vermeyecek düzeylerde olduğuna genellikle inanılmaktadır. Bununla birlikte nem danede eşit bir şekilde dağılmamaktadır. Örneğin ortalama %15,5 nemli dane yığını, %10 içeren bazı daneler ile %20 nemli diğer danelerden oluşabilir. Dane yemlerin nem miktarı ile direkt olarak ilgilidir, diğer bir deyişle yüksek düzeyde nem içeren daneler küf oluşumuna daha hassastırlar. Nem düzeyine ilaveten kırık daneler de küf üreme miktarı tüm bozulmamış danelerinkinden yaklaşık beş kat daha fazladır.

Öğütme işlemi sürtünme yaratarak ısı oluşumuna neden olur. Yemde 5,51°C (10,1°F) den fazla ısı farklılıklarının siloların iç duvarlarında nemin yoğunlaşmasına neden olduğu zaman daha çabuk olmaktadır. Hava akımlı öğütücü sistemler, üründe ısı oluşumunu dolayısıyla nemden oluşacak sorunları azaltırlar.

Genellikle peletleme işlemi yemden ısı ve %3-5 düzeyinde nem artışına yol açar. Peletleme işlemi doğru bir şekilde yapılmışsa, yem naklinden önce aşırı nem yemden uzaklaştırılır. Bununla birlikte peletler soğuduğunda bu aşırı nem uzaklaştırılmazsa küf üremesi artabilecektir. Nem içeren yemler normal yemlerden daha ılık olduğu için sıcak veya ılık peletlerin serin depolarda depolanması nemin depo iç yüzeyinde yoğunlaşmasına neden olabilir.

Yemin peletlenmesinin küf sayısını 100-10.000 kadar azalttığı gösterilmesine rağmen birçok küf sporları yem peletlendikten sonra yemde kalır. Peletleme işleminden sonra şartların uygun olduğu durumlarda sporlar gelişmeye başlayabilir. Bu nedenle peletleme işlemi küf üremesini kontrol etmede etkisi oldukça düşük düzeydedir. Bu nedenle peletlenmiş yemlerde, peletlenmemiş olanlara göre daha çok küf oluşumu söz konusu olabilir.

Yemlerde küf üremesi ve bu küflerin mikotoksin oluşturması için zaman gereklidir. Bu nedenle yemlerin kullanıldığı anda taze olması önem taşımaktadır. Yemler genellikle teslim alınmasını takiben 10 gün içerisinde tüketilmelidir.

Yem üretim işlemleri süresince ve sonrasında, yemler, üretimi, depolama ve dağıtım sistemleri gibi çeşitli alanlarda bulunan veya topaklanmış eski yemlerle karışabilir. Bu eski yemler genellikle küflü olur ve temas ettiği taze yemi bulaştırarak küf üremesini ve mikotoksin oluşumunu artırabilmektedir. Bu olumsuzluğun önüne geçebilmek için topaklanmış küflü yemler yem üretim ve işleme aletlerinden uzaklaştırılmalıdır (Yalçın ve ark. 2005).

Havanın nisbi neminin fazla olmasında küflenmeye etki etmektedir. Elde edilen sonuçlara göre yaz dönemine göre kış döneminde aflatoksin miktarları da daha yüksek bulunmuştur. Yaz ve kış döneminde 2006-2007 meteoroloji verilerine göre havanın nisbi nemi Tekirdağ ilinde yaz döneminde %78,40, kış döneminde ise %90,3'dir. Kırklareli ilinde yaz döneminde %69,8, kış döneminde ise %91,1'dir. Edirne ilinde yaz döneminde %56,10, kış döneminde ise %83,20'dir (Anonim 2007). Kış döneminde havanın nisbi nemi fazla olmasından dolayı yazı nazaran daha fazla aflatoksin tespit edilmiştir. Nem oranının fazla olması küflerin gelişmesi için olumlu bir etmendir. Diğer küf üreme ve çoğalma etmenleri de uygun olduğu zamanlar, eğer ortamda aflatoksin sentezleme yeteneğine sahip küfler varsa buna bağlı olarak da aflatoksin miktarında da artış görülecektir.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan araştırma sonucunda 104 adet sığır süt yeminde aflatoksin B<sub>1</sub> analizi yaptık, 33 örnekte AFB<sub>1</sub> tespit edilebilir düzeyde bulamadık. 71 örnekte ise değişik miktarlarda olmak üzere AFB<sub>1</sub> tespit ettik. Bu yemlerdeki AFB<sub>1</sub> miktarı Tarım Köyişleri Bakanlığında aflatoksin kontrolüne dair verilen tebliğdeki üst sınır olan 5 ppb'yi 2 numune dışında geçmemiştir. Ama aflatoksinin iz miktarda bulunması hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı için tehlikeli olduğu, miktar ne olursa olsun aflatoksinli besinlerle beslenen canlıların vucutlarında zamanla vucutların da biriken bu aflatoksinlerin değişik şeklerde canlı organizmaya zarar vereceği unutulmamalıdır.

Ülkemizde hayvan yemlerinin kontrolünün yapılması ile ilgili mevzuatlar yeterlidir. Ancak uygulama birçok ilde farklı ve yetersizdir. Kontrol ve denetleme yetkisine sahip olan tarım il müdürlükleri özellikle üretim ve satış iznini verdikten sonra kontrol ve denetlemeleri gerçekleştirmemektedirler. Bir yem fabrikasının üretilen her parti yeminin aflatoksin 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.

Küf mantarları, gerek bitkisel gerekse hayvansal gıdalarda uygun ortam bulmaları halinde gelişerek ürettikleri toksik maddelerle hem ürün kaybına hem de insan ve hayvan sağlığı açısından tehlikeli sonuçlara yol açabilmektedir. Küflerin tahıllar, yem ve gıdalara bulaşması, üretimden tüketime her aşamada olmaktadır. Bu nedenle üreticileri, tüketicileri ve bu ürünleri pazarlayanları bilinçlendirmek gerekmektedir. Tahılların hasadı zamanında yapılmalı, rutubeti yüksek olan tahıllarda kurutma işlemi uygulanmalı, ürün yaş halde depolanmamalıdır. Çürük, zedelenmiş hastalıklı taneler mümkün olduğunca temizlenmelidir.

Tarladan başlayarak tüketime kadar değişik koşulların etkisiyle yem maddelerinde aflatoksin oluşması üzerine çalışmaların yapılması gerekmektedir. Özellikle rutubeti fazla ve depolama koşullarının yetersiz olduğu Trakya Bölgesi daha iyi depolama şartları için araştırmalar yapılmalıdır.

Uygun rutubette ve nispi nemde depolanan tahıllarda içeriye su sızıntısı kesinlikle olmamalı, tahıl nem çekmemelidir. Depo sıcaklığı, ortamın nispi nemi kontrol edilmeli, depo havalandırmaya uygun olmalıdır. Böceklenme, tahılın küflenmesi için uygun bir zemin hazırladığından önemlidir.

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

## 6. KAYNAKLAR

- Abdel, Rahim, A.M., Osman, NA., İdris, M.O., (1989). Survey of some cereal grains and legume seeds for aflatoxin contamination in the Sudan. *Zentralblatt fuer-Mikrobiologie*; 144(2), 115-121,22 ref., Dep. Of Crop Protection, Fac. Of Agric., Univ. of Khortoum Shanbot, SUDAN.
- Akkurt, C., (1991). Değişik Rutubetlerde Depolanan Bazı Mısır Çeşitlerinde Aflatoksin Oluşumu Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara.
- Akyıldız, A. R., (1984). Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu. Ankara, 236 s.
- Alp, M., Kahraman, R., Kocabağlı, N., Yetim, M. (1997). Pendik Vet. Mikrobiyolojisi Dergisi. 1997. 28 (2) s:163-169.
- Alp, M., Tuncer, N., Özsoy, A. (1988). Yağlı Tohum Küspelerinde AFB<sub>1</sub> Taraması Etlik Veteriner Mikrobiyolojisi Dergisi. Sayı3 Cilt 6.
- Anonim (1971). AOAC 970.44-971.22 Aflatoksin Standartları Hazırlama ve Konsantrasyon hesaplama Metodları.
- Anonim (2003). AOAC 2003.02 Hayvan Yemlerinde Aflatoksin B<sub>1</sub> Analiz Metodu.
- Anonim (2005). Yem Maddelerinde Maksimum Aflatoksin Seviyeleri. (TKB KKGM 2005-3 Tebliği).
- Anonim (2007). Trakya Bölgesi Meteoroloji Verileri (nem).
- Anonim (2002). Gıda Maddelerinde Maksimum Bulaşanların Tebliği (TKB KKGM 2002/63 Tebliği).
- Archileo, N. K, W. Kyamuhangire (2006). The Effect of storage time and agreecological zone and mould incidence and aflatoxin contamination of maize from traders in Uganda. *International Journal of Food Microbiology* 110: 217-223.
- Atlı, A., Köşker, Ö. (1980). Buğday, Un ve Ekmekte Aflatoksin Oluşumu ve Stabilitesi Üzerine Araştırmalar. A.Ü. Ziraat Fakültesi, Diploma Sonrası Yüksek Okul İhtisas Tez Özetleri, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- Aydın N. (2007). Hayvan sağlığında mikotoksinler ve mikotoksikozisler. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, <http://www.infeksiyon.dergisi.org/pdf.php3?id=220>.
- Aytaç, S. A. (1983). Aflatoksinler ve Türkiye’de Aflatoksinler Üzerine Yapılan Çalışmalar, H.Ü. Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Mezuniyet tezi, Ankara.
- Bacha, R., Hadidane, E.E., Croppy, C., Regnault F., Ellouze and G. Dirheiner (1988). Monitaneing and Hentification of Fungal Toxins in Food Products, Animal Feed and Cereals in Tunisia. *J. Stored Prod. Res.* Vol: 24. No: 4, page 199-206. CNRS, Universite Louis Pasteur 15, rue Descartes 67084 Strasburg, France.
- Basmacıoğlu, H., Ergül, M. (2003). “Yemlerde Bulunan Toksinler ve Kontrol Yolları” *Hayvansal Üretim* 44(19): 9-17.
- Betina, N. (1989). *Mycotoxins, Chemical, Biological and Enviromental Aspects*: Elsevier, Amsterdam-Oxford, New York, Tokyo, 437 p (Alınmıştır, Taydaş, E. E., 1993 Kırmızı Biberlerde Aflatoksin ve Okratoksin Oluşumu Üzerine Araştırmalar, H.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Yüksek Mühendislik Tezi, Ankara).
- Bhat, R.V. (1987). Rewiev of activities in mycotoxin prevention and control strategies in improvement based on experience in Asia and east africa, joint FAO/WHO/UNEP Second International Conference on Mycotoxins Bangkok, T. Harland, 28 September-3 October (Alınmıştır, Taydaş, E. E., 1993 Kırmızı Biberlerde Aflatoksin ve Okratoksin Oluşumu Üzerine Araştırmalar, H.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Yüksek Mühendislik tezi, Ankara).
- Bottalico, A. (1979). On the Occurance of Mycotoxin (Aflatoxins and Zearolenone) in some foods and feeds, in *İtaly in Food Microbiology and Techonology.*, pp: 337-346,

- many ref., İtaly, stazione sperimentale per l' Industria delle Conserve Alimentari (Food Microbiology Symposium) con il Studio del Consorzio Nazionale delle Ricerche sulle Tossine, Istituto di Patologia Vegetale dell' Univ., Bari, Italy.
- Brien, C.A.O. (1976). Current of the Aflatoxin Problem, the Southwes Vet. 29 (3): 226.
- Bullerman, L.B., Schroeder, L.L., and Park, K.Y. (1984). Formation and Control of Mycotoxins in Food. Journal Food protection. 47: 637-646.
- Bullerman, L.B. (1979). Significance of Mycotoxins to Food Safety and Human Health: Journal of Food Protection, 42 (1): 65-86.
- Bullerman, L.B. (1986). Mycotoxins and Food Safety: Food Technology. A Scientific Status Summary by The Institute of Food Technologists' Expert Panel on Food Safety & Nutrition, 59-66.
- Chang, H.G; Markosis, P. (1981). Effect of Moisture Content on Aflatoxin Production in Barley; Cereal Chemistry, 58, 89-91.
- Charles, R., Hurburgh, JR. (1995). Mycotoxins in The Grain market. World Grain 1995. October page, 26-33.
- Chelkowski, J., Godlewska, B., Rodomycka, W. (1978). Occurrence of Mycotoxins in Food and animal Feeds, Przemysl-Spozywczy; 32 (8) 285-286, 17 ref, Ins. Tech. Zywosci Pochodzenia Roslinnego, ar, Ponzan, Poland.
- Ciegler, A., Kadiş, Ş and Ajl.Sa (1971). Fungal toxins., vol VI. Academic Press (Alınmıştır, Aytaç, S. A., 1983). Aflatoksinler ve Türkiye'de Aflatoksinler Üzerine Yapılmış Çalışmalar, H.Ü. Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Mezuniyet Tezi, Ankara) New York.
- Cooker, R.D., Jones, b.D., Nagler, M.S., Gilman G.A., Walbridge, A.J and Penigrah, S., (1984). Mycotoxin training manual, tropical development and research Institute, London (Alınmıştır, Taydaş, E. E., 1993 Kırmızı Biberlerde Aflatoksin ve Okratoksin Oluşumu Üzerine Araştırmalar, H.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Yüksek Mühendislik Tezi, Ankara).
- Czerwiecki, L. (1982). Detection and quantitative determination of certain mycotoxins in grain. Roczniki-Pantwowego-Zakladu Higieny; 33(5/6) 421-424, 16 ref., Zaklad, Bodania Zywosci; Pized Miotow Uzytku Penstwowego Zakladu Higieny, Worsaw, Poland.
- Çelik, K., Alphan, E., Öztürkcan, O. (1997). Çukurova Bölgesi Koşullarında elde edilen ve depolanan bazı insan ve hayvan gıdalarında aflatoksin düzeylerinin saptanması üzerine bir araştırma. VI. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi. 291-293. 14-18 Nisan 1998. Adana.
- Çoksöyler, N., Özkaya, Ş. (1987). Sağlam kabuklu Fındıkta Aspergillus Flavus Penetrasyonu ve Toksin Oluşumu X. Ulusal biyoloji Kitabı Cilt 1, 179-183.
- Çoksöyler, N., Özkaya, Ş., Günseli, O., Şentürk, A., Çalış, E., Yıldırım, G., Karaömeroğlu, S. Elden, E. Kılıç, E. (1991). Gıda-yem Dergisi. Sayı:2 S: 3539.
- Çoksöyler, N.(1996). Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Mersin.
- Davis, N.D, and Diener, U.L. (1978). Mycotoxins, Food and Beverage Mycology, L.R. Beuchat, AVI Publishing Company, INc., Westport, Connecticut, 397-444.
- Demir, C., 1996. Değişik rutubet ve Sıcaklıklarda Depolanan Fındıkta Aflatoksin Oluşumunun Araştırılması, T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi, Tekirdağ.
- Denizel, T. (1977). Suggestions on Prevention of Aflatoxin Formation in Pistachia Nuts, Extrait des "Archives de l' Institut Pasteur de Tunis" 3-4, 433.
- Dennis, P., Hsieh, H. (1985). An Assessment of liver cancer risk posed by aflatoxin M<sub>1</sub> in the Western world. Chapter 47, John Wiley &sons ltd. 1985.

- Eke, D. (1985). Fındıklarda Aflatoksin Gelişimi, Doktora Tezi, TÜBİTAK-MAE, Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü, İZMİR.
- Eraslan G., Karagöz E., Bilgili A., Öncü M., Eşsiz D., Kutlu İ. (2003). Aflatoksinlerin Etçi Piliçlerde Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi. YYÜ.Vet. Fak. Dergisi, 2003, 14 (1) :114-117.
- Erdem, S. (1982). Ekmeklik Un ve Bu Unlardan Yapılmış Ekmeklerde Aflatoksin Durumunun Araştırılması, H.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Programı Bilim Uzmanlığı Tezi, Ankara.
- Eser, S., Eser, G. (1966). Türkiye’de En Sık Rastlanan Kanserlerin Epidemiyolojisi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mecmuası, 29: 292.
- Eser, S.R., Kumova, B., Sivas. (1978). Bulgurlarda Aflatoksin Yapan *Aspergillus*’ların Bulaşması Hakkında, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dergisi, 9: 213.
- Ewardah, E.H. (1992). Ochratoxin A and Aflatoxins in 1989 Saudi Wheat. International Journal of Food Science and Technology; 27(6) 697-700, 18 ref, Dep. of Food Sci., coll. Of Agric. King Saudi Univ. PO BOX 2460, Riyadh, 11451 Saudi Arabia.
- FDA. (Food and Drug Administration Organizations) (1977). Criteria and procedures for evaluating assays for carcinogenic residues in edible products of animals. Fed. Registrar, 42. 61630; Guideline 7406.06.
- Fukal, L., Reisnerova, H., Rauch, P. (1988). Applications of radioimmunoassay with 125 iodine for determination of Aflatoxin B<sub>1</sub> in foods sciences des Aliments, 8(3) 397-403, 21 ref., Agric. Univ., 16521 Prague 6, Czechoslovakia.
- Glenda, R. OLiveria, Jessika, M. Riberio, Marcelo E., Fraga, Lilia R. Cavaglieri, GloriaM. Direito, Kelly M. Kellet, Ana M. Dalcero, Carlos A. Rosa. (2006). Mycobiota in poultry feeds and natural occurrence of aflatoxins fumonisins and zearalenone in the Rio de Janeiro State, Brazil. Mycopathologia 162: 355-362.
- Gürel Y. (2007). TKB Etlik Merkez Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü. [http://infeksiyon.dergisi.org/pdf/pdf\\_INF\\_220.pdf](http://infeksiyon.dergisi.org/pdf/pdf_INF_220.pdf)
- Halt, M. (1994). Contamination of cereals flour and pastry with mould species *Aspergillus flavus* and Aflatoxin B<sub>1</sub> in the region of Slovenia and Baranja. Prehrambeno-Tecnoloska-i-Brotehnoloska-Revisa; 32(1) 21-25, Prehrombeno-Tehnoloski Fak. Svdnicilista, Osejek, Croatia.
- Hetmanski, M, T., Scudomere, K.A. (1989). A Simple quantitative HPLC method for determination of Aflatoxin in cereals and animal feedstuffs using gel permeation chromatography clean-up. Food additives and contaminants; 6(19) 35-48, 29 ref., ADAS Slough Lab., London Road, Slough SL3 7HJ, UK.
- İç, E. (1992). Şaraplarda Aflatoksin Miktarı Üzerine Bir Araştırma, A.Ü. Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Janicki, J., Szegotko, K., Chelkowski, J., Kokorniak, M., Godlewska, B, Wiewiorawska, M. (1975). Detection and Determination of Aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> and Parasitica in Cereals and Milk *Acta Alimentaria Polonica*; 1(374) 207-219, 19 ref., Inst. Tech. Zywości Pochodzenia Roslinnego, AR, Ponzan, Poland.
- Jay, J.M. (1992). Modern Food Microbiology, Van Nostrand Reinhold, 115 fifth avenue New York, 10003.
- Jemmali, M. (1975). Mycotoxines contaminant naturels des produits agricoles Bull. Ann. E.L.E.F.M., 267: 131-140.
- Joshi, B.C., Srivastava, S.K., Dwivedi, P.K., Prajapati, S.K. (1987). Microbial spoilage of flood affected stored wheat. Bulletin of Grain Technology; 25:819 85-87, 6 ref., Indian Grain Storage Inst., Hapur 245101, India.
- Kalkan, M. (2007). Sütte Görünmez Tehlike Aflatoksin M<sub>1</sub>. [www.tarimkutuphanesi.com](http://www.tarimkutuphanesi.com).
- Kaya S, Şanlı Y, Yarsan E, Özsoy A, Akkaya R, Bilgili A. (1996). Çok yönlü hayvan

- yetiştiriciliğinde karma yem ve yem hammaddelerinden kaynaklanan olumsuzluk faktörlerinin araştırılması. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 8(4): 59-80.
- Kaya S., Yarsan E. (1995). Yem Ve Yem Meddelerinde Küflenmenin Önlenmesi Ve Mikotoksinlerle Kirletilmiş Bu Tür Yemlerin Değerlendirilmesine Yönelik Uygulamalar. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 42 (2): 111-122.
- Kulmanow, M.E. (1982). Incidence of aflatoxin contamination of corn grain in several regions of Kazakhstan. *Voprosy, Pitoniya*; No: 6, 68-69 10 ref, Alma-Atinskaya Gorodskaya Sanitarno Epidemiologic Heskaya Stontsiya, Alma-Ata, USSR.
- Madsen, b., Rasmussen, G. (1990). Aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> in maize, rice, millet, bucwheat, lentils, beansand similar commodities in 1987 and 1988. Publikation lew neds middelstyrelson, No: 200, 33 pp, 9 ref., centrallaborits afdeling B, levnedsmiddestyrrelse, Morkhoj bygade 19, DK 2860, Soborg, Denmark.
- Magnoli, C., Chiacchiera, SM., Miazzo, R., Palacio, G., Angeletti, A., Hallak, C., Dalcero, A. (2002). The mycoflora and toxicity of feedstuffs from a production plant in Cordoba, Argentina. *Mycotoxin Res*; 18: 183-192
- Miguel, J.A., Advus, V. (1982). Simple method for simutaneous detn. Of Aflatoxins, Ochtratoxin a and Zearalenone in Agricultural products. *Anales-del-Instituto-Nacinal-de Investigaciones-Agrarias, Ganadera*; No: 15, 101-110, 19 ref., INIA, CRIDA 06(Tajo), Spain.
- Moss, M.O. (1987). Food Mycology in Mycotoxin in Food Kregh, P(ed) Chapter1 p, 3-34, Academic Pres, London.
- Nakamya, R. (2002). Studies on Fungi and aflatoxins in baby foods imported and locally produced in Uganda. MSc Thesis. Department of Botany, MakarereUniversity.
- Nesheim, S. (1976). The ochratoxins and other related compounds. In *Mycotoxins and other Fungal Related Food Problems*. J.V. Rodricks (Editor). *Adv. Chem. Ser.* 149, 276-295 Am. Chem. Soc. Washington, D.C.
- Özkaya Ş., Temiz A. (2007). Aflatoksinler : Kimyasal Yapıları, Toksisiteleri ve Detoksifikasyonları <http://www.mikrobiyoloji.org/dokgoster.asp?dosya=702030101>.
- Özkaya, H. (1989). 6. Ulusal Kükem Kongresi özel sayı, Eylül cilt 12; 2.
- Özkaya, Ş., Elden, E., Başaran, A., Avcı, B. Hızlı., Ş. 1995. Mikotoksinler, İl Kontrol Laboratuarı Mikotoksin Bölümü seminer Notları, Ankara.
- Pantovic, d., Adamovic, V.M. (1980). Mycotoxin contamination of foods, with reference to maximum tolerances. *Hrana-i-ishrana*; 21(7/8) 177-180, 22 ref., Zavod za Zastitu Zdrasiza SR sibije, Belgrade, Yugoslavia.
- Pitt, I. J. (1981). Food Spoilage and Biodeteriation. In *Biology of Conidal Fungi vol 2*. Academic pres New York.
- Ramakrishna, y., Bhat, RV., vasanthi, S. (1990). Naturel Occurence of Mycotoxins in staple foods in India. *Journal of Agricuturel and Food Chemistry*; 38 89) 1857-1859, 25 ref., correspondence (reprint9 address, R.V., Bhat, Food and Drug Toxicol, res. Cent., nat. Int. of Nutr., Indian Council of Med. Res., Jamai Osmania, Hyderabad 500007 India.
- Ranjan, KS., Sahay, SS., Sinha, AK. (1992). The Influence of storage Structure on Aflatoxin Contamination in Wheat and Mustard, Cereals and Bakery products, *Journal of Stored Products, reserach*, 28(3) 221-224, 10 ref., Univ. Dep. of Bot. Bhagalpur Univ., Bhagalpur 812007, India.
- Rose, A.H., 1979. *Secondary Products of Metabolism*, Academic Pres, Economic Microbiology, Volume 3, London.
- Saeed, K.K., 1985. Occurrence ofAflatoxin and Zearalenone in Some Cereal Grains and their Food products in some Iraqi Provinces. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences "Zenco"*; 3(2), 165-177, 21 ref. Dep. Of Bio, Univ. of Salohaddin, Iraq.

- Schindler, A.F., Abadie, A.N., Gecan, S.S., Mislivec, P.B. 1974. Mycotoxins Produced by Fungi Isolated from Inshell Pecans. Journal of Food Science. Volum: 39.
- Schindler, A.F., Abadie, A.N., Gecan, S.S., Mislivec, P.B. 1974. Mycotoxins Produced by Fungi Isolated from Inshell Pecans. Journal of Food Science. Volum: 39.
- Sebunya, T.K., Yourtee, D.M., 1990. Aflatoxigenic Aspergilli in foods and feeds in Uganda. Journal of Food Quality 13, 97-107.
- Sert S. Ayar 2006. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin Bulaşma Kaynakları Ve Alınması Gereken Önlemler. [www.akademiagida.com/kategori.asp?katid=19](http://www.akademiagida.com/kategori.asp?katid=19).
- Sert, S., 1982. Bazı Çevre Faktörlerinin Karma Yemlerde Aflatoksin Oluşumuna Etkisi Üzerine Araştırmalar, Doktora Tezi, Rota baskı, A.Ü., Ziraat Fakültesi Süt ve Gıda Teknolojisi Bölümü Erzurum, 92s.
- Sharmanov, TSH; Nikov, PS., Fadeeva, LM., Bukharbaeva, AS., 1984. Current problems of Mycotoxins. Vapros-pitaniya; No: 1,7-12 11 ref., Kazahski; Filial Inst. Pitaniya AMN, SSSR, Alma-Ata, USSR.
- Shotwell, OL, Hesseltine, CW, 1983. Five year. Study of Mycotoxins in Virginia Wheat and Dutcorn. Journal of association of official analytical Chemists; 66(69, 1466-1469, 10 ref., USDA, ARS, N. Reg. Cent., Peoria, Illinois, 61604, USA.
- Shotwell, Ol., Goulden, MI., Bennett, GA., Plattner Rd., hesseltine, CW., 1977. survey of 1975 wheat and soybeans for aflatoxin, zearalenone, and Ochratoxin. Journal of the association of Official Analytical Chemists; 60(4), 778-783, 12 ref., USDA, N. Regional Res. Cent., Peoria, Ulinois, 61604, USA.
- Soysal Mİ (1998). Biyometrinin Prensipleri (İstatistik I ve II Ders Notları), Yayın No:95, Ders Kitabı No: 64, T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi, 331 s, Tekirdağ.
- Ssebukyu, E.K. (2000). Fungi and aflatoxins in maize in Uganda. MSc. Thesis, Department of Botany Makarere University.
- Sseruwu, G. (2003). Fungal microflora causing maize ear rots in Uganda. MSc. Thesis, Department of Crop Scienc, Makarere University.
- Şahin, G., 1978. Depolama ve Ambalajlama koşullarının besinlerin Toksik maddeler Bulaşması Bakımından İncelenmesi, H.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi Analitik Teknoloji ve Bimotoloji Programı Doktora Tezi, Ankara.
- Şahin, G., S. Duru. (1980). Unlarda AFB<sub>1</sub> sorunu, H.Ü. Eczacılık Fakültesi Analitik Toksikoloji ve Bromotoloji Bilim dalı Gıda 5(4) temmuz, 1980, Ankara.
- Şener S, Yıldırım M . (2000). Toksikoloji, Teknik Yayıncılık, Avcılar- İstanbul.
- Şişman T., Yıldırım Y. (2007). Aflatoksin B<sub>1</sub>'in Zebra balığının (Danio rerio (Hamilton)) Embriyo ve Larvaları Üzerine Olan Toksik Etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11-1: 13-17.
- Tabata, S., Kamimura, H., Ibe, A., Hashimoto, H., Iida, M., Tamura, Y. Nishima, T. (1993). Aflatoxin Contamination in Foods and Foodstuffs in Tokyo. Journal of the AOAC International 76 (1), 32-35.
- Taydaş, E. (1993). Kırmızı Biberlerde Aflatoksin ve Okratoksin Oluşumu Üzerine Araştırmalar, H.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Yüksek Mühendislik Tezi, Ankara.
- Taygur, M. (1991). Tüketim Aşamasındaki Bulgur Örneklerinde Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> ve Okratoksin A Taranması Üzerine Araştırma, Doktora Tezi, H.Ü., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Topal, Ş. (1995). Küflerin gıda ve Yem Maddelerinden İzolasyonu Gıdalarda Küfler ve Mikotoksinler Projesi, genel bilgiler ve Laboratuar çalışma Yöntemleri, TÜBİTAK-MAE, Bes. Gıda ve Tek. Bölümü, Gebze, KOCAELİ
- Van Walbeek, W. Scott, P.M., Thatcher, F.S. (1968). Mycotoxins from Food Boine Fungi, Canadian Journal of Microbiology, 14, 131.

Warner, R.L., Pestka, J.J. (1987). Elisa Survey of Retail Grain Based Food Products for Zearelonone and Aflatoxin B<sub>1</sub>. Journal of Food Protection, 50(6), 502-503, 526, 16 ref., Dep. Of. Food. Sci. Human Nutr., Michigan state univ., East Lansing, Michigan 48824, USA.

Yalçın, S., Çakır, S. (2005). Toksik maddelerin Kontrolü. Yem Magazin. S: 39, s. 35.



## TEŐEKKÜRLER

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 Yrd. Doç.Dr. Fisun KOÇ'a, AFB<sub>1</sub> analizlerdeki yardımlarından dolayı İstanbul İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü Toksin Laboratuvar Şefliği; şef Dr.Didem Hilkat AKSAKAL'a ve personeller Ali Bahadır Çelik, Demet Yaman AYDOĞAN, ile Ahmet ÖZDEMİR'e, bana her konuda maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZGEÇMİŞ

Gümüşhane merkez ilçe Keçikaya köyünde 01.07.1978 tarihinde doğdu. İlkokulu Keçikaya köyü ilkokulunda 1989 yılında, ortaokulu Gümüşhane Atatürk ortaokulunda 1992 yılında, lise öğrenimini de Erzincan Laborant Meslek Lisesi'nde 1995 yılında tamamladı. 1996 yılında Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Sivas İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nde laborant olarak göreve başladı. 1998 yılında Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümünde lisans eğitimine başladı. 2002 yılında lisans eğitimimi bölüm üçüncüsü olarak tamamladı. 2001 yılı içerisinde T.K.B. İstanbul İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'ne ataması yapıldı. 2004 yılında aynı yerde mühendislik kadrosuna geçişim yapıldı ve halen aynı kurumda ziraat mühendisi olarak görev yapmakta. 2005 yılında T.Ü. Fen bilimleri Enstitüsü Zootečni Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Halen Namık Kemal Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Zootečni Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine devam ediyor.

Evli ve bir kız çocuk babası.