

**TEKİRDAĞ'DA SATIŞA SUNULAN  
İHLAMUR (*Tilia spp.*) ve  
KUŞBURNU (*Rosa canina*)  
ÖRNEKLERİNİN AFLATOKSİNLER  
AÇISINDAN İNCELENMESİ**

**Nuray CAN**

**Yüksek Lisans Tezi  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı  
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Serap DURAKLI  
VELİOĞLU**

**2016**

**T.C.**  
**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEKİRDAĞ'DA SATIŞA SUNULAN IHLAMUR (*Tilia spp.*) ve  
KUŞBURNU (*Rosa canina*) ÖRNEKLERİNİN AFLATOKSİNLER  
AÇISINDAN İNCELENMESİ**

**Nuray CAN**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: YRD. DOÇ. DR. Serap DURAKLI VELİOĞLU**

**TEKİRDAĞ-2016**

**Her hakkı saklıdır**

Bu tez NKÜBAP tarafından NKUBAP.00.24.YL.14.18 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Serap DURAKLI VELİOĞLU danışmanlığında, Nuray CAN tarafından hazırlanan “Tekirdağ'da Satışa Sunulan Ihlamur (*Tilia spp.*) ve Kuşburnu (*Rosa canina*) Örneklerinin Aflatoksinler Açısından İncelenmesi” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Yrd. Doç. Dr. Figen DAĞLIOĞLU

*İmza :*

Üye: Yrd. Doç. Dr. Serap DURAKLI VELİOĞLU

*İmza :*

Üye : Yrd. Doç. Dr. Harun URAN

*İmza :*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU  
**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TEKİRDAĞ'DA SATIŞA SUNULAN İHLAMUR (*Tilia* spp.) ve KUŞBURNU (*Rosa canina*) ÖRNEKLERİNİN AFLATOKSİNLER AÇISINDAN İNCELENMESİ

**Nuray CAN**

Namık Kemal Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Serap DURAKLI VELİOĞLU

Bu çalışmada, Tekirdağ'daki market, aktar ve semt pazarlarında satışa sunulan 15 adet ihlamur ve 15 adet kuşburnu örneğinde aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), aflatoksin B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>), aflatoksin G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>) ve aflatoksin G<sub>2</sub> (AFG<sub>2</sub>) varlığı incelenmiştir. Aflatoksin analizleri HPLC yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Nem tayini yapılan, su aktivitesi belirlenen örneklerde toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) ve maya küf sayımı yapılmıştır. Aflatoksin analizi sonucu, bir adet ihlamur örneğinde 0,158 µg/kg AFG<sub>1</sub> ve 0,168 µg/kg AFG<sub>2</sub>, bir diğer ihlamur örneğinde ise 0,162 µg/kg AFG<sub>2</sub> tespit edilmiş olup, örneklerin aflatoksin miktarlarının yasal limitlerin altında olduğu belirlenmiştir. Diğer ihlamur ve kuşburnu örneklerinde ise, düzeyi tayin limitinin (AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> için sırasıyla 0,155; 0,168; 0,156; 0,162 µg/kg) altında olmakla birlikte incelenen aflatoksinlerden en az biri tespit edilmiştir. İhlamur ve kuşburnu örneklerinin ortalama nem miktarı sırasıyla %10,97 ve %14,58 olarak bulunmuştur. Örneklerin ortalama su aktivitesi değerlerinin ihlamur için 0,58, kuşburnu için 0,62 olduğu belirlenmiştir. Örneklerdeki toplam mezofilik aerobik bakteri düzeyi <math>1,0 \times 10^3 - 4,3 \times 10^6</math> kob/g, maya küf düzeyi ise <math>1,0 \times 10^3 - 3,6 \times 10^5</math> kob/g arasında değişiklik göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Aflatoksin, ihlamur, kuşburnu, mikotoksin

**2016, 81 sayfa**

## ABSTRACT

MSc. Thesis

INVESTIGATION of LINDEN (*Tilia* spp.) and ROSEHIP (*Rosa canina*) SAMPLES SOLD  
in TEKİRDAĞ PROVINCE in terms of AFLATOXINS

**Nuray CAN**

Namık Kemal University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Serap DURAKLI VELİOĞLU

In this research, aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), aflatoxin B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>), aflatoxin G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>) and aflatoxin G<sub>2</sub> (AFG<sub>2</sub>) contents of 15 linden and 15 rosehip samples which were provided from supermarkets, sellers of medicinal herbs and bazaar in Tekirdağ, were investigated. HPLC method was used for aflatoxin analysis. Samples were assayed for moisture, water activity, total mesophilic aerobic bacteria and total yeast-moulds. 0.158 µg/kg AFG<sub>1</sub> and 0.168 µg/kg AFG<sub>2</sub> were determined in one of linden samples and 0.162 µg/kg AFG<sub>2</sub> was determined in another linden samples. However aflatoxin levels of these samples were not higher than the maximum permissible levels. The rest of the linden and rosehip samples were determined to be contaminated with at least one of the four aflatoxins with the levels below the limit of quantification (0.155; 0.168; 0.156; 0.162 µg/kg for AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>, respectively). The mean moisture content of linden and rosehip samples were found to be 10.97% and 14.58%, respectively. The mean water activity values were determined as 0.58 and 0.62 for linden and rosehip samples, respectively. Total mesophilic aerobic bacteria counts of the samples ranged between  $<1.0 \times 10^3$ - $4.3 \times 10^6$  cfu/g and total yeast-mould counts of the samples ranged between  $<1.0 \times 10^3$ - $3.6 \times 10^5$  cfu/g.

**Keywords:** Aflatoxin, linden, rosehip, mycotoxin

**2016, 81 pages**

## TEŞEKKÜR

Konunun belirlenmesinden teze son halini verene kadar geçen her aşamada kıymetli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, ilgisini ve zamanını benden esirgemeyen, her konuda desteğini fazlasıyla gördüğüm değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Serap DURAKLI VELİOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aflatoksin analizleri sırasında yardım ve desteğini gördüğüm Sayın Uzman Elif Burcu BAHADIR'a, laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarıyla katkıda bulunan Gıda Mühendisi Tolga BEZGİN ve Şeymanur ÖZALP'e teşekkürlerimi sunarım.

“Tekirdağ'da Satışa Sunulan Ihlamur (*Tilia* spp.) ve Kuşburnu (*Rosa canina*) Örneklerinin Aflatoksinler Açısından İncelenmesi” isimli ve NKUBAP.00.24.YL.14.18 numaralı proje ile tez çalışmasına destek sağlayan NKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

Sevgi ve özveri ile beni yetiştiren, hayata gözlerimi açtığım ilk andan bu güne kadar maddi ve manevi desteklerini her an hissettiğim başta annem İksane CAN ve babam Ahmet CAN olmak üzere sevgili aileme çok teşekkür ederim.

Haziran 2016

Nuray CAN

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>ÇİZELGE DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>ŞEKİL DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	<b>5</b>
2.1. Mikotoksinler.....	5
2.2. Aflatoksinler.....	8
2.2.1. Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	9
2.2.2. Aflatoksinlerin oluşumu.....	11
2.2.3. Aflatoksinlerin toksik etkileri.....	14
2.2.3.1. İnsanlarda yarattığı toksik etkiler.....	14
2.2.3.2. Hayvanlarda yarattığı toksik etkiler.....	18
2.2.4. Aflatoksinlerle ilgili yasal düzenlemeler.....	21
2.3. Bitki Çayları.....	21
2.3.1. İhlamur.....	28
2.3.2. Kuşburnu.....	31
2.3.3. Bitki çaylarında mikrobiyel kalite.....	33
2.3.4. Bitki çaylarında mikotoksin varlığı.....	39
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	<b>44</b>
3.1. Materyal.....	44
3.2. Yöntem.....	44
3.2.1. Nem tayini.....	44
3.2.2. Su aktivitesinin belirlenmesi.....	44
3.2.3. Mikrobiyolojik analizler.....	45
3.2.3.1. Örneklerin hazırlanması.....	45
3.2.3.2. Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayımı.....	45
3.2.3.3. Maya ve küf sayımı.....	45
3.2.4. Aflatoksin analizi.....	45
3.2.4.1. Aflatoksin analizinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması.....	45



3.2.4.2. Aflatoksin'e ait kalibrasyon grafiğinin oluşturulması, alıkonma zamanı, tespit limiti, tayin limiti ve geri alma oranlarının belirlenmesi.....	46
3.2.4.3. Ekstraksiyon, Filtrasyon ve Saflaştırma.....	47
3.2.4.4. HPLC aşaması.....	47
<b>4. ARAşTIRMA BULGULARI ve TARTIşMA.....</b>	<b>48</b>
4.1. Nem Tayini.....	48
4.2. Su Aktivitesi.....	49
4.3. Mikrobiyolojik Analizler.....	51
4.4. Aflatoksin Analizi.....	54
4.4.1. Aflatoksin'e ait kalibrasyon grafiğinin oluşturulması, alıkonma zamanı, tespit limiti, tayin limiti ve geri alma oranlarının belirlenmesi.....	54
4.4.2. Örneklerin aflatoksin miktarları.....	58
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>63</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>65</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>76</b>
Ek 1. Gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum aflatoksin limitleri.....	76
Ek 2. Hayvan yemlerinde kabul edilebilir en yüksek aflatoksin B <sub>1</sub> düzeyleri.....	78
Ek 3. İhlamur ve kuşburnu örneklerinde HPLC ile aflatoksin analizine ait örnek kromatogramlar.....	79
<b>ÖZGEÇMİş.....</b>	<b>81</b>

## ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bazı mikotoksinler, üretici küfleri, buldukları ürünler ve etkileri.....	6
Çizelge 2.2. Aflatoksinlerin bazı özellikleri.....	11
Çizelge 2.3. Aflatoksin üretme yeteneğine sahip <i>Aspergillus</i> türleri.....	12
Çizelge 2.4. Bazı hayvanlarda aflatoksin B <sub>1</sub> için bildirilen letal dozlar.....	19
Çizelge 2.5. Çay şeklinde tüketilen bazı bitkiler, kullanılan kısımları ve ait oldukları cins ya da tür.....	27
Çizelge 4.1. İhlamur ve kuşburnu örneklerinin nem miktarları.....	49
Çizelge 4.2. İhlamur ve kuşburnu örneklerine ait su aktivitesi değerleri.....	50
Çizelge 4.3. İhlamur ve kuşburnu örneklerinin TMAB ve maya küf düzeyi.....	53
Çizelge 4.4. Aflatoksin B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> ve G <sub>2</sub> 'ye ait LOD ve LOQ değerleri.....	57
Çizelge 4.5. Kuşburnu ve İhlamur için aflatoksin G <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , B <sub>1</sub> geri alma oranları.....	57
Çizelge 4.6. İhlamur ve kuşburnu örneklerine ait aflatoksin B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> , G <sub>2</sub> ve toplam aflatoksin değerleri.....	59

## ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapıları.....	10
Şekil 2.2. Bitki çaylarının kurutulması.....	25
Şekil 2.3. Gingseng köklerinin kurutulması.....	25
Şekil 2.4. Bitki çayı üretim aşamaları.....	26
Şekil 2.5. İhlamur çiçek ve braktesi.....	29
Şekil 2.6. <i>Rosa canina</i> (kuşburnu) çiçek ve meyvesi.....	31
Şekil 4.1. Aflatoksin B <sub>1</sub> 'in kalibrasyon grafiği.....	54
Şekil 4.2. Aflatoksin B <sub>2</sub> 'in kalibrasyon grafiği.....	55
Şekil 4.3. Aflatoksin G <sub>1</sub> 'in kalibrasyon grafiği.....	55
Şekil 4.4. Aflatoksin G <sub>2</sub> 'in kalibrasyon grafiği.....	56
Şekil 4.5. Aflatoksin standardına ait kromatogram.....	56
Şekil 4.6. Aflatoksin geri alımına ait kromatogramlar; (a) ıhlamur, (b) kuşburnu.....	58

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

$\mu\text{g}$	:Mikrogram
$\mu\text{L}$	:Mikrolitre
$\mu\text{m}$	:Mikrometre
$a_w$	:Su aktivitesi
$^{\circ}\text{C}$	:Derece santigrat
Ca	:Kalsiyum
dk	:Dakika
Fe	:Demir
g	:Gram
kg	:Kilogram
Kob	:Koloni oluşturan birim
L	:Litre
$\text{LD}_{50}$	:Letal doz
M	:Metre
M	:Molar
Mg	:Magnezyum
mg	:Miligram
ml	:Mililitre
mm	:Milimetre
Mn	:Mangan
Na	:Sodyum
ng	:Nanogram
nm	:Nanometre
$R^2$	:Regresyon katsayısı
Zn	:Çinko

## Kısaltmalar

AB	:Avrupa Birliği
ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
AOAC	:Analitik Topluluklar Derneği
BM	:Birleşmiş Milletler
DON	:Deoksinivalenol
ELISA	:Enzim Bağlanmış İmmunoabsorbant Yöntemi
FAO	:Gıda ve Tarım Örgütü
FB	:Fumonisin B
HPLC	:Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
IARC	:Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
ISO	:Uluslararası Standartlar Teşkilatı
LC-MS	:Sıvı kromatografisi-Kütle spektrometresi
OTA	:Okrotoksin A
PCA	:Plate Count Agar
PDA	:Potato Dekstroz Agar
ppb	:Milyarda bir birim; µg/kg
ppm	:Milyonda bir birim; µg/g
spp.	:Türler
THIE	:Avrupa Çay ve Bitkisel İnfüzyonlar Derneği
TLC	:İnce Tabaka Kromatografisi
TMAB	:Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri
TS	:Türk Standardı
UNSCOM	:Birleşmiş Milletler Özel Komisyonu
UV	:Ultraviyole
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü
yy	:Yüzyıl
ZEA	:Zearalenon

## 1. GİRİŞ

Doğada hemen hemen her alana yayılmış olan küfler, heteretrof, filamentli ve çok hücreli funguslardır. Aerobik mikroorganizmalar olup 0-60 °C gibi oldukça geniş sıcaklık aralığında gelişebilmelerine rağmen genellikle mezofiliktirler (Erginkaya ve Kabak 2010). Endüstride vitamin, enzim, antibiyotik, alkol, organik asit gibi çeşitli maddelerin üretiminde küflerden faydalanılmaktadır. Bununla birlikte küfler, uygun şartlar oluştuğunda gıdalarda gelişerek birtakım istenmeyen değişikliklere ve bozulmalara yol açabilmekte, daha da vahimi mikotoksin olarak adlandırılan çeşitli toksik metabolitleri üretebilmektedir (Taydaş ve Aşkın 1995). Durumun vehameti, görünüş itibarı ile bozuk veya küflü gıdalar insanlar tarafından tüketilmemesine rağmen mikotoksinlerin varlığının, çoğu kez doğrudan anlaşılmasından kaynaklanmaktadır (Duru ve Özgüneş 1984).

Küf kontaminasyonunun hayvanlarda yol açtığı hastalıklar çok uzun yıllardır bilinmesine rağmen, İngiltere’de kümes hayvanları arasında bir salgın hastalığın baş gösterdiği 1960 yılına kadar mikotoksinler ve canlılar üzerinde meydana getirdiği toksik etkiler yeterince anlaşılammıştır. Bu salgına, sonradan aflatoksin adı verilen, bir küf toksininin sebep olduğunun anlaşılması ile mikotoksinler tüm dünyanın ilgi odağı haline gelmiştir (Duru ve Özgüneş 1984).

Mikotoksinlerin ülkemizin gündemine girmesi ise 1967 yılında Kanada’ya ihraç edilen 10 ton iç fıncığın aflatoksin içerdiği gerekçesiyle geri çevrilmesi sonucu olmuştur. Bu olaydan 4 yıl sonra Amerika’ya ihraç edilen yer fıncıklarının, 1972 yılında ise Danimarka’ya ihraç edilen kuru incirlerin yüksek miktarda aflatoksin içerdiği ortaya çıkmıştır. 1987 yılında kuru incir ve 1994 yılında ise kırmızı pul biber ihracatında aflatoksin varlığı nedeniyle sorunlar meydana gelmiştir. İhracatı yapılan ürünlerde mikotoksinlerin varlığına ilişkin sorunlar aflatoksinle de sınırlı kalmamış, 1996-1997 yıllarında İngiltere’ye ihraç edilen kuru üzümde yüksek miktarda okratoksin A tespit edilmesiyle yeniden gündeme gelmiştir. Günümüzde de ilgili düzenlemelerde belirtilen mikotoksin limitlerini aştığı saptanan çeşitli ihraç ürünleri ile ilgili sıkıntılar yaşanabilmektedir (Kabak ve Var 2006). Bunların, Avrupa Birliği ihracat prosedüründe yer alan uyarı, bilgilendirme, red ve haber bildirimlerini kapsayan hızlı alarm sistemi sayesinde risk tespit edilen diğer gıda ve yem ürünlerinde olduğu gibi ülkemize iadesi gerçekleştirilmekte ve üye ülkeler durumdan haberdar edilmektedir (Çifçi 2013, Anonim 2016a).

Aflatoksinler en toksik ve en önemli mikotoksinlerdendir (Ashiq ve ark. 2014). En karsinojenik bileşenler arasında yer alması ve önemli ekonomik kayıplara neden olması aflatoksinler üzerindeki ilgiyi arttırmıştır (Aksoy 1990, Adams ve Moss 2007). Badem, Brezilya fıstığı, fındık, antep fıstığı, kaju, ceviz, pekan cevizi, yer fıstığı ve ürünleri, incir, kavun tohumu, balkabağı tohumu, susam tohumu, ayçiçeğı tohumu, lotus tohumu, badem ezmesi, kırmızıbiber, beyaz biber, paprika, chili, muskat, zencefil, köri, tarçın, kimyon gibi çeşitli baharatlar ile bitki çayları, pirinç, mısır ve mısır ürünleri, tahıllar, millet, sorgum, soya küspesi, pamuk, fasulye, karabuğday, kakao ürünleri, kurutulmuş hindistan cevizi içi ile yumurta, süt, peynir, yoğurt, et gibi hayvansal ürünlerde aflatoksin bulunabildiği ortaya konmuştur (Wilson ve ark. 2002, Heperkan 2006, Ashiq ve ark. 2014).

Dünya'da yaklaşık 1 000 000 bitki türünün bulunduğu ve bunlardan 500 000 kadarının şu ana dek tanımlanmış olduğu ifade edilmektedir. Türkiye'de 3900'ü endemik olmak üzere 12 000 civarında bitki türü yetişmektedir. Avrupa kıtasında yetişen 12 000 dolayında bitki türünden 2500'ünün endemik bitki türleri olduğu göz önüne alındığında ülkemizin bitki çeşitliliği ve sayısı yönünden dünyadaki en zengin ülkelerden biri olduğu açıkça görülmektedir. Dünyada 20 000-70 000 civarında, ülkemizde ise 500 kadar bitkinin gıda, baharat olarak ve tıbbi amaçlarla kullanıldığı kabul edilmekte olup, Türk Farmakopesi'nde 35-40 tıbbi bitki ve bitkisel ürünün tanımlandığı bildirilmektedir (Kaya 2011). Tıbbi ve aromatik bitki ticaretinde söz sahibi ülkelerden biri olan ülkemiz, kekik, defne yaprağı, kimyon, anason, rezene tohumu, ardıç kabuğu, mahlep, çemen, biberiye, meyan kökü, nane, sumak, adaçayı ve ıhlamur çiçeği ihracatı yapmaktadır (Bayram ve ark. 2010).

Ülkemizde 50-60 civarında bitkinin çay formunda tüketildiği ifade edilmektedir (Sezik 2004). Binlerce bitkiden çay şeklinde yararlanmak mümkün olmakla birlikte, bir bitkinin çay şeklinde tüketilmesini etkileyen başlıca faktörleri, ülke kültürü, kişisel bilgi birikimi ile bölgedeki bitki çeşitliliği olarak saymak mümkündür (Akgül ve Ünver 2001).

Türkiye'de çay tüketim alışkanlıklarının değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilen bir araştırmada 15 ilde toplam 1661 kişi üzerinde anket uygulanmıştır. Bitki çayı tükettiğini belirten katılımcıların %58,3'ünün bitki çaylarını marketten hazır poşet çay olarak aldığı, %29,7'sinin ise aktardan alarak kendilerinin demlediği ortaya konmuştur. Araştırmaya katılanların %46,2'sinin poşet bitki çaylarını tükettiği, poşet bitki çaylarının poşet siyah çaylardan daha fazla tüketildiği belirlenmiştir. Katılımcılar tarafından poşet bitki çaylarını tüketme nedenleri, demlemesinin pratik olması (%65,6), çeşit sayısının fazla olması (%46,3),

sağlıklı olduğunun düşünülmesi (%42,3), tat ve aromasının sevilmesi (%42,2), çeşitli rahatsızlıklara iyi gelmesi (%40,5) ve doğal olduğunun düşünülmesi (%33,3) olarak ifade edilmiştir. Poşet bitki çayı tüketenlerin %59,1 ile en yüksek oranda ıhlamuru tercih ettiği, onu sırasıyla %32,8 ile adaçayı ve %30,3 ile kuşburnunun izlediği bildirilmiştir (Ulusoy ve Şeker 2013).

Bitki çayları, içerdiği sağlığa faydalı bileşenlerden yararlanmak, çeşitli rahatsızlıkları gidermek gibi amaçlarla ve alternatif bir sıcak içecek olarak yetişkinler tarafından tercih edildiği gibi aynı maksatla çocuklara da içirilmektedir. Ülkemizde bu amaçlara yönelik olarak kullanılan bitki çaylarının başında ıhlamur ve kuşburnunun geldiği yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur.

Soğuk algınlığında reçetesiz ilaç ve geleneksel yöntem (tamamlayıcı ve alternatif tedavi) kullanım sıklığı ile kullanılan reçetesiz ilaç ve geleneksel yöntemlerin neler olduğunun saptanması amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada Aslan (2014) katılımcıların %96'sının geleneksel yöntemleri uyguladığını belirlemiştir. Bu yöntemler arasında ilk sırayı %76,4 ile bazı yiyecek-içeceklerin tüketilmesi alırken, ikinci sırada %72,8 ile bitki çayları tüketimi yer almıştır. En fazla tercih edilen bitki çayı %43,4 ile ıhlamur olurken kuşburnu da aynı amaçla kullanıldığı belirlenmiştir. Çalışma kapsamında, Aile Sağlığı Merkezlerinde görev yapan doktorların soğuk algınlığı durumunda tamamlayıcı ve alternatif tedavi (TAT) uygulamalarına bakış açısı da ele alınmıştır. Çalışmaya katılan doktorların %85,1'inin hastalarına soğuk algınlığına yakalanmaları durumunda çeşitli TAT yöntemlerini önerdiği, %82,6'sının kendisi için de aynı yöntemleri kullandığı tespit edilmiştir. Doktorların kendileri için uyguladığı ve hastalarına önerdiği yöntemler arasında ıhlamur ve karışık bitki çayları içilmesinin yanı sıra ballı ıhlamur, zencefilli ıhlamur gibi özel tariflerin de yer aldığı görülmüştür.

Polat ve ark. (2012) tarafından yapılan, Bingöl'de dağ ve yaylalardan toplanarak yerel pazarlarda satışa sunulan bitkiler ve kullanım şekillerinin incelendiği çalışmada kuşburnu meyvelerinin taze olarak, reçel yapılarak ve soğuk algınlığı, grip, bronşit gibi rahatsızlıklara karşı tıbbi amaçla infüzyon yoluyla hazırlanarak çay şeklinde tüketildiği saptanmıştır. Bir diğer çalışmada Gümüşhane ilinde aktarlardan alınarak yöre halkı tarafından tedavi amaçlı kullanılan bitkiler ile miktarları incelenmiş, 2010, 2011 ve 2012 yıllarının ortalaması baz alınarak hesaplanan sonuçlara göre 630 kg/yıl ile kuşburnunun ilk sırada yer aldığı, onu sırasıyla böğürtlen (588 kg/yıl) ve ıhlamurun (420 kg/yıl) izlediği bildirilmiştir (Fidan ve ark. 2013).



Araz ve Bülbül (2011), ebeveynlerin kendileri ve 1 aylık ile 17 yaş aralığında olan çocukları için tercih ettikleri tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemlerini inceledikleri çalışmalarında, en fazla tercih edilen seçeneğin bitkisel tedavi olduğunu ortaya koymuştur. Ebeveynlerin %72'sinin kendileri ve %58,6'sının çocukları için bitkisel ürünleri kullandığı saptanmış olup, sırasıyla öksürük, diyare, kabızlık ve gaz sancısı gibi sorunları gidermek bu ürünlerin kullanım amaçları arasında ilk sıralarda yer almıştır. Aydın ve ark. (2008) tarafından yapılan bir araştırmada, çalışmaya katılanların %55,4'ünün bitkisel tedavi yöntemlerini kullandığı, korunma ve tedavi olmanın amaçlarının başında yer aldığı, en sık kullanılan bitkinin ıhlamur olduğu (%88,1), son bir yılda en az bir tamamlayıcı ve alternatif tıp yöntemini çocukları için uygulayanların oranının %26,7 olduğu tespit edilmiştir.

Diğer taraftan sıklıkla tıbbi amaçlarla kullanılan ıhlamur ve kuşburnunun da aralarında yer aldığı bitki çaylarının aflatoksin ve diğer mikotoksinler ile kontamine olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur (Halt 1998, Martins ve ark. 2001a, Santos ve ark. 2009).

Ülkemizde ıhlamur ve kuşburnuna yönelik olarak uçucu bileşenlerin belirlenmesi (Toker ve ark. 1999, Demir ve ark. 2014, Murathan ve ark. 2016), fenolik bileşenlerin varlığı (Karakaya ve El 1999, Toker ve ark. 2001, Demir ve ark. 2014), antioksidan aktivite (Orhan ve ark. 2009, Demir ve ark. 2014, Yayalacı ve ark. 2014), mineral içeriği (Özcan ve ark. 2008, Kara 2009), antimikrobiyel aktivite (Aydın ve ark. 2008, Arık 2011, Albayrak ve ark. 2012), mikrobiyel kalite (Özyaral ve ark. 1994, Kaya 2006, Arslan 2013) gibi konularda araştırmalar yapılmıştır. Ancak bu ürünlerde mikotoksin kontaminasyonunun incelendiği çalışma sayısı oldukça azdır (Omurtag ve Yazıcıoğlu 2004, Arslan 2013, Dağdelen ve ark. 2014).

Bu çalışma ile insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuş olan aflatoksinlerin, çayı yapılarak yaygın şekilde tüketilen ıhlamur ve kuşburnundaki varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle aktar, pazar ve marketlerden temin edilen ıhlamur ve kuşburnu örneklerinde aflatoksin B<sub>1</sub>, aflatoksin B<sub>2</sub>, aflatoksin G<sub>1</sub> ve aflatoksin G<sub>2</sub> düzeyi incelenmiş ve yasal düzenlemelerle bildirilen limitlere uygunluğu belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca örneklerde nem tayini, su aktivitesi analizi ile TMAB ve maya küf sayımı yapılmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Mikotoksinler

Uygun koşullarda işlenmemiş ham materyalde çoğalan küfler, ürünün kalite özellikleri üzerinde etkili olmakta, bozulmasına neden olabilmekte, bunun yanında insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olan toksik maddeleri oluşturmaktadırlar (Sabuncuoğlu ve ark. 2008, Erginkaya ve Kabak 2010). Bu maddeler küflerin büyüme ve gelişimi üzerinde hiçbir biyokimyasal önemi olmayan sekonder metabolitler olup “mikotoksin” olarak adlandırılmaktadır (D’Mello ve Macdonald 1997, Peraica ve ark. 1999, Hussein ve Brasel 2001). Mikotoksin kelimesi Yunanca mantar anlamına gelen “mykes” ve Latince zehir anlamına gelen “toxicum” kelimelerinin birleşmesinden elde edilmiştir (Aydın 2007).

Günümüzde yaklaşık 400 kadar mikotoksin tanımlanmış olup, mikotoksin üreten küf sayısının 350’yi bulduğu bilinmektedir (Tunail 2000). *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* ve *Claviceps* başta olmak üzere çeşitli küf türleri mikotoksin üretme yeteneğine sahiptir (Çoksöyler ve ark.1992, Huwig ve ark. 2001, Adams ve Moss 2007). Bir küf türü birden fazla sayıda mikotoksin üretebilmekte, aynı zamanda bir mikotoksin farklı küf türleri tarafından sentezlenebilmektedir (Tunail 2000). En sık karşılaşılan mikotoksinler arasında aflatoksin, fumonisin, okratoksin, patulin, trikotesen ve zearalenon yer almaktadır (Huwig ve ark. 2001).

Mikotoksinlerin doğrudan veya dolaylı olarak tüketimi sonucu insan ve hayvanlar üzerinde meydana getirdiği toksik etkiler “mikotoksikozis” olarak tanımlanmakta olup, bu etkinin şiddeti mikotoksinin toksisitesine, organizmanın maruz kalma derecesine, yaşına, beslenme durumuna ve maruz kalınan diğer kimyasallarla olası sinerjistik etkileşime bağlıdır (Peraica ve ark. 1999). Çizelge 2.1’de mikotoksikozise neden olan bazı mikotoksinler, bunları oluşturan küfler, buldukları başlıca ürünler ve etkileri verilmiştir.

**Çizelge 2.1.** Bazı mikotoksinler, üretici küfleri, buldukları ürünler ve etkileri (Yurdun 1996, Tunail 2000, Kaya 2001)

<b>Mikotoksin</b>	<b>Küf Türleri</b>	<b>Bulduğu Ürün</b>	<b>Etkileri</b>
Aflatoksin	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	Tahıllar, hayvan yemleri, yer fıstığı, fındık vb., süt	Gelişme hızı ve verimde azalma, sarılık, karaciğer kanseri, bağışıklık sisteminin baskılanması
Fumonisin	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. subglutinans</i> , <i>F. graminearum</i>	Mısır	Karaciğer tümörü, beyin ve akciğer yangısı
Okratoksin	<i>A. ochraceus</i> , <i>Penicillium viridicatum</i>	Tahıllar, sebzeler, domuz eti, balık ürünleri, malt	Karaciğer ve böbrek hasarı, iştah kaybı, ishal, bağışıklık sisteminin baskılanması
Patulin	<i>P. expansum</i> , <i>P. patulum</i> , <i>A. clavatus</i> , <i>A. giganteus</i>	Meyveler, meyve suları, malt embriyosu, yemler	Nörotoksik, beyin kanaması ve deri kanseri
Trikotesen (Diasetoksisirpenol, T-2 Toksin, Nivalenol)	<i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>Myrothecium roridum</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Trichothecium roseum</i>	Tahıllar, fasulye, meyve ve sebzeler	Kanamalar, deride nekroz
Zearelenon	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. roseum</i>	Tahıllar, fasulye, yemler	Vulvavajinitis, abortus
Sitrinin	<i>P. citrinum</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>A. terreus</i>	Tahıllar, fasulye	Sinirsel belirtiler, gelişme geriliği, karaciğer ve böbrek nekrozu, kalp ve iskelet kasında miyopati ve karaciğer kanseri
Ergot alkoloidler	<i>Claviceps purpurea</i> , <i>C. paspali</i>	Tahıllar	Kılcal damar çeperlerinde daralma, kangren
Penisilik asit	<i>P. martensii</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>P. aurantiogriseum</i> , <i>A. alutaceus</i>	Pirinç ve diğer tahıllar	Deri kanseri ve kanamalar
Sterigmatosistin	<i>A. versicolor</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. flavus</i>	Buğday, yer fıstığı, yemler	Karaciğer kanseri
Penitrem	<i>P. palitans</i> , <i>P. crustosum</i>	Tahıllar	Kas titremeleri, felç ve çarpınmalar

Küflerin neden olduğu zehirlenmelere ilişkin veriler eski tarihlere dayanmaktadır. Tarihte bilinen ilk mikotoksikozis, *Claviceps purpurea* ile enfekte olmuş tahılların tüketilmesi sonucu görülen, ergotizm adı verilen mikotoksikozis olayıdır. *Claviceps purpurea*, kışın zorlu şartlarını geçirmek üzere çavdar, buğday, tritikale, yulaf, arpa gibi tahıllarda taneye başaktayken yerleşerek toksik etkili alkaloidleri içeren ergot adı verilen kahverengi bir sklerotyum oluşturmaktadır. Orta Çağ'da ergot alkaloidleri ile enfekte olmuş tahılların tüketimi sonucu ortaya çıkan, binlerce kişinin etkilendiği hastalığın bulguları arasında şiddetli ağrı, kol ve bacaklarda büzülme, vücutta aşağıdan yukarıya doğru yayılan kangren, kangren kısmın şiddetli sıcaklık hissi ile birlikte acı ve kan kaybı olmadan düşmesi yer almaktaydı. O dönem "St. Anthony Ateşi" adıyla bilinen hastalık 9. ve 18. yy'lar arasında Avrupa'da çok sayıda salgın olarak ortaya çıkmış, binlerce insanın ölümüne neden olmuştur. 19.yy'da hastalığa *Claviceps purpurea*'nın neden olduğunun anlaşılması ile gizemi ortadan kalkan hastalığa "ergotizm" adı verilmiş, son olarak 1978 yılında Etiyopya'da görülmüş, yaşları 5 ile 34 arasında değişen 93 kişiden 47'sinin ölümüyle sonuçlanmıştır (Christensen 1975, Duru ve Özgüneş 1984, Anonim 1990, Adams ve Moss 2007).

Binlerce insanın ölümüyle sonuçlanan bir diğer mikotoksikozis vakası da 2. Dünya Savaşı sırasında Rusya'da meydana gelmiştir. Savaş şartlarından dolayı hasadı yapılamayan ve bir kış boyunca tarlada kalan tahıllarda gelişen *Fusarium sporotrichioides* ve *F. poae* tarafından T-2 toksin üretilmiştir. Bu tahılları tüketen insanlarda parmak, dudak ve ağız mukozalarında ülserasyonlar, kemik iliğinde dejenerasyonlar ve lökositlerde anormal düzeyde azalma ile ortaya çıkan "alimentary toxic aleukia (ATA)" görülmüş, oldukça şiddetli seyreden bu hastalıktan etkilenen kesimde ölüm oranı %60'a varmıştır. Yine Rusya'da aynı yıllarda atlarda da benzer bir hastalık görülmüş, *Stachybotrys alterans* küfünün gelişerek toksin ürettiği samanların yem olarak kullanılmasının neden olduğu hastalığa "stakibotriyotoksikozis" adı verilmiştir (Sert 1985, Shephard 2008).

Dünya çapında bilinen en büyük ve en ağır akut aflatoksikozis salgınlarından biri kısa zaman önce Kenya'da meydana gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü, 2004 yılı Mayıs ayında Kenya Sağlık Bakanlığı tarafından bazı illerde görülen geniş kapsamlı sarılık vakalarını araştırmak üzere bölgeye davet edilmiştir. Ön laboratuvar çalışmaları ile hastalıktan etkilenen bölgelerden toplanan gıdaların yüksek düzeyde aflatoksin içerdiğinin ortaya konması, aynı bölgede 1981 yılında meydana gelen salgında olduğu gibi, salgının aflatoksin zehirlenmesinden kaynaklanabileceğini akıllara getirmiştir. Merkez ve Doğu bölgelerinde

yaşları 1 ile 80 arasında değişen bireylerin yanı sıra aynı ürünleri tüketen evcil hayvanlar ve çiftlik hayvanları da aflatoksikozis salgınından etkilenmiştir. Yapılan incelemeler ile hastaların evlerinden alınan mısır örneklerinin 20-8000 ppb aflatoksin içerdiği ve bu aflatoksin düzeylerinin salgından etkilenmeyen bireylerin evlerinden alınan örneklerden yüksek olduğu tespit edilmiştir. 2004 yılı Nisan ve Eylül ayları arasında 317 kişinin etkilendiği 125 kişinin öldüğü, 2005 yılında ise 16 kişinin ölümüne neden olan akut aflatoksin zehirlenmesine bölgede yetiştirilen ve nemli koşullarda depolanan mısır ile bunlardan elde edilen ürünlerin neden olduğu ortaya çıkmıştır. 2004 Şubat ayında normalden erken başlayan yağmurlar çiftçileri, tarladaki mısırları yüksek nem içeriği ile hasat etmek ve depolamak zorunda bırakmıştır. Ambarlar yerine ailelerin yaşadığı çatısı ot ile kaplanmış olan barakaların zemininde depolanan mısırların nem içeriği, barakaların bazılarının çatılarının yağmurlar boyunca akması nedeniyle daha da artmıştır. Mart ve sonraki aylarda meydana gelen sıcak ve nemli hava koşulları mısırlarda aflatoksin üreten küflerin gelişmesi ve aflatoksin sentezlemesi için gerekli ortamı sağlamıştır (Nyikal ve ark. 2004, Lewis ve ark. 2005, Okioma 2008).

Tarih boyunca küflerin neden olduğu birçok vaka yaşanmasına rağmen mikotoksinlerin bilimsel araştırmaların odağı haline gelmesi 1960’larda aflatoksinlerin bulunuşuna dayanmaktadır (Uylaşer ve Başoğlu 1992, Taydaş ve Aşkın 1995).

## 2.2. Aflatoksinler

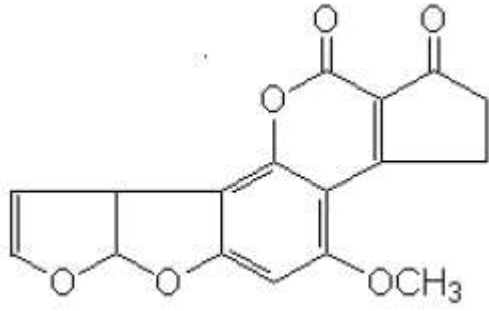
1960 yılında İngiltere’de kümes hayvanlarında bir salgın hastalığın baş göstermesiyle, aflatoksin yoğun bir araştırmanın odağı olmuştur. Akut karaciğer nekrozu, uyuşukluk, ölüm anında baş ve boyunda alışılmadık bir hal ile karakterize edilen hastalığın sebebi başta anlaşılamamış ve bu nedenle hastalığa “Turkey X Disease (Hindi X Hastalığı)” adı verilmiştir. 100.000 hindi palazı ile bazı kümes hayvanlarının ölümüyle sonuçlanan ve en az birkaç yüz bin dolarlık zarara neden olan bu hastalığın nedenleri araştırılmaya başlanmıştır. Araştırmalar sonucu hastalığa, küflü yer fıstığı küspeleri ile hazırlanan yemlerin neden olduğu anlaşılmış, yemlerde protein kaynağı olarak kullanılan yer fıstığı küspelerinin yoğun bir şekilde *Aspergillus flavus* ile kontamine olduğu gösterilmiştir. Yemde gelişerek toksik ögeler üreten *Aspergillus flavus*’un, yemden izole edilmesinin ardından çalışmalar toksik metabolit üzerine yoğunlaşmıştır. Yoğun çaba sarf eden araştırmacılar tarafından izole edilen ve tanımlanan toksine “a” *Aspergillus* ve “fla” *flavus*’tan gelmek üzere “aflatoksin” adı verilmiştir (Christensen 1975, Palmgren ve Hayes 1987).

### 2.2.1. Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri

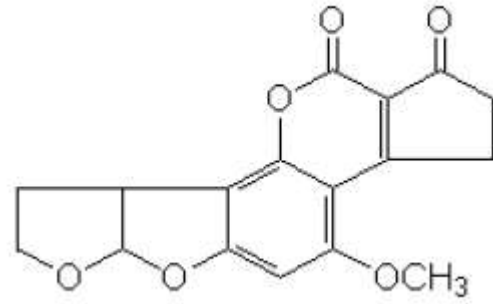
Aflatoksinler, *Aspergillus* cinsine ait farklı türler tarafından oluşturulan ve üzerinde en çok araştırma yapılan mikotoksin grubudur. Bir kumarin halkaya bağlı dihidrofuran veya tetrahidrofuran yapıdadırlar. Diğer birçok heterosiklik bileşen gibi aflatoksinler (AF) de floresan özellik göstermekte ve bu özellikleri sayesinde ayırt edilmektedir (Hussein ve Brasel 2001). Ultraviyole ışın altında verdikleri renge ithafen, mavi floresan verenler AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub>, yeşil floresan verenler AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> olarak adlandırılmıştır (Christensen 1975). Toksinlerin isimlerindeki rakamlar ise toksisite derecesini göstermekte olup, “1” yüksek toksisiteyi, “2” daha düşük toksisiteyi ifade etmektedir (Tunail 2000). Aflatoksin B<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub>, aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'in dihidro türevleridir ve *in vivo* koşullarda metabolik olarak AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub>'e okside olmadıkları sürece biyolojik olarak inaktiftirler (Özkaya ve Temiz 2003).

Aflatoksin içeren yemle beslenen çiftlik hayvanlarının sütlerinde bu toksinin türevine rastlanmış ve süt kaynaklı olmasından dolayı AFM ile sembolize edilmiştir. Bu hayvanların vücutlarına aldıkları aflatoksinin %2 kadarının süte geçtiği belirlenmiş olup, AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub>'nin sütteki hidroksi türevleri AFM<sub>1</sub> ve AFM<sub>2</sub>'dir (D'Mello ve Macdonald 1997, Tunail 2000, Özkaya ve Temiz 2003).

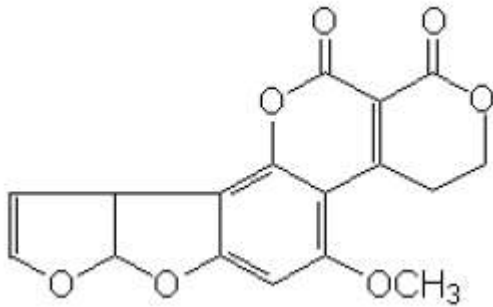
*Aspergillus flavus*'un doğal metabolitleri olarak izole edilen B<sub>2a</sub> ve G<sub>2a</sub>, aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'in 2-hidroksi türevleri olup, oldukça yüksek dozlarının bile aflatoksine karşı en duyarlı hayvanlar olarak bilinen ördek yavrularında dahi toksik etki göstermediği belirlenmiştir. AFB<sub>3</sub> ise *A. parasiticus* tarafından üretilen ve mavi floresan veren bir aflatoksin türevidir (Goldblatt 1969, Tunail 2000). Günümüzde tanımlanan aflatoksin türevleri sayısının 20'nin üzerinde olduğu bilinmekle birlikte AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> bu grubun en önemli toksinleri olarak görülmektedir (Hussein ve Brasel 2001, Oruç 2005, Yentür ve Er 2012). Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapıları Şekil 2.1'de verilmiştir.



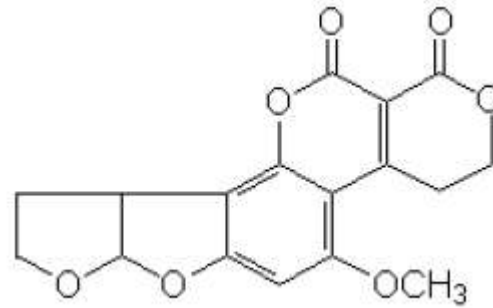
Aflatoxin B<sub>1</sub>



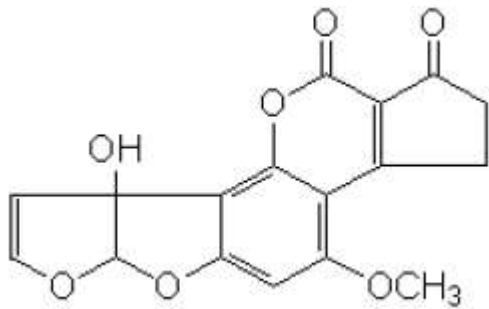
Aflatoxin B<sub>2</sub>



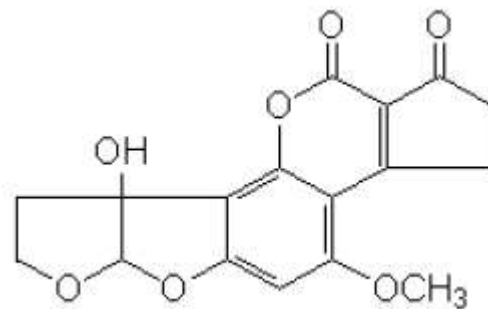
Aflatoxin G<sub>1</sub>



Aflatoxin G<sub>2</sub>



Aflatoxin M<sub>1</sub>



Aflatoxin M<sub>2</sub>

Şekil 2.1. Bazı aflatoxinlerin kimyasal yapıları

Aflatoksinler renksiz veya çok açık sarı renkte kristal şekindedirler. Suda çok az miktarda (10-30 µg/ml) çözünmekte, apolar çözücülerde ise hiç çözünmemektedirler. Kloroform, metanol, dimetil sülfoksit gibi organik polar çözücülerde kolaylıkla çözünebildiklerinden kloroform-su, metanol-su, asetonitril-su karışımları aflatoksin ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (Anonim 2002, Blesa ve ark. 2003). Aflatoksinlere ait bazı özellikler Çizelge 2.2’de verilmiştir.

**Çizelge 2.2.** Aflatoksinlerin bazı özellikleri (Anonim 2016b)

Aflatoksin	Molekül Formülü	Molekül Ağırlığı	Erime Noktası (°C)	UV Absorbsiyonu (maksimum)	
				265 nm	360-362 nm
<b>B<sub>1</sub></b>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	312	268-269	12,400	21,800
<b>B<sub>2</sub></b>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	314	286-289	12,100	24,000
<b>G<sub>1</sub></b>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	244-246	9,600	17,700
<b>G<sub>2</sub></b>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	237-240	8,200	17,100
<b>M<sub>1</sub></b>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	299	14,150	21,250 (357)
<b>M<sub>2</sub></b>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	293	12,100 (264)	22,900 (357)

### 2.2.2. Aflatoksinlerin oluşumu

Aflatoksin, tropik ve yarı tropik bölgelerde sıklıkla rastlanan iki küf, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* tarafından sentezlenmektedir (Adams ve Moss 2007). Bunun yanı sıra son zamanlarda aflatoksin üretebilen farklı türler olduğu gösterilmiş olup bunlar Çizelge 2.3’te verilmiştir (Anonim 2002). Ancak daha eski çalışmalarda bazı küflerin hatalı bulgular sonucu aflatoksin üretiminden sorumlu tutulduğu da literatüre geçmiştir (Diener ve Davis 1969, Adams ve Moss 2007).

Gıdalarda en sık karşılaşılan aflatoksin üreticisi iki ana türden biri olan *Aspergillus flavus* aflatoksin B<sub>1</sub> ve B<sub>2</sub>, *Aspergillus parasiticus* ise aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> üretebilmektedir (Peraica ve ark. 1999, Heperkan 2006). Bu iki küf dünya genelinde gıdalarda bulunan aflatoksinde büyük oranda sorumlu tutulmaktadır (Anonim 2002).



**Çizelge 2.3.** Aflatoksin üretme yeteneğine sahip *Aspergillus* türleri (Anonim 2002)

Tür	Ürettiği Mikotoksin		Ana Kaynağı	Coğrafi Dağılımı
	AFB	AFG		
<i>A. flavus</i>	+	-	Tüm gıdalar	Sıcak enlem aralığındaki tüm bölgeler
<i>A. parasiticus</i>	+	+	Fıstık	Belirli alanlar
<i>A. nomius</i>	+	+	Arılar	ABD, Tayland
<i>A. pseudotamarii</i>	+	-	Toprak	Japonya
<i>A. bombycis</i>	+	+	İpek böceği dışkısı	Japonya, Endonezya
<i>A. ochraseoroseus</i>	+	-	Toprak	Afrika
<i>A. australis</i>	+	+	Toprak, fıstık	Güney yarım küre

AFB, B grubu aflatoksinler; AFG, G grubu aflatoksinler

*Aspergillus flavus* tropikal iklim bölgelerinde daha yaygın olmakla birlikte ılıman iklim kuşağında da bulunmaktadır. Soğuk iklimlerde ise tropik bölgelerden ithal edilen ürünlerin dışında rastlamak pek mümkün değildir. *A. parasiticus* da *A. flavus* ile aynı coğrafi sınırlarda gelişebilmekle birlikte Amerika, Güney Afrika, Hindistan ve Avustralya gibi daha sınırlı bir alanda yoğunlaşmıştır (Anonim 2002). Toprak ve havanın doğal mikroflorasını oluşturan, çürümüş bitki ve ölü hayvanların üzerinde de bulunabilen bu iki türün bütün suşları aflatoksin üretmemekle birlikte *A. parasiticus*'un en aktif aflatoksin üreticisi olduğu, *A. flavus*'un da aflatoksin üretiminde en yüksek kapasiteye sahip olduğu bilinmektedir (Diener ve Davis 1969).

Aflatoksin oluşumu ürün nemi ve sıcaklığı, bağıl nem, gelişen türlerin yoğunluğu ve genetik potansiyeli, diğer mikroorganizmaların varlığı, ürünün direnci, böcek veya diğer zararlıların faaliyeti, bitki stresi, kurutma hızı, hava sıcaklığı, atmosferik gazların bileşimi gibi bazı faktörlere bağlıdır (Çoksöyler 1999).

Mezofilik küfler olan *Aspergillus*'lar 6-8°C'den 50-60°C'ye kadar gelişim göstermektedir (Tunail 2000). En önemli aflatoksin üreticisi olan *Aspergillus flavus* ve

*Aspergillus parasiticus*'un optimum gelişme sıcaklıkları 32-33°C olup, 10-12°C'den 42-43°C'ye kadar gelişebilmektedirler (Sweeney ve Dobson 1998). Aflatoksin üretimi için en uygun sıcaklık 25-30°C, üretiminin görüldüğü en yüksek sıcaklık ise 48°C'dir (Heperkan 2006). Ancak 10-13°C'nin altında ve 41-42°C'nin üzerinde aflatoksin oluşumu sınırlanmaktadır (Tunail 2000). *Aspergillus flavus* kolonizasyonu ve aflatoksin kontaminasyonu 30,5°C'de maksimuma ulaşmaktadır (Heperkan 2006).

Su aktivitesinin ( $a_w$ ) 0,80'in altında olduğu ortamlarda dahi gelişimlerini sürdürebilen *Aspergillus* cinsine ait küflerin optimum gelişmeleri için gerekli  $a_w$  değeri 0,97-0,99'dur. *Aspergillus flavus*'un gelişebileceği minimum  $a_w$  değeri 0,78-0,82 iken, *A. parasiticus*'un 0,78-0,84'dir. Aflatoksin üretebilmeleri için gerekli minimum  $a_w$  değerleri ise biraz daha yüksek olup, *Aspergillus flavus* ve *A. parasiticus* için sırasıyla 0,83-0,87 ve 0,87'dir (Sweeney ve Dobson 1998, Tunail 2000). Diğer küflerin aksine *A. flavus* düşük su aktiviteli ortamda gelişme yeteneğine sahip olduğu için, daha yüksek sıcaklıklar ve nemin az olduğu koşullar lehine olabilmektedir. Ancak tek başına birinin varlığı yeterli değildir, bu koşulların aynı anda var olması gerekmektedir. Araştırmacılar yeterli nem ile yetişen yer fıstıklarında aflatoksin bulunmadığını kaydetmişlerdir. Benzer şekilde yer fıstıkları uzun süreli kuraklık altında ve 25°C'den düşük veya 32°C'den yüksek sıcaklıklarda yetiştirildiğinde aflatoksin içermedikleri belirtilmiştir (Heperkan 2006).

Hasattan önce aflatoksin üretimine ilaveten, kurutma, nakliye, depolama boyunca var olan kötü koşullar yüksek miktarda aflatoksin birikmesine neden olmaktadır (Heperkan 2006). Aflatoksin üretimi tüm koşullar optimum olduğunda 24 saat içinde başlamakta, 10-14 günde miktarı maksimuma ulaşmaktadır (Christensen 1975).

Atmosfer bağıl nemi ile gıdanın su aktivitesi değeri arasında doğrudan bir ilişki bulunmaktadır. Bağıl nem arttıkça gıda üzerindeki su buhar basıncı da artmakta, buna bağlı olarak gıdanın  $a_w$  değeri de artmaktadır. Küfler bakterilere kıyasla daha düşük bağıl nemde gelişebilmektedir (Tunail 2000). Aflatoksin üretimi için en uygun bağıl nemin %85 ve üstü olduğu kaydedilmiştir (Sert 1985).

2,1-11,2 aralığındaki pH değerlerinde gelişebilen *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'un gelişebildikleri optimum pH aralığı 3,5-8'dir. Maksimum aflatoksin oluşumu ise pH 6'da gerçekleşmektedir (Sweeney ve Dobson 1998).

Aerobik mikroorganizmalar olmaları nedeniyle küfler gelişebilmeleri için oksijene ihtiyaç duymaktadır. Oksijen miktarı aflatoksin üretimini de etkilemektedir. O<sub>2</sub> konsantrasyonunun %1'in altına düştüğü durumlarda aflatoksin üretiminin büyük ölçüde engellendiği bildirilmiştir. Benzer şekilde ortamdaki CO<sub>2</sub> miktarının artmasının aflatoksin üretimini azalttığı saptanmıştır (Sert 1985, Erzurum 2001).

Toksin üretimi için en uygun substratlar glikoz, galaktoz ve sakkarozdur (Tunail 2000). *Aspergillus flavus* karbon kaynağı olarak glukoz ve fruktozu tercih etmektedir. Aflatoksin üretiminde en etkili aminoasitler glisin ve glutamik asit olup, bunları alanin ve aspartik asit takip etmektedir (Sert 1985).

### **2.2.3. Aflatoksinlerin toksik etkileri**

Aflatoksinlerin insan ve hayvanlarda meydana getirdiği akut veya kronik seyirli etkiler “aflatoksikozis” olarak tanımlanmaktadır (Çelik 2001). Aflatoksinler güçlü karsinojen, mutajen ve teratojen etki göstermekte olup insan ve hayvan sağlığına yönelik ciddi tehlikeler oluşturmaktadır (Daradimos ve ark. 2000). Aflatoksinler arasında, canlılar üzerinde en yüksek toksik etkiye sahip olan AFB<sub>1</sub>'dir. Onu sırasıyla AFG<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub> ve AFG<sub>2</sub> izlemektedir (Kocasarı ve Erdemli 2014). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından aflatoksinler “Grup I İnsanlar için karsinojen” olarak sınıflandırılmıştır (Anonim 2002). Aflatoksinlerin toksik etkisi cinsiyet, yaş, genel sağlık durumu, beslenme alışkanlığı, maruziyet sıklığı ve miktarı gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Çelik 2001, Girgin ve ark. 2001, Özkaya ve Temiz 2003, Sabuncuoğlu 2008). Aflatoksinin metabolik etkileri arasında DNA, RNA ve protein sentezi inhibisyonu, çeşitli enzimlerin aktivitelerinde azalma, glukoz metabolizması depresyonu, fosfolipidler, serbest yağ asitleri, trigliseritler, kolesterol ve esterlerini kapsayacak biçimde lipid sentezi inhibisyonu ve pıhtılaşma faktörü inhibisyonu yer almaktadır (Giray ve ark. 2007).

#### **2.2.3.1. İnsanlarda yarattığı toksik etkiler**

Bilinçli şekilde aflatoksine maruz bırakarak insanlar üzerinde doğrudan toksisite çalışmaları yapılması söz konusu olamayacağından, aflatoksinin insanlarda meydana getirdiği etkileri net bir şekilde ortaya koymak mümkün değildir (Tunail 2000). Bununla birlikte aflatoksinlerin insan sağlığı üzerinde yol açtığı çeşitli olumsuzlukların bildirildiği vaka raporları ve hayvanlar üzerinde yapılan çeşitli toksisite çalışmaları bilim insanlarına ışık tutmaktadır. Vaka raporlarının, mikotoksin gibi çevresel bir faktör için neden-sonuç ilişkisi

belirlemede direkt olarak kullanılması doğru olmasa da söz konusu araştırmanın daha fazla inceleme gerektiren unsurlarını ortaya koymak için kullanılması mümkündür (Robbins ve ark. 2000).

İnsanlarda aflatoksinle ilgili en büyük risk, tüketilen besinler aracılığıyla kronik olarak aflatoksinle maruz kalma durumu olup, diyetle aflatoksin tüketimi insanlarda hepatokarsinoma oluşumu ile ilişkilendirilmiştir (Hussein ve Brasel 2001). Hepatit B enfeksiyonu olan bireylerde aflatoksinin etkisi belirgin şekilde artmakta olup, epidemiyolojik çalışmalar aflatoksin maruziyetinin özellikle hepatit B virüsü ile birlikte, hepatokarsinoma riskindeki artış ile bağlantılı olduğunu göstermiştir. Aflatoksinin hepatokarsinoma riskini artırması p53 tümör-önleme geninde mutasyona neden olması ve dominant onkogenleri aktivasyonundan kaynaklanmaktadır (Giray ve ark. 2007). Aflatoksinin p53 geninin 249. kodonundaki guanine etki yaptığı ve K1 ras protoonkogeninin aktivasyonunu sağladığı bilinmektedir (Girgin ve ark 2001, Adams ve Moss 2007). Aflatoksin B<sub>1</sub>'in elektronca zengin dihidrobisfuran yapısı karaciğerdeki sitokrom P450 (CYP450) enzim sisteminin insanlarda baskın olan izozimi 3A4 ile AFB<sub>1</sub>-8,9-epoksit formunu oluşturmaktadır. Yüksek elektrofilik aktiviteye sahip bu bileşen DNA ile reaksiyon göstermekte, mutajenik ve karsinojenik etkiden sorumlu tutulmaktadır (Giray 2007, Sabuncuoğlu 2008).

Afrika, Güneydoğu Asya ve Kuzey Avrupa'da yer alan bazı ülkelerde hepatokarsinoma görülme sıklığının oldukça yüksek olması bazı araştırmacıların dikkatini çekmiş, 1960'larda başlayıp 1980'ler boyunca diyetle alınan aflatoksin ile primer karaciğer kanseri riski arasındaki muhtemel ilişkiyi araştıran çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda, gıdalarla aflatoksin alımı ile karaciğer kanserine yakalanma sıklığı arasında bir bağlantı olduğu gösterilmiştir. Primer karaciğer kanseri gelişimi açısından birçok risk faktörü bulunmakla birlikte, aflatoksinlerle kontamine gıdaların yaygın olarak bulunması nedeniyle aflatoksinlerin Hepatit B ile birlikte güçlü bir etken olduğu düşünülmektedir (Christensen 1975, Girgin ve ark 2001, Hussein ve Brasel 2001, Anonim 2002).

Havada bulunan mikotoksinlerin solunum yolu ile alınması ve buna bağlı olarak ortaya çıkan hastalıklar üzerine yapılmış epidemiyolojik çalışma sayısı oldukça azdır. Mevcut araştırmalardan bazıları mikotoksinlere solunum yolu ile maruz kalınmasının sağlığı olumsuz etkileyerek çeşitli hastalıklara neden olabileceğini ileri sürmektedir. Bir kısım araştırmacı tarafından ise mikotoksinlerin solunması ile sağlığa olumsuz etkileri arasında bir bağ kurmak için elde yeterli veri olmadığı savunulmaktadır (Yoltaş ve Uztan 2008). Filipinler'de

çocukların serum ve idrarında aflatoksin varlığı ile akut alt solunum yolu enfeksiyonu arasındaki ilişkiyi göstermeyi amaçlayan çalışma bir korelasyon ortaya koyamamıştır (Denning ve ark. 1995). Ancak mesleki maruziyet sonucu solunum yolu ile aflatoksine maruz kalan ve pulmoner interstisyel fibrozis nedeniyle ölen iki tarım ve bir tekstil işçisinin akciğerinde aflatoksin B<sub>1</sub> bulunmuştur. Benzer şekilde alveoler hücre kanseri nedeniyle ölen ve 3 ay boyunca *Aspergillus flavus* ile kontamine olmuş brezilya yer fıstığında sterilizasyon metodu üzerinde çalışan iki kimya mühendisinin akciğer dokusunda aflatoksin B<sub>1</sub> bulunmuştur. Bir başka çalışmada zatüre teşhisi konulan çocukların tümünün akciğerinde aflatoksin tespit edilmiş olup, bu durum hastalık nedeniyle akciğerin çalışma yeteneğinin azalması veya solunum yolu ile maruziyete bağlanmıştır (Peraica ve ark. 1999). Aflatoksin içeren tarımsal kaynaklı ürünler vasıtasıyla yüksek düzeyde AFB<sub>1</sub>'in havadaki tozlarına maruz kalan işçiler üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Yer fıstığı ve keten tohumu işleme tesislerinde çalışan, haftada 45 saatten fazla 0,04-2,5 µg seviyesinde AFB<sub>1</sub>'e maruz kalan işçiler üzerinde yapılan iki çalışma, bu işçilerde kontrol grubuna göre solunum yolu tümörlerinin oranının daha yüksek olduğunu göstermiştir. Hayvan yemi üretim fabrikası çalışanlarının günde 170 ng aflatoksine maruz kalmaları ile orantılı olarak taşıdıkları kanser riskinin araştırıldığı bir çalışmada safra ve karaciğer kanseri riskinin, akciğer kanseri riskinden oldukça yüksek olduğu saptanmıştır (Robbins ve ark. 2000).

İnsanlarda esas tehlike kronik zehirlenme olmakla birlikte aflatoksin alımına bağlı akut zehirlenme vakalarına da rastlanmaktadır. 1982 yılında Kenya'da 3200-12 000 ppb aflatoksin B<sub>1</sub> ile kontamine olmuş mısır yediği anlaşılan 12 kişinin öldüğü bildirilmiştir (Siame ve Nawa 2008). Hindistan'da 1974 yılında küflü mısır tüketimi nedeniyle yaklaşık 1000 kişinin etkilendiği bir salgın olarak ortaya çıkan akut aflatoksin zehirlenmesi 100 kişinin hayatını kaybetmesiyle sonuçlanmıştır. İnsanlara ait net bir LD<sub>50</sub> değeri ortaya koymak mümkün olmamakla birlikte söz konusu küflü mısırların analizi sonucu tespit edilen aflatoksin konsantrasyonu insanlar için LD<sub>50</sub> değerinin köpek ve ratlara ait değerler arasında yer aldığını ortaya koymaktadır (Adams ve Moss 2007).

Eldeki veriler, aflatoksin alımına bağlı akut hepatoksisiteye karşı çocukların yetişkinlere göre daha savunmasız olduğunu ortaya koymaktadır. 1988 yılında Malezya'da istifra, kan kusma nöbetleri gibi şikayetlerle hastaneye getirilen 13 çocukta sarılık, karaciğer enzimlerinin serum konsantrasyonunda yükselmesi ile ortaya çıkan karaciğer fonksiyon bozukluğu tespit edilmiş, akut hepatik ensafalopati gözlemlenmiştir. 1-7 gün içinde

tamamının ölümü ile sonuçlanan olay, kısa süre önce tükettikleri noodle ile ilişkilendirilmiş, kan ve organlarında pestisit, karbon tetraklorid, zehirli mantar toksini izine rastlanmazken, aflatoksin tespit edilmiştir. Aynı gıdayı tüketen yetişkinlerin ise etkilendiğine dair bulgu rapor edilmemiştir (Anonim 2002). Tayvan'da 200 ppb aflatoksin B<sub>1</sub> içerdiği sonradan belirlenen küflü pirinçleri tüketmelerinin ardından hastalanan 26 kişinin arasında bulunan 3 çocuk karın ağrısı, kusma, ayaklarda ödem, karaciğerde büyüme gibi belirtilerden sonra ölmüştür (Özkaya ve Temiz 2003). Uganda'da hastaneye kaldırıldıktan 2 gün sonra ölen ve kalp yetmezliği, akciğerinde ödem, karaciğerinde nekroz ile yağlanma tespit edilen 15 yaşındaki bir çocuğun evindeki gıda maddeleri incelenmiş ve bu durumdan 1700 ppb aflatoksin içerdiği tespit edilen küflü manyok sorumlu tutulmuştur (Siame ve Nawa 2008).

Aflatoksinlerin, sıcak ve nemli iklime sahip ülkelerde sıklıkla rastlanan ve bazı durumlarda ölümle sonuçlanan Reye's sendromuna benzer şekilde böbrek ve karaciğerde soluk renk, yağlanma, genişleme, beyinde ödeme neden olması ve Reye's sendromu görülen çocukların kan ve dokularında aflatoksin bulunması nedeniyle aflatoksin alımı ile Reye's sendromu arasında ilişki olabileceği öne sürülmektedir (Peraica ve ark. 1999, Hussein ve Brasel 2001). Nitekim Tayland'da 10 ppm aflatoksin ile kontamine olduğu saptanan pirinci yiyen 3 yaşındaki bir çocuğun, 2 gün sonra Reye's sendromu sonucu öldüğü bildirilmiştir (Özkaya ve Temiz 2003).

Gıdalardaki aflatoksin ile kuvaşiorokun coğrafi ve mevsimsel yayılımı dikkat çekici bir benzerlik göstermekte, bazı tropik ülkelerde kuvaşioroklu çocukların karaciğerinde kontrol grubuna göre aflatoksine daha sık ve yüksek konsantrasyonlarda rastlanmaktadır. Aflatoksin içermeyen besinlerle beslenen kuvaşiorok ve marasmik kuvaşioroklu çocuklarda aflatoksin eliminasyonunun yavaş olduğu belirlenmiştir. Çeşitli çalışmalarda kontrol grubunda bulunmazken, kuvaşiorok ve marasmik kuvaşioroklu çocukların karaciğer, serum, idrar ve dışkısında aflatoksikol tespit edilmiştir. Aflatoksin alımı ve kuvaşiorok birbirleri ile ilişkilendirilmelerine rağmen aradaki bağlantı henüz net olarak açığa çıkarılamamıştır (Peraica ve ark. 1999, Hussein ve Brasel 2001, Anonim 2002).

Hamilelerin kanında, yenidoğanların göbek kordon kanında ve anne sütünde aflatoksine rastlanmıştır. Tropik ülkelerde yenidoğanlarda sarılık sıklıkla görülmektedir. Nijerya'da 80 bebeğin bulunduğu kontrol grubu ve sarılık görülen 327 bebek üzerinde yapılan bir araştırmada glukoz 6-fosfat dehidrogenaz eksikliği (G6PD) ile birlikte serumda aflatoksin

varlığı yenidoğan sarılığı gelişmesinde anlamlı risk faktörleri olarak değerlendirilmiştir (Peraica ve ark. 1999).

1966 yılında Amerika'da saflaştırılmış AFB<sub>1</sub> ile bir intihar girişimi vakasının meydana geldiği bildirilmektedir. Genç bir kadın, ilk olarak 2 günde toplam 5,5 mg aflatoksin B<sub>1</sub> yutmuş, aradan 6 ay geçtikten sonra 2 haftayı aşkın bir sürede toplamda 35 mg aflatoksin B<sub>1</sub> daha yutmuştur. İlk maruziyetin ardından geçici ve kaşıntıya neden olmayan maküler tarzda döküntü, mide bulantısı ve baş ağrısı ile hastaneye yatırılmış, ikinci seferde ise yalnızca mide bulantısı şikayeti olduğunu bildirmiştir. Her iki durumda da yapılan fiziksel, radyolojik ve laboratuvar muayeneleri sonucu herhangi bir anormallik gözlemlenmemiş, ışık mikroskopisi vasıtasıyla yapılan karaciğer biopsi sonucu normal çıkmıştır. Bu olaydan 14 yıl sonra yapılan muayenede de herhangi bir hastalık veya lezyon belirtisine rastlanmamıştır. Bu bulguların, sağlıklı beslenen insanlarda AFB<sub>1</sub>'in hepatoksisitesinin deney hayvanlarından daha düşük olabileceğini ya da tümör oluşumunda latent periyodun 14 yıldan fazla sürebileceğini düşündürdüğü ifade edilmektedir (Peraica ve ark. 1999).

BM Özel Komisyonu (UNSCOM)'nun 1986 yılında Irak'ta yaptığı incelemeler sırasında trikotesen ve aflatoksin gibi çeşitli toksinlerin biyolojik silah olarak kullanılmak üzere üretildiği, 1991 yılı Körfez Savaşı sonrasında aflatoksin dahil çeşitli biyolojik silahların savaşta kullanılmamış olsa da hazır bekletildiği saptanmıştır. Daha sonra Irak tarafından çeşitli miktar ve türdeki toksinlerle birlikte 2200 litre aflatoksinin stoklandığı açıklanmış ve miktarı bilinmeyen aflatoksinin yedi bomba ve dört füzeyle yerleştirildiği ortaya çıkmıştır. Biyolojik silah olarak aflatoksin kullanılmasına dair yeterli veri bulunmamakla birlikte, kanserojen olması ve çeşitli olumsuz etkileri bulunması nedeniyle halk üzerinde panik havası yaratmak amacıyla üretilmiş olduğuna, daha da vahimi aflatoksinin daha tehlikeli bazı biyolojik ajanları kaplamak amacıyla kullanıldığına dair iddialar mevcuttur (Kılıç 2006).

### **2.2.3.2. Hayvanlarda yarattığı toksik etkiler**

Hayvanlar üzerinde toksisite denemeleri oral veya deri altı enjeksiyonu yolu ile yapılmakta, aflatoksinin toksik etkisi belli bir hayvan türü için onun letal dozu (LD<sub>50</sub> değeri) ile ifade edilmektedir. LD<sub>50</sub> değeri hayvanlarda kg başına veya birey başına düşen doz (mg, µg, ng) olarak verilmektedir (Tunail 2000). Oral yolla tek doz olarak çeşitli hayvan türleri tarafından alınan aflatoksin B<sub>1</sub>'e ait LD<sub>50</sub> değerleri Çizelge 2.4'te verilmiştir.

**Çizelge 2.4.** Bazı hayvanlarda aflatoksin B<sub>1</sub> için bildirilen letal dozlar (Aksoy 1990)

<u>Hayvan Türleri (Hassasiyet sırası ile)</u>	<u>LD<sub>50</sub> Değeri (mg/kg vücut ağırlığı)</u>
Ördek yavrusu	0,3-0,6
Tavşan	0,3-0,5
Alabalık	0,5
Köpek	1,0
Koyun	1,0-2,0
Maymun	2,2
Fare (Erkek)	7,0
Civciv	6,0-16,0
Sıçan	9,0
Fare (Dişi)	18,0

Geviş getirmeyen hayvanlara kıyasla, sığır, koyun, keçi, geyik gibi geviş getiren hayvanlar genel olarak mikotoksinlerin olumsuz etkilerine karşı daha dayanıklıdır (Hussein ve Brasel 2001). Aflatoksin en duyarlı hayvanlar arasında ördek, alabalık, kedi, köpek ve hindi yer almaktadır. At, sığır, koyun, keçi, rat, bildircin gibi hayvanlar orta derecede duyarlı iken, fare ve maymun en az duyarlı hayvanlardır (Çelik 2001). Aynı türe ait bireyler kıyaslandığında, genç hayvanlar ve gebeler aflatoksin karşı daha hassas olup, sağlıklı ve dengeli beslenen hayvanlar aflatoksin den daha az etkilenmektedir. Aflatoksin karşı hassasiyetin cinsiyete bağlı olup olmadığını göstermek üzere yapılan bir çalışmada dişi farelerin erkek farelere göre daha dayanıklı olduğu belirlenmiş ve bu durum östrojenik hormonların koruyucu etkisine bağlanmıştır (Aksoy 1990, Girgin ve ark. 2001, Aydın 2007). Aflatoksin en duyarlı hayvanlar ördek yavruları olarak bilindiğinden aflatoksinlerin toksisite çalışmaları çoğunlukla bu hayvanlar üzerinde yoğunlaşmakla birlikte, bu ve araştırılan diğer hayvanlara ait LD<sub>50</sub> değerlerine dayanılarak oluşturulan aflatoksinlerin toksisite sıralamasının fazlaca değişmediği görülmüştür (Tunail 2000).

Aflatoksinlerin hayvanlarda oluşturduğu klinik tablo maruz kalınan aflatoksinin türü, miktarı, hayvanın yaşı ve türü gibi faktörlere bağlı olarak değişmekle birlikte, genellikle akut, subakut veya kronik aflatoksikozis şeklinde ortaya çıkmaktadır (Aydın 2007).



Aflatoksin ile akut zehirlenme sonucu hayvanlarda solunum güçlüğü, iştahsızlık, ağırlık kaybı, kanlı ishal, nörolojik anormallikler, mukoz membranlarda sarılık, karaciğerde rengin açılması veya tamamen renksizleşme ve yağ birikimi, böbrek ve bağırsaklarda kanama, kapillar damar dayanıklılığında azalma, anemi, öksürük, burun akıntısı, durgunluk, kasılma, çırpınmalar ve ani ölümler görülmektedir (Çelik 2001, Özkaya ve Temiz 2003).

Aflatoksinle bağlı subakut olgularda ise hayvanlarda sarılık, hematoma, kanamalı bağırsak yangısı ve trombosit sayısında azalma gözlemlenmektedir. Karaciğerde nekroz, pıhtılaşma mekanizmasında bozulma ve serum proteinlerinde azalma meydana gelmekte, mukoz zarlarda ve vücut boşluklarında yaygın kanamalar görülmektedir (Çelik 2001).

İnsanlarda mikotoksikozis olgusunu incelemek üzere, özellikle aflatoksinin insanlarda karsinojenik potansiyelini ortaya koymak için ratlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Aflatoksin B<sub>1</sub> çeşitli hayvan türlerinde karsinojenik etki göstermekte olup, ratlarda ve alabalıklarda bilinen en karsinojenik bileşendir (Adams ve Moss 2007). Ratlara 9 hafta boyunca oral yolla 5 mg/kg AFB<sub>1</sub> uygulanan bir çalışma %100 karaciğer kanseri oluşumu ile sonuçlanmıştır. AFB<sub>1</sub> maruziyetinin genellikle ratlarda karaciğer kanseri oluşumu ile sonuçlanmasının aksine, 3 hafta boyunca toplam 12 enjeksiyon olmak üzere intraperitoneal enjeksiyon şeklinde 0,02 mg/kg AFB<sub>1</sub> uygulanan farelerde ise akciğer tümörlerinin geliştiği görülmüştür (Hussein ve Brasel 2001).

Aflatoksinlerin merkezi sinir sistemi üzerinde çeşitli olumsuz etkileri bulunmakta, dopamin ve serotonin düzeyinde meydana getirdikleri azalma bunlar arasında yer almaktadır. Bağışıklık sistemini baskılayıcı etkisi nedeniyle hayvanlarda çeşitli enfeksiyonlara karşı duyarlılığı arttırmakta, birçok hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bunun yanı sıra hayvanlar üzerinde mutajen ve teratojen etkileri bulunmaktadır (Tunail 2000, Çelik 2001, Aydın 2007).

Aflatoksin ile kronik zehirlenme hayvanlarda gelişme hızının, yem tüketimi ve yemden yararlanmanın azalması, kıl örtüsünün bozulması, kansızlık, özellikle etlik piliçlerde karkas kalitesinde düşme, karnın büyümesi, sarılık, iştahsızlık ve bağışıklık sisteminin bozulmasıyla karakterize edilmektedir. Ayrıca serum ve karaciğerdeki vitamin A düzeyi azalmakta ve protein sentezi bozulmaktadır. Sığırlarda yavru atma, süt veriminde azalma veya tamamıyla kesilme, kanatlılarda, yumurta veriminde ve yumurtadan çıkma oranında düşme görülmektedir (Çelik 2001).

#### **2.2.4. Aflatoksinlerle ilgili yasal düzenlemeler**

Yüksek miktarda aflatoksin içeren gıdaların tüketiminin insanlar üzerinde meydana getirdiği ciddi sağlık sorunlarının yapılan çalışmalarla ortaya konması, çeşitli ülkelerde meydana gelen aflatoksikozis kaynaklı kitlesel insan ölümleri, aflatoksinle kontamine olmuş yemlerle beslenen hayvanlarda yaşanan verim kayıpları, ölümle sonuçlanan sağlık problemlerinin ortaya çıkması ve tüm bunların yol açtığı ekonomik kayıplar ülkeleri ve uluslararası kuruluşları aflatoksinlere yönelik yasal düzenlemeler yapmaya itmiştir (Otsuki ve ark. 2001, Kayabaşı 2014). FAO/WHO (Gıda ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü) tarafından oluşturulan Kodeks Komitesi bu konuya yönelik çalışmalar yapmış ve standartlar geliştirmiştir (Karaman ve Acar 2006). Diğer taraftan Avrupa Birliği'nin yetkilendirdiği komisyon tarafından belirli gıda maddelerinde bulunabilecek maksimum aflatoksin seviyeleri belirlenmiştir. Gerek görüldüğü durumlarda revizyonlar yapılmakta olup, son olarak 27 Şubat 2010 tarihinde yürürlüğe giren 165/2010 sayılı Aflatoksine İlişkin Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerini Düzenleyen Komisyon Tüzüğü ile birtakım değişiklikler yapılmıştır (Anonim 2010).

Ülkemizde de Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na bağlı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü tarafından hazırlanan 'Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği' kapsamında bazı gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum aflatoksin limitlerine yönelik düzenlemeler yapılmıştır. Buna göre gıdalarda bulunabilecek maksimum aflatoksin düzeyleri Ek 1' de verilmiştir (Anonim 2011a). Benzer şekilde Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından hayvan yemlerinde istenmeyen maddelerle ilgili hususları belirlemeye yönelik olarak hazırlanan "Yemlerde İstenmeyen Maddeler Hakkında Tebliğ"de hayvan yemi olarak kullanılan ürünlerde bulunabilecek en yüksek aflatoksin B<sub>1</sub> düzeyleri belirlenmiş olup, Ek 2'de gösterilmiştir (Anonim 2014).

#### **2.3. Bitki Çayları**

Bitkiler çok uzun yıllardır farklı amaçlarla insanlar tarafından kullanılmaktadır. Beslenme, sağlığı koruma ve çeşitli hastalıkları tedavi etme bu amaçların başında gelmektedir. Gıda, sağlık, kozmetik ve parfümeri gibi sektörlerde geniş kullanım alanı bulunan tıbbi ve aromatik bitkiler, son yıllarda dünya pazarlarında yüksek ticari hacme sahip oluşları ile de dikkat çekmektedir (Bayramoğlu ve ark. 2009, Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011, Sezik 2011). Tıbbi bitkiler asırlardır süregelen geleneksel tıp sistemlerine entegre edilmiş

olup, gelişmekte olan ÷lkelerde n÷fusun %70-95'inin sağlığını korumaya y÷nelik olarak geleneksel tıp sistemlerinden faydalandığı, bu t÷rden bitkisel ÷r÷nlere atfedilen doğal ifadesinin zararsız anlamı taşıdığına ilişkin yerleşen yaygın kanaat sebebiyle gelişmiş ÷lkelerde de kullanımlarının arttığı belirtilmektedir (Kosalec ve ark. 2009, Vidović ve ark. 2013). D÷nya çapında geleneksel tıp sistemlerinde yararlanılan bitkisel ÷r÷nlerin b÷y÷k bir kısmının çay formunda kullanılmasından dolayı, bitki çaylarının tarihi oldukça eskiye dayanmakta, en eski bitki çaylarının geleneksel Çin tıbbına g÷re hazırlanması, kullanılması ve endikasyonları Wang Tao tarafından 8 yy.'da hazırlanan Waitai Miyoa adlı eserde anlatılmaktadır (Tschiggerl ve Bucar 2012).

Çay bitkisi (*Camellia sinensis*) dışındaki herhangi bir tıbbi veya aromatik bitkiden hazırlanan çaylar olarak tanımlanan bitki çayları, g÷n÷m÷zde sağlık ÷zerine faydalı etkileri sebebiyle kullanılmanın yanı sıra, siyah çaya alternatif bir sıcak içecek olarak da sıklıkla t÷ketylmektedir (Sezik 2011, Źegarac ve ark. 2013). Çay yapımında kullanılan bitkilerin içerdiği antioksidan aktiviteye de sahip; A, C, E vitaminleri ve fenolik bileşikler olarak adlandırılan çok çeşitli amfipatik molek÷llerin, hastalıkları önleme ve tedavi etmedeki rollerinin anlaşılması ile bitki çaylarına olan ilgi son yıllarda önemli ölç÷de artmıştır (Ivanova ve ark. 2005, Tschiggerl ve Bucar 2012). Bu nedenle çay ve bitkisel çaylar, diyetimizdeki fenolik bileşiklerin ana kaynağını oluşturmaktadır (Atoui ve ark. 2005).

Soğuk algınlığı, kabızlık, diyare, hazımsızlık, uykusuzluk ve yorgunluk gibi çeşitli Şikayetleri gidermek amacıyla yaygın olarak kullanılan bitki çaylarının bu gibi etkileri, hazırlandığı bitkinin tohum, çiçek, yaprak, g÷vde veya k÷klerinden ya da bu kısımların tümünden kaynaklanabilmektedir (Megahee 1995, K÷kdil 2002, Chen ve Mujumdar 2006). Çeşitli kronik ve akut hastalıkların tedavisine y÷nelik olarak hastalar tarafından kullanılan bitki çayları, rahatlıkla temin edilebilmesi, hazırlanmasının kolay olması, çoğunlukla önemli yan etki g÷stermemesi, ucuz olması, yararlı bileşenlerce zengin olması gibi sebeplerle bir hekime danışmaksızın yaşlılar ve zayıf b÷nyeli hastalar tarafından da tercih edilmektedir (Tschiggerl ve Bucar 2012). Hassas ÷r÷nler olan bitki çaylarının etkisi t÷re, yetiştikleri b÷lęeye, hasat zamanına, kurutma y÷ntemine ve depolama koşullarına bağlı olarak değişiklik g÷stermektedir (Chen ve Mujumdar 2006).

Avrupa Farmakopesinde bitki çaylarının tanımı, "ağızdan alıma y÷nelik olarak kullanılmadan hemen önce bir veya daha fazla bitkisel droğun inf÷zyon, dekoksasyon ya da maserasyonu yoluyla hazırlanan sulu preparatlardır" şeklinde yapılmaktadır (Anonim 2005).

Bu tanımda da bahsedildiği gibi bitki çaylarının içime hazırlanmasında üç farklı yoldan biri tercih edilmektedir. Çoğunlukla bitki çaylarının hazırlanmasında uygulanan yöntem, bitkinin taze veya kurutulmuş çiçek, yaprak, tohum ve kök gibi kısımlarının üzerine kaynar suyun dökülmesi ve 5-10 dk gibi bir süre demlendikten sonra süzülmesi şeklindedir. “İnfüzyon” olarak adlandırılan bu yöntem çoğunlukla nane, papatya gibi çiçek, ince yaprak veya uçucu yağ taşıyan bitkilere uygulanmaktadır. Bunun yanında kabuk, kök, tohum, meyve gibi çoğunlukla tanenleri içeren kısımların su ile birlikte kaynatılması da mümkün olup, bunların soğuk su ilave edilerek kaynatılması ve kaynama başladıktan sonra yaklaşık 5-10 dk kaynamanın yavaş yavaş devam ettirilmesinin ardından süzülmesi “dekoksasyon” olarak adlandırılmaktadır. Keten tohumu, hatmi, kedi otu kökü gibi yüksek oranda müsilaj ile ısıdan bozulabilecek bileşenleri içeren bitkilere uygulanan ve “maserasyon” olarak tanımlanan bir başka yöntem, çayı yapılacak bitki kısmına belli bir miktar su eklenmesi ve oda sıcaklığında 6-8 saat kadar beklettikten sonra süzülmesi şeklinde uygulanmaktadır (Kökdil 2002, Kara 2009, Tschiggerl ve Bucar 2012).

Günümüzde bitkisel çayların üretiminde kullanılan bitkilerin bir kısmı dağ ve kırlardan toplanırken bir kısmının ise kültürü yapılmaktadır. Ülkemizde ve Avrupa’da doğadan toplanmalar hala yaygın olmakla birlikte bu durum, standart ürün eldesinin zorlaşması, doğal vejetasyonun bozulması, nadir ve endemik bitki türlerinin yok olması riski, erozyonun artması gibi birtakım olumsuz sonuçları beraberinde getirmektedir. Bu nedenle doğa tahribatını önlemek ve artan talebi karşılamak amacıyla bu bitkilerin kültüre alınması çalışmaları önem kazanmaktadır (Karik ve Öztürk 2009, Bayram ve ark. 2010). Ülkemizde ıhlamur, kuşburnu ve adaçayı doğadan toplanan başlıca bitki çayları arasında yer almaktadır. Ekinezya, rezene, sarı kantaron, melisa, nane, tıbbi adaçayı, dağçayı, ısırgan otu ise kültürü yapılan bitki çaylarındandır (Kan 2009, Bayram ve ark. 2010).

Bitki çaylarının üretiminde ilk aşama bitkilerin uygun dönemde toplanmasıdır. Otsu bitkilerin toprak üstü kısımları çiçeklenme başlangıcında etkili bileşenlerce genellikle daha zengin iken toprak altı organlar vejetasyon sonuna doğru çıkarılmalıdır. Yapraklar çiçeklenmeden önce, çiçekler yeni açtığında, dal ve gövde kabukları kurumadan hemen önce, meyve ve tohumlar ise olgunlaştıktan sonra toplanmalıdır. Hasadın bazı bitkilerde makinelerle yapılması da mümkündür. Hasattan sonra bitkinin kullanılacak olan kısmı ayrılmakta ve her türlü yabancı maddeden temizlenmektedir. Toprak altı organlarda yıkama veya kabuğun ayrılması da söz konusu olabilmektedir. Bu işlemler küçük ölçekli üretimlerde elle

yapılabildiği gibi tahıllara uygulanan yöntemlerin modifiye edilmesi ile daha yüksek kapasiteli üretimler için makinelerle de gerçekleştirilebilmektedir (Akgül ve Ünver 2001, Alterman 2013).

Bir sonraki aşama olan kurutma, bitki çayı endüstrisi için hayati önemi olan görünüş ve antioksidan aktivite gibi özellikler üzerinde oldukça etkili olan bir işlem basamağıdır (Mudau ve Ngezimana 2014). Bitki çaylarında kurutma, materyalin yapısına göre birkaç yolla yapılabilmektedir. Güneşte kurutma çoğunlukla kaba materyale uygulanmakta, hassas ve değerli hammaddelere ise gölgede, camekanda veya sıcak havayla kurutma yapılabilmektedir. Temel ilke kurutma yöntemine bağlı olmaksızın, materyale zarar vermeden en kısa sürede nem içeriğini uygun düzeye düşürmektir (Akgül ve Ünver 2001). Yeni toplanan bitkisel materyal, aktif bileşenlerin yanı sıra yüksek oranda su içermektedir. Öyle ki, yaprak ve çiçekler kurutma ile ağırlıklarının %85'ini kaybetmektedir. Kurutulacak bitki kısımları ince tabakalar halinde yayılmakta veya bazı durumlarda demet şeklinde asılmakta ve iyi havalandırılan bir ortamda kurumaya bırakılmaktadır (Şekil 2.2). Yumru ve köklerin kuruması, çoğunlukla parçalara bölünmelerine rağmen, yaprak ve çiçekten daha uzun zaman almaktadır. Şekil 2.3'te gingseng köklerinin kurutulması görülmektedir. Uygun kurutma sıcaklığının seçimi hayati önem taşımaktadır. Çok yüksek sıcaklıklar aktif bileşenlerin kaybına neden olabilmektedir. Diğer taraftan düşük sıcaklık ise, bitki enzimlerinin aktivitesini teşvik ederek veya mikrobiyel gelişime maruz kalmasına neden olarak, özellikle şeker içerikli materyalde bozulmayı hızlandırabilmektedir. Bu nedenle sıcaklığın 34°C'yi geçmemesi gerekmektedir. Kurutma işleminin ardından bitkilerin tülbent ve benzeri bir kumaşla kaplı tel soğutma rafları üzerine serilmesi önerilmektedir. Uzun saplı bitkileri birkaç gün boyunca sıcak, kuru, havadar bir ortamda asarak kurutmak mümkündür. Ancak küçük demetler halinde ve gevşek bir biçimde bağlanmış olmaları gerekmektedir. Doğrudan güneş ışığına maruz kalmaları durumunda demetler koyu renkli bir kağıt ile kaplanabilmektedir (Chen ve Mujumdar 2006).

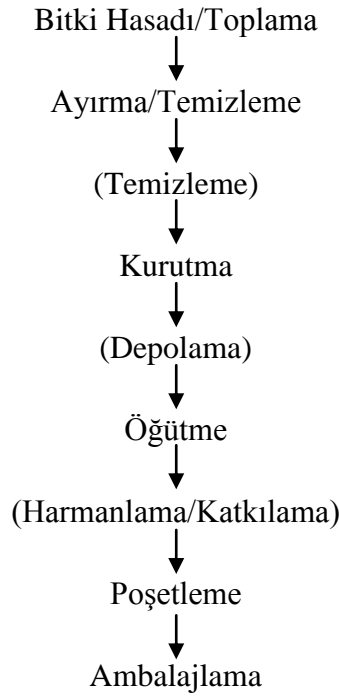


Şekil 2.2. Bitki çaylarının kurutulması (Alterman 2013)



Şekil 2.3. Gingseng köklerinin kurutulması (Chen ve Mujumdar 2006)

Küf gelişimini önlemek, böcek vb. zararlılardan korumak, bileşiminin değişmesine engel olmak için kurutulmuş bitkisel materyalin uygun şartlarda depolanması gerekmektedir. Serin, nemsiz ve ışısız ortam depolama süresini uzatmaktadır. Öğütme için işletmenin kapasitesi ve materyalin fiziksel durumuna uygun olarak öğütücü veya değirmen çeşitlerinden biri seçilmektedir. Bulanık dem vermesi ve toz problemi nedeniyle çok ince öğütme tercih edilmemekte, dökme ürünlerde de daha kaba öğütme tercih edilmektedir. Poşet çay veya dökme olarak satışa sunulacak bitki çayları belirli büyüklükte parçalama veya öğütme işleminden sonra gerek görüldüğü durumlarda harmanlama ve katkılamaya tabi tutulmaktadır. Vitamin, mineral takviyesi yapılabilmekte, tatlandırıcı ve doğala özdeş aromalar kullanılabilir. Birden fazla bitki çeşidi bir araya getirilecekse bunlar harmanlanmaktadır (Akgül ve Ünver 2001, Kökdil 2002). Günümüzde piyasada yaygın olarak bulunan poşet bitki çayları filtre kağıdı görünümünde 1-3 g'lık süzen poşet içinde ve genellikle 20 adet poşetin yer aldığı karton ambalajlarda yer almaktadır. 2 yıl gibi bir süre raf ömrü olan bu çayların etkili bileşiklerinin uygun şartlarda ambalajlanıp depolanmış olmak kaydıyla 1-2 yıl korunması mümkündür (Akgül ve Ünver 2001). Bitki çaylarının üretim aşamaları Şekil 2.4'te özetlenmiştir. Çizelge 2.5'te çay formunda tüketilen bazı bitkiler ve kullanılan kısımları verilmiştir.



Şekil 2.4. Bitki çayı üretim aşamaları (Akgül ve Ünver 2001)

**Çizelge 2.5.** Çay şeklinde tüketilen bazı bitkiler, kullanılan kısımları ve ait oldukları cins ya da tür (Akgül ve Ünver 2001)

<b>Bitki Adı</b>	<b>Cins/Tür</b>	<b>Kullanılan Kısım</b>
Binbirdelikotu	<i>Hypericum</i>	Çiçekli bitki
Civanperçemi	<i>Achillea</i>	Çiçekli bitki
Dağçayı (Yaylaçayı)	<i>Sideritis</i> (ayrıca <i>Stachys</i> , <i>Phlomis</i> , <i>Dorystoechas</i> )	Çiçekli bitki
Ebegümece	<i>Malva</i>	Çiçekli bitki
Fesleğen (Reyhan)	<i>Ocimum</i>	Çiçekli bitki
Kekik	<i>Thymus</i> (ayrıca <i>Origanum</i> , <i>Lippia</i> , <i>Satureja</i> , <i>Thymbra</i> , <i>Choridothymus</i> , <i>Trachyspermum</i> , <i>Lagoecia</i> )	Çiçekli bitki
Kısamahmutotu	<i>Teucrium</i>	Çiçekli bitki
Lavanta	<i>Lavandula</i>	Çiçekli bitki
Oğulotu	<i>Melissa officinalis</i>	Çiçekli bitki
Ölmezçiçek	<i>Helychrysum</i>	Çiçekli bitki
Pelin	<i>Artemisia</i>	Çiçekli bitki
Zutaotu	<i>Hyssopus officinalis</i>	Çiçekli bitki
Adaçayı	<i>Salvia</i>	Yaprak
Ahududu	<i>Rubus idaeus</i>	Yaprak
Biberiye	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Yaprak
Çörtük	<i>Echinophora</i>	Yaprak
Defne	<i>Laurus nobilis</i>	Yaprak
Huş	<i>Betula</i>	Yaprak
Isırgan	<i>Urtica</i>	Yaprak
İtir	<i>Pelargonium</i>	Yaprak
Nane	<i>Mentha</i> (ayrıca <i>Nepeta</i> , <i>Acinos</i> , <i>Micromeria</i> , <i>Ziziphora</i> , <i>Aloysia</i> , <i>Calamintha</i> , <i>Cyclotrichium</i> , <i>Morina</i> )	Yaprak
Sinameki	<i>Cassia</i>	Yaprak
Tarhun	<i>Artemisia dracunculus</i>	Yaprak
Eğir	<i>Acorus calamus</i>	Toprak altı organ
Havlican	<i>Alpinia</i>	Toprak altı organ
Karanfilkökü	<i>Orthurus heterocarpus</i>	Toprak altı organ
Kediotu	<i>Valeriana officinalis</i>	Toprak altı organ
Melekotu	<i>Angelica</i>	Toprak altı organ
Meyan	<i>Glycyrrhiza glabra</i>	Toprak altı organ
Sukaranfili	<i>Geum</i>	Toprak altı organ
Zencefil	<i>Zingiber officinale</i>	Toprak altı organ
Afrikabamyası	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Çiçek
Alıç	<i>Crataegus</i>	Çiçek
Gelincik	<i>Papaver rhoeas</i>	Çiçek
Hatmi	<i>Althaea</i> , <i>Alcea</i>	Çiçek
Ihlamur	<i>Tilia</i>	Çiçek



**Çizelge 2.5.** Çay şeklinde tüketilen bazı bitkiler, kullanılan kısımları ve ait oldukları cins ya da tür (Devam)

<b>Bitki Adı</b>	<b>Cins/Tür</b>	<b>Kullanılan Kısım</b>
Karanfilkökü	<i>Syzygium aromaticus</i>	Çiçek
Mürver	<i>Sambucus nigra</i>	Çiçek
Papatya	<i>Matricaria, Anthemis</i>	Çiçek
Sığırkuyruğu	<i>Verbascum</i>	Çiçek
Akdiken	<i>Rhamnus</i>	Ağaç kabuğu
Tarçın	<i>Cinnamomum</i>	Ağaç kabuğu
Ardıç	<i>Juniperus communis</i>	Meyve
Bergamot	<i>Citrus bergamia</i>	Meyve
Kuşburnu	<i>Rosa</i>	Meyve
Limon	<i>Citrus limon</i>	Meyve
Anason	<i>Pimpinella anisum</i>	Tohum
Dereotu	<i>Anethum graveolens</i>	Tohum
Kimyon	<i>Cuminum cyminum</i>	Tohum
Kişniş	<i>Coriandrum sativum</i>	Tohum
Rezene	<i>Foeniculum vulgare</i>	Tohum

### 2.3.1. Ihlamur

Ihlamur; ihlamurgiller (*Tiliaceae*) familyasından *Tilia* cinsini oluşturan ağaç türlerinin ortak adıdır. Ihlamur ağaçları boyları 30 metreye ulaşabilen, yaprak döken, Haziran-Temmuz aylarında sarımsı beyaz renkli hoş kokulu çiçekler açan, sık dallı, sıkı ve ince yapılı, geniş tepeli ağaçlardır. Çiçekleri sarkık durumlar halinde olup, durumlar birlikte büyüdükleri ağimsı damarlı uzun dil şeklinde soluk yeşil renkli brakte yaprakları taşımaktadır (Şekil 2.5). Ihlamur Amerika, Avrupa ve Asya'da ılıman bölgelerde (65. enleme kadar) doğal olarak yayılış gösterebildiği gibi özellikle Avrupa ve Kuzey Amerika'da kültürü de yapılmaktadır. 40 kadar cinsi, 400 kadar türü olan *Tiliaceae* familyasının, ülkemizde 2 cinse ait 5 türü yetişmektedir (Kaya ve Telci 1997, Tanker ve ark. 2007, Uslu 2004, Korkusuz ve Dirik 2011, Anonim 2012). *Tilia L.* cinsine ait 45 tür var olup, bunlardan 6'sı Avrupa'da bulunmaktadır. Tüm Avrupalı türler melezlenebilmekte ve doğal meezlere yaygın olarak rastlanmaktadır. Bunlar tür, varyete ya da form olarak tanımlanmakta ve çoğu park ve bahçelerde yetiştirilmektedir (Fitsiou ve ark. 2007).

Ülkemizde *Tilia tomentosa* Moench, *Tilia plathyphyllos* Scop., *Tilia rubra* DC.'nin doğal olarak yetiştiği belirtilmektedir. Diğer taraftan Kaya ve Telci (1997) tarafından

Anadolu'da *Tilia cordata* Miller örneklerine rastlandığını bildiren çalışmalar olduğu ileri sürülmekte ve Demir (2003)'in yaptığı bir çalışmada Çatalca, Binkılıç ve Çilingöz'da *Tilia cordata*'ya rastladığı Korkusuz ve Dirik (2011) tarafından bildirilmektedir. Ülkemizde bulunan ıhlamur türleri arasında en geniş yayılışa sahip olan *T. tomentosa* Batı Karadeniz ve Marmara bölgesinde yaygın olarak görülmektedir. *T. rubra* DC. kuzey kesimlerde daha sık görülmekte, ülkemizde daha seyrek bulunmakta olan *T. platyphyllos* Scop. ise, Kuzeydoğu Anadolu, Isparta, Kazdağı ve Kuşadası'nda yetişmektedir (Toker ve ark. 1999, Korkusuz ve Dirik 2011).



**Şekil 2.5.** Ihlamur çiçek ve braktesi (Uslu 2004)

Ihlamur çiçeklerinin temel bileşenleri arasında flavonoidler, fenolik asitler, uçucu yağlar, fitosteroller, organik asitler, tanenler, müsilaj, mineraller, niasin ve C vitamini yer almaktadır (Oniszczuk ve ark. 2015).

- Fenolik asitler: Kafeik asit, klorojenik asit, p-kumarik asit
- Amino asitler
- Karbonhidratlar: Müsilaj
- Flavonoidler: kaempferol, quersetin, mirisetin ve glikozitleri (başlıcası, Kaempferol-3-O- $\beta$ -D-(6''-E-p-coumaroyl)-glucopyranoside – tiliroside) (Toker ve ark. 2001)

- Uçucu yağlar (%0.02-0.1): Alkanlar (tricosane, nonacosane, heneicosane,...), fenolik alkoller ve esterler, terpenler (limonene, (E)-nerolidol,  $\beta$ -cyclocitral, citronellol,  $\gamma$ -terpinene,  $\alpha$ -terpineol,...) (Fitsiou ve ark. 2007, Toker ve ark. 1999)
- Diğer bileşenler: Saponin, tanen, tokoferol

İçerdiği flavonoidler, glikozitler, uçucu yağ ve müsilaj gibi etken maddeler nedeniyle ıhlamur çiçekleri brakte yapraklarıyla birlikte halk arasında çeşitli rahatsızlık ve şikayetleri gidermek amacıyla yaygın şekilde kullanılmaktadır. Ihlamurun kurutulmuş çiçekli brakteleri bitki çayı olarak tüketilmekte, balgam sökücü, yatıştırıcı, terletici, idrar söktürücü olarak halk tıbbında kullanım alanı bulmaktadır. Bileşiminde bulunan müsilajdan dolayı göğüs yumuşatıcı, flavonoidlerden dolayı idrar söktürücü etki göstermektedir. Terletici etkisinden sorumlu tutulacak özel bir bileşen günümüze kadar tanımlanmamış olmakla birlikte Ortaçağ'dan beri diyaforetik olarak kullanılagelen ıhlamur çiçeklerinin bazı toplumlarda geleneksel olarak baş ağrısı, hazımsızlık, diyare, anksiyeteye bağlı sindirim güçlüğü, çarpıntı ve kusma gibi sorunları gidermeye yönelik olarak çay şeklinde tüketildiği, histeriyi yatıştırmak amacıyla haricen, banyo şeklinde uygulandığı bilinmektedir (Kaya ve Telci 1997, Toker ve ark. 2001, Fitsiou ve ark. 2007, Sroka ve Belz 2009, Anonim 2012, Oniszcuk ve ark. 2015). Amerikan Botanik Konseyi, Genişletilmiş Komisyon E tarafından, soğuk algınlığı ve bununla ilintili öksürük için kullanılabileceği onaylanan ıhlamur çiçeklerinin, nezle, soğuk algınlığı, öksürük, hipertansiyona karşı ve huzursuzluk giderici olarak kullanıldığını İngiliz Bitkisel Tıp Derneği yayınlarında bildirmektedir (Fitsiou ve ark. 2007).

Ihlamurun dal ve gövde kabukları da sedatif ve koleretik etki göstermekte olup Avrupa'da bazı müstahzarların bileşimine girmektedir (Toker ve ark. 1997). Ihlamur çiçekleri bebek ve çocuklarda sağlığı koruma amacıyla da kullanılmaktadır (Oniszcuk ve ark. 2015)

Ihlamur çayının bağırsakta demir emilimini geliştirdiği bildirilmekte ve dolayısıyla çocuk ve yetişkinlerde demir eksikliği anemisine karşı önleyici olarak tüketilmesi önerilmektedir (El-Shobaki ve ark. 1990). Huzursuzluk giderici ve stres azaltıcı etkisi için kullanımına dayanak oluşturacak nitelikte çalışmalar da mevcuttur (Aydın ve ark. 1992, Viola ve ark. 1994).

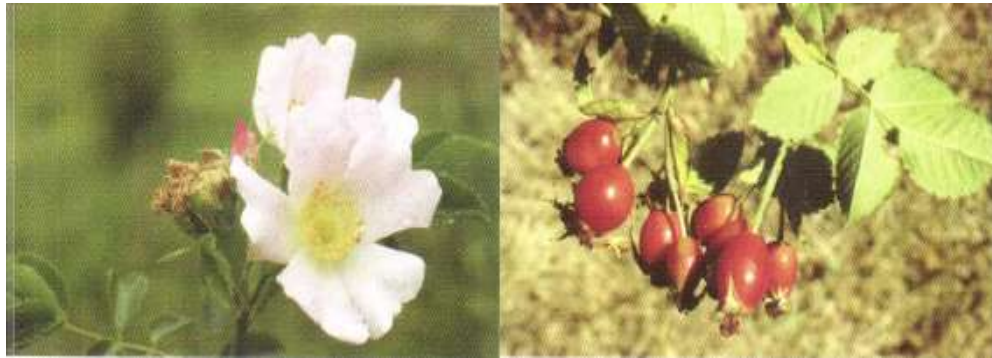
Ihlamur çayı, ıhlamurun kurutulmuş çiçekli braktelerinden elde edilmektedir (Fitsiou ve ark. 2007). Ihlamur çiçeklerinin toplanması için en uygun zaman Haziran-Temmuz aylarında çiçeklenmeden sonraki en geç 4. güne kadar olan dönemdir. Toplama işlemi gerçekleşirken var olan hava koşulları çiçeklerin kalitesinde önemli rol oynamakta olup

yağışlı havalarda toplanan ve iyi kurutulmayan çiçekler kahverengi ve kokusuz iken yağışsız hava şartlarında toplanan çiçekler sarı renkli ve kokuludur (Korkusuz ve Dirik 2011).

### 2.3.2. Kuşburnu

Çok yıllık bir bitki olan kuşburnu, *Rosaceae* (gülğiller) familyasının *Rosodieae* alt familyasının *Rosa* cinsi kapsamına girmektedir. Bu cinsin Avrupa, Asya, Orta Doğu ve Kuzey Amerika'ya yayılmış 100'den fazla türü bulunmaktadır (Yamankaradeniz 1983a, Tanker ve ark. 2007). Yaprak döken, çalı ve ağaççıklardan oluşan bu türler soğuk hava, eğimli ve kayalık arazi, verimsiz toprak ve kuraklık gibi zorlu çevresel koşullara oldukça dirençlidir. Ülkemizde hemen her bölgede deniz seviyesinden 3000 m yüksekliğe kadar doğal olarak yayılış gösteren başta *Rosa canina*, *Rosa dumalis*, *Rosa villosa* ve *Rosa pulverulenta* olmak üzere 25 tür bulunmakta olup bunlar özellikle Orta ve Kuzeydoğu Anadolu'da yoğunlaşmıştır. Çiçek ve meyveleri için park ve bahçelerde yetiştirilebildikleri gibi vadiler, mezarlıklar, yol kenarlarında da sıklıkla rastlanmaktadır (Balta ve Çam 1996, Yıldız ve Nergiz 1996, Demir ve Özcan 2001, Ercişli 2007, Roman ve ark. 2013).

Yabani gül, köpek gülü gibi isimlerle de bilinen *Rosa canina* ülkemizde kuşburnu denilince ilk akla gelen türdür (Şekil 2.6). 1-3 m yüksekliğinde olup pembe veya beyaz renkli çiçeklere ve kızılıcığı andıran parlak kırmızı meyvelere sahiptir (Yamankaradeniz 1983a, Balta ve Çam 1996, Kumarasamy ve ark. 2003). Anadolu'nun birçok yerinde meyveleri çok eski zamanlardan beri besin kaynağı olarak faydalanılmak üzere toplanmaktadır (Ercişli 2007).



Şekil 2.6. *Rosa canina* (kuşburnu) çiçek ve meyvesi (Tanker ve ark. 2007)

Kuşburnu Rusya, Polonya, Almanya, İsviçre, Bulgaristan, Finlandiya gibi birçok ülkede gıda ve ilaç sanayinde kendine geniş kullanım alanı bulmaktadır. Marmelat, bitki çayı, meyve suyu, meyve jeli, kuşburnu pulpu ve şarap, kuşburnu meyveleri kullanılarak elde

edilen bazı ürünlerdir. Bunun yanı sıra bazı meyve sularının vitamin C yönünden zenginleştirilmesi amacıyla ve pastacılıkta katkı maddesi olarak kullanımı da söz konusudur (Yamankaradeniz 1983b, Roman ve ark. 2013).

Kuşburnu meyveleri vitamin ve mineral içeriği yönünden zengin bir bileşime sahiptir. C vitamini içeriği yaygın olarak tüketilen çeşitli sebze ve meyvelerden daha yüksektir (Demir ve Özcan 2001, Demirci 2011, Leahu ve ark. 2014). Beslenme açısından kendisine önem kazandıran yüksek düzeyde C vitamininin yanı sıra karoten, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, E, K vitaminlerini de içermektedir (Yamankaradeniz 1983a). Mineral yönünden değerli bir kaynak olan kuşburnu meyveleri özellikle potasyum ve fosforca çok zengindir. Ayrıca yapısında Ca, Mg, Mn, Na, Zn, Fe gibi mineralleri de barındırmaktadır (Demir ve Özcan 2001). Çeşitli mineralleri içerdiği saptanan 20 türden bitkiden elde edilen bitki çaylarına mineral geçişinin belirlendiği bir çalışmada en yüksek Fe geçişinin 10 ve 15 dk'lık dekoksasyon yolu ile hazırlanan kuşburnu çayında meydana geldiği tespit edilmiştir (Özcan ve ark. 2008). Bunların yanı sıra diğer yabancı meyvelerde olduğu gibi yüksek fenolik bileşik içeriği mevcuttur (Angelov ve ark. 2014). Kuşburnunun meyvelerinin yapısında bulunan bazı bileşenler şu şekildedir:

- Protein (Yamankaradeniz 1983a, Leahu ve ark. 2014)
- Karbonhidrat (Yamankaradeniz 1983a)
- Fenolik Asitler: Gallik asit, protokateşik asit, kafeik asit, siringik asit, kumarik asit, vanilik asit, ferulik asit, ellagic asit (Tumbas ve ark. 2012)
- Flavonoidler: Kateşin, rutin, kaempferol, mirisetin (Tumbas ve ark. 2012), quersetin (Tumbas ve ark. 2012, Karakaya ve El 1999)
- Uçucu bileşenler: Benzaldehit, asetaldehit, heksanal, 2(3H)-Furanone, 6-Metil-5-hepten-2-one, formik asit, asetik asit, ionone, 3-Metilbütanoik asit, bütanoik asit, 2-Metil-2-propenoik asit, heksanoik asit, heptanoik asit, oktanoik asit, nonanoik asit, n-dekanoik asit (Murathan ve ark. 2016).
- Karotenoidler:  $\beta$ -karoten, likopen,  $\beta$ -kriptoksantin, rubiksantin, lutein+zeaksantin (Hodisan ve ark. 1997, Böhm ve ark. 2003).

Alman Komisyon E monograflarında, kuşburnu meyvelerinin inflamatuvar artrit, siyatik, romatizma, gut, grip ve soğuk algınlığı gibi enfeksiyonlar, sindirim güçlüğü gibi mide-bağırsak düzensizlikleri, ülser, safra taşı gibi rahatsızlıklara karşı koruyucu ve tedavi

edici etkinlik gösterdiği, diüretik ve astrenjan etkisi yaptığı belirtilmektedir (Deliorman ve ark. 2007). Türk halk hekimliğinde diyabet ve hemoroide karşı etkili bir çare olarak bilinen kuşburnu meyvesi ülkemizde başta soğuk algınlığı gibi çeşitli enfeksiyonlar olmak üzere değişik yörelerde halk arasında egzama, ishal, hemoroid ve ateşli hastalıklara karşı alternatif tedavi yöntemi olarak görülmesinin yanında, kuşburnu kök ve yaprakları bronşite karşı kullanılmaktadır (Yamankaradeniz 1983b, Deliorman ve ark. 2007). Böbreklere zarar vermeksizin diüretik etki gösteren kuşburnu meyvesi özellikle sindirim sistemi için faydalı olup ülsere karşı koruyucu etkisi olduğu belirlenmiştir (Demir ve Özcan 2001, Gürbüz ve ark. 2003). Diyabete karşı kullanımını destekleyen çalışmalar mevcuttur (Orhan ve ark. 2009). Kuşburnu meyvelerinden hazırlanan fenolik bileşen içerikli fraksiyonların HeLa, MCF7 ve HT-29 kanser hücrelerinin büyümesini kısıtlayıcı etki gösterdiği saptanmıştır (Tumbas ve ark. 2012). Klinik testlerde osteoartrit semptomlarını azalttığı belirlenen kuşburnu meyvesi ve kapsül formu bazı Avrupa ülkelerinde gıda takviyesi olarak satışa sunulmaktadır (Wenzig ve ark. 2008, Deliorman ve Hartevioğlu 2013).

Kuşburnu meyvesinin taze olarak değerlendirilmesi olum süreci ile sınırlı olup, yapısında bulunan çok sayıda çekirdek ve tüycükler taze olarak tüketimini kısıtlamaktadır (Nas ve Gökalp 1993). Ülkemizde çayı, marmeladı, şurubu, pestili, nektarı yapılarak tüketilen kuşburnu meyvelerinin taze veya kurutularak çayının yapılması en yaygın tüketim şekillerinden biri olarak karşımıza çıkmaktadır (Yıldız ve Nergiz 1996, Ercişli 2007). Ülkemizde yapılan bir araştırmada kişilerin kuşburnu çayı tüketme nedenleri arasında ilk sırayı C vitamini yönünden zengin olmasının, ikinci sırayı ise lezzetli olmasının aldığı ortaya konmuştur (Sayılı ve ark. 2010).

Çayı, tek başına veya diğer bitkisel çay karışımları içinde yer alabilen kuşburnu meyvelerine günümüzde kurutulmuş veya hazır poşet çaylar şeklinde kolaylıkla ulaşmak mümkündür (Yıldız ve Nergiz 1996). Poşet kuşburnu çayları çoğunlukla karabamya (*Hibiscus sabdariffa* spp. *Edilus*) çiçeği yapraklarıyla harmanlanmış halde bulunmakla birlikte yalnızca kuşburnu meyvesinden hazırlanmış poşet çaylar da bulunmaktadır (Acar ve Demir 2001).

### **2.3.3. Bitki çaylarında mikrobiyel kalite**

Büyüyen küresel pazarı ve gittikçe artan kullanımları göz önüne alındığında, tıbbi bitkilerin kalitesi ve güvenilirliği halk sağlığına yönelik bir tehlike yaratmaması açısından üzerinde önemle durulması gereken bir konudur. Henüz yetiştirilme aşamasında dahi toprak,

hava, su gibi dış etmenlere bağlı olarak mikroorganizmaların kontaminasyonuna açık olmaları ve tüketime hazır hale gelmeden önce bunları elimine etmeye yönelik çok az işlemden geçmeleri nedeniyle çay yapımında kullanılan bitkiler, mikrobiyolojik tehlikeleri barındıran önemli bir araç haline gelebilmektedir (Martins ve ark. 2001b, Vitullo ve ark. 2011, Araújo ve Bauab 2012).

Hasat öncesi toprak, su, gübre, lağım suları, hayvan atık ve artıkları tarafından kontamine edilebilmelerinin yanı sıra çay yapımında kullanılan bitkisel materyaller hasatları, kurutma, sınıflandırma, öğütme, işleme, ambalajlama, depolama gibi üretim aşamaları sırasında da mikroorganizmalar ile bulaşabilmektedir (Özyaral ve ark. 1994, Heperkan 2006). Kültürü yapılanlara daha çok hasat sonrası işleme basamaklarında bulaşmanın gerçekleştiği düşünülmekle birlikte, doğadan toplanan ve kültürü yapılan bitkiler arasında biyolojik kontaminasyonu karşılaştırmaya yönelik yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır (Kosalec ve ark. 2009).

Kurutma işleminin optimizasyonu tıbbi ve aromatik bitkilerde mikrobiyolojik stabilitenin sağlanması bakımından oldukça önem taşımaktadır. Bitkinin kullanılacağı kısım, içerdiği aktif bileşenlerin korunması ve nem düzeyi gibi faktörler göz önünde bulundurularak kurutma koşulları belirlenmektedir (Araújo ve Bauab 2012). Kurutmanın düşük sıcaklıklarda yapılması bitkisel materyalde mikroorganizmaların gelişimine olanak sağlamaktadır (Chen ve Mujumdar 2006). Diğer taraftan yüksek sıcaklıkta kurutma toplam aerobik mikroorganizma sayısında azalma sağlamaktadır. Aynı zamanda su aktivitesini *Aspergillus* türlerinin gelişmesi için gerekli değerin altına indirmektedir (Araújo ve Bauab 2012).

Tıbbi bitkilerde önemli bir işlem basamağı olan, depolama sırasında çevresel ve içsel faktörlere bağlı olarak kademe kademe bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik değişiklikler meydana gelmektedir. Depolama sırasında kötü havalandırma koşulları çoğunlukla nem içeriğinin artmasına yol açmakta ve bu bitkisel materyaller küflerin gelişimi ve toksin üretimine daha duyarlı hale gelmektedir. Bağlı nemin kontrol altında tutulmadığı durumlarda pek çok küf gelişerek kurutma ve depolama sırasında en yaygın kontaminantları oluşturmaktadır. Küfler bazı tıbbi bitkilerde meydana gelen biyolojik bozunmalardan sorumlu tutulmakta, kimyasal bileşimini olumsuz yönde etkileyerek tıbbi etkisini azaltabilmekte, raf ömrünü kısaltmakta ve piyasa değerini düşürebilmektedir (Araújo ve Bauab 2012). Bitki çaylarının kimyasal stabiliteilerinin uzun dönemde araştırılmasına yönelik çalışmalar çok sınırlıdır. Bazı tıbbi bitkilerde depo küflerinin neden olduğu bozulmanın araştırıldığı bir

çalışmada, hasatlarının ardından 6-9 ay boyunca satış noktasında depo edilen örnekler incelenmiş, bazı kontamine örneklerin toksijenik *Aspergillus flavus* suşları tarafından bozulduğu ve izin verilen limitlerin üstünde aflatoksin B<sub>1</sub> içerdiği belirlenmiştir (Kumar ve ark. 2009).

Bir kısım mikroorganizmanın bitki çaylarının sıcak su ile hazırlanmasından sonra da canlılığını sürdürebildiği, bazı bakterilerin çaya uygulanan alkol ile ekstraksiyon gibi işlemleri tolere edebildiği ve çok yüksek sıcaklıklara dayanıklı oldukları bildirilmektedir. Bu nedenle yüksek miktarda mikrobiyel yüke sahip bitki çaylarının tüketimi insan sağlığı açısından son derece risk taşımaktadır (Khattak 2012).

Maserasyon yolu ile hazırlanan bitki çayları önemli düzeyde mikroorganizma barındırabilmekte ve bu şekilde oda sıcaklığında demleme mikroorganizmaların çoğalmasına olanak tanımaktadır. Kaynar su ile hazırlama çoğunlukla mikroorganizma sayısında azalma ve patojenlerin önemli oranda inaktivasyonu ile sonuçlanmakla birlikte, *Bacillaceae* familyasına ait bakteri sporları infüzyon gibi termal işlemlere direnç göstermekte ve bu termal şok sporların çimlenmesini teşvik edebilmektedir. Bu bakterilerden bazıları gıda zehirlenmelerine yol açmaları ile tanınan *Bacillus cereus* ve *Clostridium perfringens*'dir. Bu nedenle sıcak ya da soğuk suyla hazırlanan bitki çaylarının mikrobiyolojik kontaminasyonu önemli ölçüde artış gösterebilmektedir (Araújo ve Bauab 2012).

Yapılan çalışmalarla bitki çaylarının yüksek düzeyde toplam bakteri (Vitulo ve ark. 2011, Tournas ve Katsoudas 2008, Wilson ve ark. 2004) ve küf (Omogbai ve Ikenebomeh 2013, Khattak 2012, Tournas ve Katsoudas 2008, Kolb 1999, Halt 1998) barındırabildiği, ayrıca koliform grubu bakterilerin (Abou Donia 2008, Legnani ve ark. 2001) yanı sıra, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* ile bunların sporları ve *Salmonella* spp. (Kaya 2006, Vitulo ve ark. 2011, Martins ve ark. 2001b) ile kontamine oldukları, sıcak su ile demlenerek hazırlanan bitki çaylarında yüksek sayıda bakteri bulunabildiği (Wilson ve ark. 2004) gösterilmiştir.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada Özyaral ve ark. (1994) 10 adet adaçayı, 8 adet ıhlamur ve 9 adet nane yaprağı ile bunlardan hazırlanan infüzyonlarda mikolojik analiz yapmış ve flora kaybını incelemiştir. Çalışmada, 27 ayrı türe ait toplam 122 adet küf izole edilmiş ve bunlardan 81 adedinin %33,6'lık bir kayıpla infüzyonlarda canlı kaldığı belirlenmiştir. Baskın mikroflorayı içinde önemli aflatoksin üreticisi *Aspergillus flavus* ve *A.*



*parasiticus*'un da yer aldığı *Aspergillus*'ların oluşturduğu saptanmış olup, bu gibi ürünlerin kurutma, depolama, ambalajlama ve tüketime kadar geçen süre boyunca küf ve dolayısıyla toksinleri ile kontamine olarak sağlığı tehdit edebileceği vurgulanmıştır.

Arslan (2013), organik tarım yöntemleri ile üretilen ve organik sertifikaya sahip bazı baharat ve dağ/ada çayı, ıhlamur, kuşburnu, papatya, rezeneden oluşan bitkisel çay örneklerinde aflatoksin B<sub>1</sub> düzeylerinin yanı sıra küf-maya, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae*, koliform bakteri seviyelerini belirlemeye yönelik bir çalışma yapmıştır. Mikrobiyolojik sayımları hızlı mikrobiyolojik analiz yöntemiyle gerçekleştirmiş, analizi yapılan 37 bitkisel çayın 30 tanesinde (%82) maya küf kontaminasyonu tespit etmiştir. En yüksek kontaminasyon seviyesine, kontaminasyon ortalamalarına göre ıhlamurun ( $3,5 \times 10^3$  kob/g), en düşük seviyeye ise kuşburnunun ( $1,1 \times 10^1$  kob/g) sahip olduğunu belirlemiştir. Örneklerin kontaminasyon seviyelerini, dağ/ada çayında  $1,0 \times 10^1 - 3,0 \times 10^3$  kob/g, ıhlamurda  $3,3 \times 10^2 - 5,2 \times 10^3$  kob/g, kuşburnunda  $< 1,0 \times 10^1 - 2,1 \times 10^1$  kob/g, papatyada  $< 1,0 \times 10^1 - 8,3 \times 10^3$  kob/g, rezenede  $5,5 \times 10^1 - 8,2 \times 10^3$  kob/g olarak tespit etmiştir. Analiz ettiği 37 bitkisel çay örneğinin 33 tanesinde (%89,19) *Staphylococcus aureus*, 36 tanesinde (%97,29) *Enterobacteriaceae* ve 25 tanesinde (%67,56) koliform bakteri saptanmış olup, maksimum kontaminasyon seviyesinin *Staphylococcus aureus* için kontaminasyon seviyesi ortalamasına göre  $> 4,9 \times 10^4$  kob/g ile dağ/ada çayı, kuşburnu ve papatyada, *Enterobacteriaceae* için  $> 4,9 \times 10^4$  kob/g ile kuşburnunda, koliform bakteriler için ise  $4,16 \times 10^4$  kob/g ile kuşburnunda görüldüğünü, minimum bakteriyel kontaminasyonun bitkisel çaylar içinde rezeneyle ait olduğunu bildirmiştir.

Aralarında 13 adet ıhlamur, 13 adet papatya, 2 adet adaçayı ve 2 adet nanenin de yer aldığı toplam 62 adet tıbbi bitki örneğinin mikrobiyel kalitesini belirlemek amacıyla Martins ve ark. (2001b) tarafından yapılan bir çalışmada, %93,5'inin fungal kontaminasyona maruz kaldığı saptanan örneklerde *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus flavus* ve *A. niger*'in baskın küfler olduğu tespit edilmiş, ıhlamurun *A. flavus* ile en yüksek düzeyde kontamine olmuş örnekler arasında ikinci sırada yer aldığı belirlenmiştir. Ayrıca tamamına yakınının (%96,8) *Bacillus cereus* ve büyük bir kısmının (%83,9) *Clostridium perfringens* gibi patojen bakteriler ile kontamine olduğu belirlenen örneklerin çizdiği mikrobiyolojik tablo nedeniyle yüksek risk oluşturdukları ve bu nedenle tıbbi bitkilere yönelik hijyenik uygulamalar ile dekontaminasyon yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiği bildirilmiştir.

Scolari ve ark. (2001) mikrobiyolojik kontaminasyonu belirlemek amacıyla çay ve ıhlamur, nane, papatya gibi bitki çaylarına ait 85 örneği incelemiştir. Örneklerin %86'sının mikroorganizmalar ile bulaştığı belirlenen çalışmada bitki çaylarında  $10^6$  kob/g'a varan düzeyde toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) ve  $10^1$ - $10^4$  kob/g düzeyinde koliform grubu bakteri tespit edilmiştir. Miktarı  $10^0$ - $10^4$  kob/g olarak belirlenen aerobik sporlu bakterilerin %40'ını *Bacillus* cinsinin oluşturduğu saptanmıştır. En yüksek küf düzeyine  $2,0 \times 10^4$  kob/g ile papatyanın sahip olduğu bulunmuştur. Araştırmacılar bitki çaylarının, diğer çay örneklerine göre daha yüksek düzeyde mikroorganizma barındırdığını ortaya koymuştur.

Stević ve ark. (2012) tarafından gerçekleştirilen, 40'ın üzerinde türden tıbbi bitkide bulunan bakteri ve küflerin izolasyonu ve tanımlanması amaçlanan bir çalışmada bazı örneklerin TMAB ve maya küf düzeyi yönünden farmakope ve yönetmeliklerde belirtilen limitleri aştığı saptanmıştır. Aralarında ıhlamur ve nanenin de yer aldığı bazı örneklerde çok sayıda *Escherichia coli* gibi patojenik bakteri tespit edilmiştir. Örneklerde  $10^6$  kob/g'ı bulan düzeyde küf saptanmış, en baskın türlerin *Fusarium* ve *Aspergillus* olduğu belirlenmiştir.

Storari ve ark. (2012) tarafından İsviçre'de geleneksel olarak tüketilen, çoğunluğunu kuşburnu ve ıhlamurun oluşturduğu bitkisel çay örneklerinde siyah *Aspergilli* izolasyonu ve karakterizasyonunun gerçekleştirildiği çalışmada, *Aspergilli*'nin tür tanımlaması kalmodülün dizilimi ile belirlenmiş ve potansiyel toksijenik izolatlar mikotoksin üretimi için in vitro test edilmiştir. 22 örnekten 16'sında  $10$ - $3500$  kob/g düzeyinde siyah *Aspergilli* kontaminasyonu belirlenmiş ve bunların çoğunlukla küfler arasında baskın mikroflorayı oluşturdukları belirtilmiştir. İncelenen bitkisel çayların aynı zamanda *Penicillium* ve *Fusarium* gibi diğer potansiyel toksijenik küfler ile değişen miktarlarda kontamine olduğu bulunmuştur. En sık bulunan türler, *Aspergillus niger* (41 izolat), *A. acidus* (39) *A. awamori* (27) ve *A. tubingensis* (23) olmuştur. Şarapta OTA kontaminasyonunun birincil nedeni olduğu düşünülen önemli OTA üretici tür *A. carbonarius* hiçbir örnekten izole edilmemiş, iki örnekte potansiyel aflatoksin üreticisi *A. flavus* ve *A. pseudotamari*'ye rastlanmıştır. *A. niger* ve *A. awamori*, fumonisin ve OTA üretme yeteneklerini incelemek üzere in vitro test edilmiştir. *A. niger* izolatlarının %76'sının ve *A. awamori* izolatlarının %37'sinin fumonisin ürettiği, FB<sub>2</sub>'nin yanı sıra neredeyse tüm izolatların FB<sub>4</sub> ve FB<sub>6</sub> ürettiği gözlemlenmiştir. Toplamda 22 örnekten 12'sinin fumonisin üretebilen siyah *Aspergilli* ile kontamine olduğu tespit edilen çalışmada, iki farklı çay örneğinden üç *A. niger*'in (%7) OTA ürettiği, hiçbir *A. awamori*'nin ise OTA üretmediği bildirilmiştir.

Bitki çaylarında toksijenik küflerin ve mikotoksinlerin varlığını belirlemek amacıyla gerçekleştirdiği çalışmada Halt (1998) aralarında ıhlamur ve kuşburnunun da yer aldığı 73 örneği incelemiştir, en baskın küflerin örneklerin %54,58'inde bulunan *Penicillium* spp. ve %19,80'inde bulunan *Aspergillus* spp. olduğunu, en önemli aflatoksin üreticilerinden *A. flavus*'un örneklerin %16'sında bulunduğunu tespit etmiştir. Araştırmacı, bu tip bitkisel materyallerde aflatoksin üretebilen küflerin varlığının tehlike oluşturduğunu belirtmiş, özellikle mikotoksin barındırma ihtimali bulunan bitki çaylarının tıbbi amaçlarla kullanımının yarattığı ironiye değinmiştir.

Bitki çayı örneklerinin fungal kontaminasyon ve mikotoksijenik küf varlığı açısından değerlendirildiği bir çalışmada Bokhari ve Aly (2012), baskın mikroflorayı 13 cins ve 20 türün oluşturduğunu, mikotoksikolojik açıdan son derece önemli kabul edilen *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* cinslerinin en fazla bulunan küfler olduğunu tespit etmiştir. Buradan hareketle, toksijenik küflerin varlığının mikotoksin kontaminasyonu için potansiyel bir risk oluşturduğunu ve tıbbi bitkilerin dünya çapında artan kullanımı göz önüne alındığında, tüketici sağlığı açısından riskleri azaltmak amacıyla işlenmemiş bitkisel çaylardaki toksijenik küfler için standartların düzenlenmesi gerektiğini vurgulamıştır.

Abou Donia (2008) Mısır'da bazı baharat ve bitki çaylarının mikrobiyel kalitesini belirlemeye yönelik olarak gerçekleştirdiği çalışmada 20 çeşit bitkiye ait toplam 303 örneği incelemiştir, en yüksek oranda küf barındıran tıbbi bitkinin rezene olduğunu tespit etmiştir. *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* cinslerinin en sık karşılaşılan küfler olduğu, bunların incelenen tüm örneklerde bulunduğu belirlenen çalışmada, *Aspergillus flavus* ve *A. niger*'in en baskın türler olduğu bildirilmiştir.

Omogbai ve Ikenebomeh (2013) Nijerya'da farklı amaçlarla kullanılan 5 farklı tip bitki çayına ait 27 örneği bakteri ve küf kontaminasyonu yönünden incelemiştir, aralarında *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* gibi patojenlerin de bulunduğu çeşitli bakterilerin yanı sıra  $4,0 \times 10^2$ - $3,8 \times 10^5$  kob/g düzeyinde küf tespit etmiştir. Baskın küf mikroflorasını sırasıyla *Aspergillus niger*, *A. flavus* ve *Penicillium expansum*'un oluşturduğunu bildiren araştırmacılar, aflatoksin üretme olasılığı nedeniyle *A. flavus* gelişiminin önlenmesi amacıyla bu tip ürünlerin hızlı bir şekilde kurutulmasının önemine değinmiştir.

69 adet bitki çayı örneğinde fungal kontaminasyon ve toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının araştırıldığı bir başka çalışmada Tournas ve Katsoudas (2008) örneklerde  $5,8 \times 10^5$  kob/g'a varan düzeyde fungal kontaminasyon tespit etmiştir. *A. flavus*, *A. niger*, *A. carbonarius*, *A. versicolor*, *A. ochraceus*, *Fusarium*, *Penicillium* spp. gibi potansiyel mikotoksin üreticilerinin yanı sıra, örneklerin maya ve  $1,2 \times 10^7$  kob/g gibi yüksek düzeyde TMAB barındırdığı bildirilmiştir.

Romagnoli ve ark. (2007), bazı baharat, tıbbi ve aromatik bitki ile bitki çaylarında aflatoksin düzeyini araştırmış, yalnızca 7 baharat örneğinde aflatoksin tespit etmiştir. Bunun üzerine tıbbi ve aromatik bitki ile bitki çaylarına ait 27 örnek, küflerin varlığını araştırmak için bir mikrobiyolojik incelemeye tabi tutulmuştur. İtalya Cumhuriyeti Resmi Farmakopesi (9. Basım) bitki infüzyonları ve dekoksiyonlarında küfler için limit değerleri  $10^4$  kob/g olarak belirlemiş olduğundan, örneklerin %56'sının aflatoksin içermese bile küfler tarafından kontamine edildiği belirlenmiştir.

#### **2.3.4. Bitki çaylarında mikotoksin varlığı**

Atmosferde yaygın olarak bulunmalarından dolayı küfler bitki çaylarının da aralarında yer aldığı bitkisel materyallerde en sık karşılaşılan kontaminantlar arasında yer almaktadır. Bu türden bitkilerin, aralarında toksijenik türlerin de yer aldığı küfleri yüksek düzeyde barındırabildiği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Toksijenik küflerin varlığı mikotoksin oluşumu riskini de beraberinde getirmektedir (Kosalec ve ark. 2009).

Çevresel koşulların küflerin gelişimi için uygun olduğu durumlarda, hasat öncesinde mikotoksin üretimi meydana gelebilmektedir. Çoğu zaman bu koşullar insanoğlunun kontrolü dışındadır. Hasat ve sonrasında meydana gelen kontaminasyonun kontrol altına alınması ise birkaç faktör aracılığıyla mümkün olmaktadır. Bunlar tarımsal uygulamalar, hasat sırasındaki muamele, kurutma yöntemi ve süresi, depolama şartları ve tohumun kalitesi ile fiziksel zararın azaltılmasıdır (Heperkan 2006).

Fiziksel olarak zarar görmüş bir mahsulün, toprak ile temas halinde iken mikotoksijenik küfler ile bulaşma oranı yüksek olmaktadır. Küflerin varlığı daima mikotoksinlerin de olduğu anlamına gelmemekte ancak mikotoksin tehlikesine işaret etmektedir. Bu nedenle mikotoksin oluşumunu önlemek için hasat ve kurutma boyunca ürünün toprak ile temasını engellemek çok önemlidir. Kemirgen, böcek vb. zararlı varlıkların vereceği fiziksel zararın önlenmesi de hijyen kurallarına uyulması ile hızlı ve etkili

kurutmanın sağlanmasına bağlıdır. Diğer taraftan etkili bir kurutma işlemi ile su aktivitesi düşürülerek mikrobiyolojik yönden kararlılık sağlanması amaçlanmaktadır. Depolama koşulları, özellikle yığınlar halinde depolamada küf gelişimini teşvik etmektedir (Heperkan 2006). Sıcaklık ve nem kontrolü yapılmaksızın uzun süre kötü koşullarda depolanan bitki çayları küf gelişimi ve mikotoksin üretimine uygun hale gelmektedir (Araújo ve Bauab 2012).

Literatür taraması yapıldığında bitki çaylarında mikotoksinlerin varlığına yönelik ülkemizde ve yurt dışında yapılmış çeşitli çalışmalara rastlanmıştır. Bunun yanında *Camellia sinensis* bitkisinden elde edilen siyah çay ve diğer çaylarda da mikotoksin kontaminasyonunun araştırıldığı çalışmalar mevcuttur.

Dağdelen ve ark. (2014), ulusal çapta üretimde önemli yeri olan bir firmadan 2010 yılı mahsulü ham ve paketlenmiş halde tedarik ettikleri adaçayı, ıhlamur, kuşburnu, papatya ve rezenenin mikrobiyel kalitesini incelemiş ve aflatoksin düzeylerini HPLC ile belirlemiştir. Araştırmacılar tarafından, analiz edilen ham numunelerde ve raf ömürleri boyunca periyodik olarak 1, 12, 18, 24, 28, 32 ve 36. aylarda analiz edilen paketlenmiş örneklerdeki aflatoksin düzeyinin ölçüm limitinin altında olduğu bildirilmiştir.

Organik tarım yöntemleri ile üretilen ve organik sertifikaya sahip baharat ve bitkisel çaylarda aflatoksin B<sub>1</sub> düzeylerinin ve küf-maya, *Staphylacoccus aureus*, *Enterobacteriaceae*, koliform bakteri seviyelerinin belirlenmesini amaçladığı çalışmada Arslan (2013), 93 baharat ve 9 dağ/ada çayı, 5 ıhlamur, 6 kuşburnu, 10 papatya, 7 rezeneden oluşan 37 bitkisel çay örneğini incelemiştir. Örneklerin aflatoksin B<sub>1</sub> seviyelerini belirlemede ELISA testini, mikrobiyolojik sayımlar için ise hızlı mikrobiyolojik analiz yöntemini kullanmıştır. Bitkisel çay örnekleri değerlendirildiğinde, analizi yapılan 37 bitkisel çayın 30 tanesinde (%82) maya-küf kontaminasyonu tespit etmiştir. En yüksek kontaminasyon seviyesine, kontaminasyon ortalamalarına göre ıhlamurun ( $3,5 \times 10^3$  kob/g), en düşük seviyeye ise kuşburnunun ( $1,1 \times 10^1$  kob/g) sahip olduğunu bildirmiştir. 93 organik baharat örneğinin 58 tanesinde (%62), 37 adet organik bitkisel çay örneğinin 32 tanesinde (%86) aflatoksin B<sub>1</sub> tespit etmiştir. Baharatların AFB<sub>1</sub> içeriğini 0,017-52,500 µg/kg düzeyinde bulmuştur. Bitkisel çaylarda ise AFB<sub>1</sub> düzeylerinin, ıhlamurda 0,051-40,647 µg/kg, kuşburnunda 20,695-52,500 µg/kg, rezenede 1,069 - 11,034 µg/kg, papatyada 3,438 - 38,877 µg/kg, dağ/ada çayında 0,246 - 32,239 µg/kg olduğunu bildirmiştir.

Ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada Omurtag ve Yazıcıoğlu (2004), İstanbul'daki market ve pazarlardan temin ettikleri 54 bitki çayı ve Türkiye'de birçok insan tarafından kullanılan doğal infüzyonlardan olan 61 tıbbi bitki örneğinde HPLC ile fumonisin B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) ve fumonisin B<sub>2</sub> (FB<sub>2</sub>) varlığını araştırmıştır. Siyah çay, yeşil çay, defne, mısır püskülü, papatya, kuşburnu, dağçayı, ıhlamur, adaçayı, nane, ısırgan otu, sinameki, kekik, rezene, meyankökü, maydanoz-mısır püskülü-kiraz sapı-biberiye-rezene karışımı, papatya-mayasilotu karışımı, nane-ısırgan otu karışımı, papatya-rezene-kısamahmut otu karışımının oluşturduğu örneklerden, nane ve ısırgan otunda sırasıyla 0,160 ve 1,487 µg/g düzeyinde FB<sub>1</sub> tespit edildiği, FB<sub>2</sub>'ye ise hiçbir örnekte rastlanmadığı ortaya konmuştur.

Martins ve ark. (2001a), Lizbon'daki farklı marketlerden temin ettikleri 18 portakal ağacı yaprağı, 18 ıhlamur, 15 mısır püskülü ve 18 papatya örneğinden oluşan 69 tıbbi bitki ile 18 siyah çay örneği olmak üzere toplam 87 örnekte FB<sub>1</sub> ve FB<sub>2</sub> düzeyini HPLC ile incelemiştir. 57 örnekte (%65,5) FB<sub>1</sub> içeriğinin 20-700 µg/kg düzeyinde olduğu, hiçbir örnekte FB<sub>2</sub>'ye rastlanmadığı belirtilen çalışmada, 18 siyah çay örneğinden 16'sının (%88,8) 80-280 µg/kg FB<sub>1</sub> içerdiği saptanmıştır. Tıbbi bitkilerden %66,6'sının FB<sub>1</sub> içerdiği belirlenen portakal ağacı yapraklarının 350-700 µg/kg ile en yüksek konsantrasyona sahip olduğu, onu %66,6'sının FB<sub>1</sub> ile kontamine olduğu belirlenen ıhlamurun 20-200 µg/kg ile izlediği tespit edilmiştir. Araştırmacılar, mısır püskülü örneklerinin %60,0'ının ve papatya örneklerinin %44,4'ünün FB<sub>1</sub> içerdiğini ve sırasıyla 50-150 µg/kg ve 20-70 µg/kg arasında değişen FB<sub>1</sub> konsantrasyonlarına sahip olduklarını bildirmiştir.

ıhlamur ile kuşburnunun da aralarında yer aldığı 62 tıbbi bitki ve 11 bitkisel çay örneğinde küf ve mikotoksin seviyesini araştırdığı çalışmasında Halt (1998), en önemli aflatoksin üreticilerinden *Aspergillus flavus* ile kontamine olduğunu belirlediği örneklerden 7'sinde aflatoksin B<sub>1</sub>, okratoksin A ve zearalenon mikotoksinlerinin varlığını ince tabaka kromatografisi ile incelemiştir. Söz konusu örneklerde aflatoksine rastlamamış, bir ıhlamur (*Tiliae grandifolia* L.) örneğinde eser miktarda okratoksin A tespit etmiştir.

Romagnoli ve ark. (2007) İtalya'daki Emilia Romagna Bölgesindeki pazar, market ve antrepolardan rastgele temin ettikleri, aralarında kuşburnunun da bulunduğu 48 tıbbi bitki ve bitki çayı, 27 aromatik bitki, 28 baharatı HPLC ile aflatoksin tespiti için analiz etmiştir. Analiz edilen 103 örnekten, 5 kırmızıbiber, 1 hindistan cevizi ve 1 tarçın olmak üzere 7 baharatın aflatoksin içerdiği belirlenmiştir. Bitki çaylarında ise aflatoksin tespit edilmediği bildirilmiştir.

Mısır'da yapılan bir çalışmada Abou-Arab ve ark. (1999) küçük çocuk ve yetişkinler tarafından sıklıkla tüketildiğini belirttikleri ıhlamur, papatya, nane, kimyon ve anasondan oluşan tıbbi bitki örneklerini pestisit kalıntısı, ağır metal ve aflatoksin içeriği ile fungal kontaminasyon yönünden incelemiştir. İki ambalajlı olmak üzere her bitkiden 4'er örnek, toplamda 20 örneğin incelendiği çalışmada, *Aspergillus* ve *Penicillium*'un en sık karşılaşılan cinsler olduğu, *Aspergillus flavus*'un biri dışında tüm örneklerde bulunduğu ve çoğu örnekte en baskın tür olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar hiçbir örnekte aflatoksine rastlanmadığını ortaya koymuştur.

Tıbbi bitkilerin insan sağlığına yönelik olarak mikotoksikolojik açıdan risk taşıyıp taşımadığını belirlemek amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada ıhlamur, sinameki, nane, melisa gibi bitkilerin de yer aldığı 81 örnekte fungal kontaminasyon, *A. flavus* varlığı ve aflatoksin düzeyi araştırılmıştır. Araştırmacılar bitki çayı yapımında kullanılmak üzere hazırlanmış kurutulmuş bitki karışımından oluşan 25 örneği son ürün, bir kısmı doğadan toplanmış bir kısmı serada yetiştirilmiş bir süredir depolanmakta olan 38 örneği ham bitkisel materyal ve doğadan henüz toplanan 18 örneği hasat örnekleri olarak sınıflandırmıştır. Rizzo ve ark. (1998), ham bitkisel materyal olarak sınıflandırılan örneklerden %8,7'sinde, turunc meyvesi kabuğu, akdiken kabuğu, ayırık otu ve ıhlamurda aflatoksin B<sub>1</sub> ve B<sub>2</sub> tespit edildiğini bildirmiştir.

Rizzo ve ark. (2004) tarafından yapılan bir başka çalışmada 13 işletmeden temin edilen 56 tıbbi bitki türüne ait 152 kurutulmuş hammaddede toksijenik *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* suşlarının varlığı ve in vitro şartlarda mikotoksin üretme yetenekleri araştırılmıştır. Aflatoksin (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>) ve trikotesen tespiti için TLC, OTA ve FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> tespiti için HPLC kullanılmıştır. Örneklerden izole edilen 40 *A. flavus* ve *A. parasiticus* suşunun % 50'sinin aflatoksinleri ürettiği belirlenmiştir. Farklı örneklerden izole edilen *A. flavus* suşlarının 2000 µg/kg'a kadar AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub>, *A. parasiticus* suşlarının 2000 µg/kg'a kadar AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub> ürettiği tespit edilmiştir. Melisa ve ıhlamurdan izole edilen *A. flavus*'ların 100-1000 µg/kg düzeyinde AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub>, yine melisa ve ıhlamurdan izole edilen *F. verticillioides*'in sırasıyla 4-0,150 µg/kg, 0,9-0,350 µg/kg aralığında FB<sub>1</sub> ve FB<sub>2</sub> ürettiği belirlenmiştir.

Santos ve ark. (2009), ıhlamur, adaçayı, rezene gibi ülkemizde yaygın olarak kullanılan bitki çaylarının da aralarında yer aldığı 84 tıbbi ve aromatik bitki örneğinin mikotoksin içeriğini ELISA yöntemi ile analiz etmiştir. İncelenen 84 numuneden %99'unun

T-2 toksin, %98'inin ZEA, %96'sının aflatoksin, %63'ünün OTA, %62'sinin DON, %61'inin sitrinin ve %13'ünün FB'ler ile kontamine olduğunu, örneklerin yaklaşık %87'sinin dört veya daha fazla mikotoksini aynı anda içerirken neredeyse her örnekte aflatoksinlerin, T-2 toksin ve ZEA ile birlikte bulunduğunu, bitkilerde çalışılan mikotoksinler için AB'de yasal limitler olmamasına rağmen diğer gıdalar için verilen yasal limitlerle karşılaştırıldığında belirlenen mikotoksin miktarının bazı örneklerde oldukça yüksek olduğunu tespit etmiştir. Araştırmacılar, adaçayı örnekleri ve papatya örneklerinden birinin, incelenen 7 mikotoksinin tamamı ile kontamine olduğunu, ayrıca adaçayı örneklerinin yüksek aflatoksin (23,8-25,2 µg/kg) ve OTA (1,1-17,3 µg/kg) düzeyine sahip olduğunu belirlemiştir. Kırmızı çay yapraklarının 853,44 µg/kg, beyaz çay yapraklarının 254 µg/kg toplam aflatoksin içerdiğini ve FB'ler hariç tüm mikotoksinler ile kontamine olduklarını saptamıştır.

Tekiner ve Türkyılmaz (2011), siyah ve yeşil çaydan oluşan 171 numune üzerinde HPLC ile aflatoksin analizi yapmıştır. Çalışmalarında Çaykur Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü ve özel sektör tarafından üretilen mamul ve yarı mamul çay numunelerinin yanı sıra küflerin gelişmesi ve aflatoksin üretebilmesi için uygun ortam oluşturan çay ve atık çay numunelerini de kullanmışlar ve numuneleri 10 farklı kaynaktan temin etmişlerdir. 171 numuneyi iki paralel olarak analiz etmişler ve her paralel için HPLC'de üç okuma yapmışlardır. Analiz sonuçlarına göre hiçbir numunede aflatoksin tespit edilmediğini bildirmişlerdir.

Sani ve ark. (2012), perakende marketten aldıkları üç popüler ticari markaya ait 21 yerli ve 21 ithal olmak üzere toplam 42 çay örneğini, aflatoksin düzeyini belirlemek amacıyla ELISA tekniği ile analiz etmiştir. 42 örneğin toplam aflatoksin içeriği 1,5-16,5 µg/kg düzeyinde bulunmuştur. Yerli örneklerin aflatoksin içeriklerinin 2,1-14,5 µg/kg, ithal örneklerin ise 1,5-16,5 µg/kg düzeyinde olduğu, yerli ve ithal örnekler ile farklı markalara ait örneklerin aflatoksin içerikleri arasında önemli farklılık bulunmadığı ortaya konmuştur.

Haas ve ark. (2013), toplam 36 Puerh çayı örneğini küf ve aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, fumonisin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> ve okratoksin A mikotoksinleri içeriği yönünden incelemiştir. Aflatoksin, fumonisin ve okratoksin analizleri için sırasıyla RIDASCREEN®FAST Aflatoksin kiti, LC/MS ve HPLC yöntemlerinin kullanıldığı çalışmada araştırmacılar, örneklerdeki aflatoksin ve fumonisin seviyesinin tespit limitinin altında olduğunu, okratoksin A'nın ise 36 örnekten 4'ünde 94,7; 14,8; 0,65 ve 0,65 µg/kg düzeyinde tespit edildiğini bildirmiştir.



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada analizi yapılan 15 adet ihlamur ve 15 adet kuşburnu örneği Tekirdağ ve çevre ilçelerdeki aktar, market ve semt pazarlarından ambalajsız olarak, 2015 yılı Şubat ve Mart aylarında, 2011/32 no'lu “Türk Gıda Kodeksi Gıdalardaki Mikotoksin Limitlerinin Resmi Kontrolü için Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği”ne uyularak tesadüf örnekleme yöntemine göre temin edilmiştir (Anonim 2011b). Mikrobiyolojik analizler için 29.12.2011 tarihli ve 28157 (3. Mükerrer) sayılı Resmi Gazete’de yayımlanan “Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği” esas alınmıştır (Anonim 2011c). Herbir örnek 150 g olup, analiz edilinceye kadar kuru ve ışısız bir ortamda muhafaza edilmiştir.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Nem tayini

Ihlamur ve kuşburnu örneklerinin nem değerleri etüv (Drying Oven DHG-9055A) kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla, kurutulmuş, desikatörde soğutulmuş ve darası alınmış kurutma kaplarına öğütülerek hazırlanan örnekler tartılmıştır. 105 °C’de etüvde örnekler sabit ağırlığa gelene kadar bekletilmiştir. Ardından, desikatörde soğuması sağlanan örnekler tartılmış ve nem içerikleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Cemeroğlu 2010).

$$\%Nem = \left( \frac{m_1 - m_2}{m_1} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

$m_1$  : Örneğin ilk ağırlığı

$m_2$  : Örneğin son ağırlığı

##### 3.2.2. Su aktivitesinin belirlenmesi

Herbir örnek öğütüldükten sonra karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Homojen hale getirilen örnekler, su aktivitesi tayin cihazının (Decagon Device, Pullman WA, ABD) numune kabına dip kısmı görünmeyecek ve yüzeyi düzgün olacak şekilde konulmuştur. Kirlilik yaratmaması ve sonucu etkilememesi için kenarlarındaki tozlar temizlenen numune kabı cihaza yerleştirilmiştir (Anonim 2000).

### **3.2.3. Mikrobiyolojik analizler**

#### **3.2.3.1. Örneklerin hazırlanması**

Her bir örnekten 10'ar g tartılmıştır. Tartılan örnekler, 90 ml %0,85'lik serum fizyolojik içine konulmuş ve manyetik karıştırıcı yardımıyla homojenize edilmiştir. Elde edilen karışımlardan 1'er ml alınmış ve serum fizyolojik içinde 1:9 oranında seyreltilerek dilüsyonları hazırlanmıştır. Dilüsyonlar, toplam mezofilik aerobik bakteri ve maya küf sayımı için kullanılmıştır.

#### **3.2.3.2. Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayımı**

Hazırlanan dilüsyonlardan Plate Count Agar (PCA, Merck) besiyerine yüzeye yayma yöntemi ile ekim yapılmış ve 48 saat süre ile 28-30 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından gelişen koloniler sayılmış ve sonuçlar "koloni oluşturan birim" (kob/g) olarak ifade edilmiştir (Scolari ve ark. 2001).

#### **3.2.3.3. Maya ve küf sayımı**

Maya ve küflerin sayımı amacıyla Potato Dextrose Agar (PDA, Merck) besiyeri kullanılmış ve yayma kültürel sayım yöntemi uygulanmıştır. 25 °C'de 5 günlük inkübasyonun ardından gelişen koloniler sayılmıştır. Sonuçlar kob/g olarak ifade edilmiştir (Tournas ve Katsoudas 2008).

### **3.2.4. Aflatoksin analizi**

Aflatoksin analizi, izokratik koşullarda Shimadzu RF-20A model floresans dedektörlü (Shimadzu, Japonya) Shimadzu HPLC sistemi (LC-20 AT, Shimadzu, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.4.1. Aflatoksin analizinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması**

Mobil faz, su/asetonitril/metanol (6:2:3, v:v:v) 350 µl, 4 M nitrik asit (HNO<sub>3</sub>), 120 mg potasyum bromür (KBr) ile hazırlanmış, filtre edilmiş ve ultrasonik banyoda (Wise Clean, Wisd Lab. Inst.) 10 dk bekletilerek gazı giderilmiştir.

Saflaştırma aşamasında kullanılan PBS (Phosphate Buffered Saline) çözeltisi, 0,20 g potasyum klorür (KCl), 0,20 g potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 1,16 g disodyum

hidrojen ortofosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) ve 8 g sodyum klorür (NaCl)'ün 900 ml distile suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. 1 M hidroklorik asit (HCl) kullanılarak pH 7,4'e ayarlanmış ve distile su ile 1 L'ye tamamlanmıştır.

### 3.2.4.2. Aflatoksin'e ait kalibrasyon grafiğinin oluşturulması, alıkonma zamanı, tespit limiti, tayin limiti ve geri alma oranlarının belirlenmesi

Aflatoksin standardı kullanılarak hazırlanan stok çözelti ile farklı konsantrasyonda aflatoksin standart çözeltileri hazırlanmıştır. Aflatoksin konsantrasyonuna karşılık, HPLC kromatogramında elde edilen pik alanları grafiğe geçirilerek aflatoksin kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Örneklerdeki aflatoksin konsantrasyonları da aflatoksin kalibrasyon grafiği kullanılarak LC Solutions paket programı ile hesaplanmıştır.

Tespit limiti (Limit of Detection; LOD) ve tayin limiti (Limit of Quantification; LOQ), metodun standart sapma değerine dayanan hesaplama yöntemi ile hesaplanmıştır (Vial ve Jardy 1999). Hesaplamalarda kullanılan eşitlikler (3.2), (3.3) ve (3.4)'te gösterilmiştir:

$$s_y = \sqrt{\frac{\sum(y-\bar{y})^2}{(n-2)}} \quad (3.2)$$

$$LOD = \frac{s_y}{b} \times 3 \quad (3.3)$$

$$LOQ = \frac{s_y}{b} \times 10 \quad (3.4)$$

$s_y$ : rezidüel standart sapma

$y$ : gerçek  $y$  değeri

$\bar{y}$ : kalibrasyon eğrisine ait formül kullanılarak,  $x$  değerine karşılık hesaplanan  $y$  değeri

$n$ : örnek sayısı

$b$ : kalibrasyon eğrisinin eğimi

Geri alma oranlarını belirlemek amacıyla, bir adet ıhlamur örneği toplam 4 µg/kg ve bir adet kuşburnu örneği toplam 4 µg/kg aflatoksin içerecek şekilde çalışma çözeltisi ile kontamine edilmiştir. Kontamine edilmiş örnekler, **3.2.4.3.** Ekstraksiyon, Filtrasyon ve Saflaştırma bölümünde ayrıntısı açıklanan aşamalardan geçirilmiştir. Elde edilen süzüntüler,

cam viallere alınarak HPLC’de analiz edilmiştir. Geri alma oranları, (3.5)’teki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$Geri\ alma(\%) = \frac{C_{hesaplanan} - C_{örnek}}{C_{teorik}} \times 100 \quad (3.5)$$

$C_{teorik}$  : Eklenen standart miktarı

$C_{hesaplanan}$  : Standart eklenmiş örnek ölçüm sonucu

$C_{örnek}$  : Standart eklenmemiş örnek ölçüm sonucu

### 3.2.4.3. Ekstraksiyon, Filtrasyon ve Saflaştırma

Blenderda (Waring Commercial Laboratory Blender) öğütülmüş ve homojenize edilmiş numuneden hassas terazi (Precisa, XB 220A) ile 50 g tartılmıştır. 300 ml asetonitril/metanol (1:1, v:v) karışımı ve 4 g NaCl eklenmiştir. Whatman no:4 filtre kağıdından süzümüştür. Süzüntünün 3 ml’si pipet yardımıyla bir behere alınarak üzerine 12 ml PBS eklenmiştir. İmmunoaffinite kolon, vakum manifoldu (Supelco Visiprep 57030-U, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Almanya) ve vakum pompası (Isolab GM-0.5, Interlab, Türkiye) kullanılarak 5 ml/dk hızla 10 ml PBS çözeltisi geçirilerek şartlandırılmıştır. 15 ml seyreltilmiş filtrat 3 ml/dk hızla kolondan geçirilmiştir. Ardından 20 ml PBS, 5 ml/dk hızla geçirilerek kolon yıkanmıştır. Aflatoksinler kolondan saniyede 1 damla geçecek şekilde 1 ml metanol ile elue edilmiştir. Kolondan 1 ml saf su geçirilerek toplanmış ve 0,45 µm 25 mm çapında PTFE Syringe filtre kullanılarak süzüldükten sonra cam viallere alınarak HPLC’de analiz edilmiştir. Örnekler analiz edilinceye kadar 4°C’de muhafaza edilmiştir.

### 3.2.4.4. HPLC aşaması

Örneklerdeki aflatoksin miktarı, izokratik koşullarda floresans dedektörlü HPLC sisteminde belirlenmiştir. Enjeksiyon işleminden önce sisteme bağlı olan ve 30 dk süreyle şartlandırılmış olan Kobra Cell (R-Biopharm Rhone Ltd., Glasgow, UK) ile aflatoksinlerin türevlendirilmesi sağlanmıştır. 100 µL örnek direkt olarak HPLC sistemine enjekte (SIL-20ACHT oto enjeksiyon sistemi) edilmiştir. Inertsil (GL Sciences, Inc., CA, ABD) ODS-3 C18 paslanmaz çelik kolon (150 x 4,6 mm, 5 µm) kullanılmıştır. Akış hızı 1,0 mL/dakika olarak ayarlanmıştır. Floresans dedektörü, 360 nm eksitasyon ve 433 nm emisyon dalga boylarına ayarlanmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

### 4.1. Nem Tayini

Ihlamur örnekleri nem miktarları ortalaması %10,97 olarak bulunmuş ve nem değerlerinin %8,69-%15,17 arasında değiştiği belirlenmiştir. Nem tayini yapılan kuşburnu örnekleri nem miktarları %7,89-%24,23 aralığında bulunmuş ve ortalama nem miktarı %14,58 olarak tespit edilmiştir. Analiz örneklerine ait nem ve kuru madde miktarları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

TS 3223 Ihlamur Standardı’nda, çiçek ve çiçek sapı yaprakçıklarından oluşan yapraklı çiçek ihlamurun nem miktarının %11’i geçmemesi gerektiği bildirilmektedir (Uslu 2004). Buna göre, bu çalışmada nem tayini yapılan ihlamur örneklerinin ortalama nem miktarı bu değere yakın olmakla birlikte, bazı örneklerin sahip olduğu nem içeriğinin bu değeri aştığı saptanmıştır.

**Çizelge 4.1.** Ihlamur ve kuşburnu örneklerinin nem miktarları

Örnek No	IHLAMUR	KUŞBURNU
	Nem*	Nem*
1	9,80 ± 0,15 <sup>f,g,h</sup>	16,19 ± 0,14 <sup>e</sup>
2	10,01 ± 0,02 <sup>e,f,g</sup>	24,23 ± 0,28 <sup>a</sup>
3	9,33 ± 0,62 <sup>f,g,h</sup>	19,36 ± 0,18 <sup>b</sup>
4	10,06 ± 0,36 <sup>e,f,g</sup>	16,79 ± 0,28 <sup>d</sup>
5	8,69 ± 0,14 <sup>h</sup>	8,93 ± 0,13 <sup>k</sup>
6	11,05 ± 0,54 <sup>d,e</sup>	9,76 ± 0,28 <sup>j</sup>
7	14,35 ± 0,16 <sup>a,b</sup>	11,90 ± 0,30 <sup>h</sup>
8	10,34 ± 0,96 <sup>e,f</sup>	10,76 ± 0,18 <sup>i</sup>
9	9,16 ± 0,23 <sup>f,g,h</sup>	14,60 ± 0,53 <sup>f,g</sup>
10	15,17 ± 0,58 <sup>a</sup>	7,89 ± 0,09 <sup>l</sup>
11	11,64 ± 0,95 <sup>c,d</sup>	18,50 ± 0,18 <sup>c</sup>
12	12,31 ± 0,78 <sup>c</sup>	14,11 ± 0,19 <sup>g</sup>
13	10,25 ± 0,18 <sup>e,f</sup>	14,89 ± 0,49 <sup>f</sup>
14	13,41 ± 0,12 <sup>b</sup>	12,39 ± 0,15 <sup>h</sup>
15	9,00 ± 0,04 <sup>g,h</sup>	18,48 ± 0,21 <sup>c</sup>

\*Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a,b,c,d,e,f</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak önemli (P < 0,05) fark bulunmaktadır.

Taze kuşburnu meyvelerinin nem miktarı %46,76-79,50 arasında değişmektedir (Demir ve Özcan 2001, Leahu ve ark. 2014). Kuşburnu meyvesinin ince ve sık gözenekli bir zar şeklinde olan dış kabuğunun nem geçişini zorlaştırarak kurumaya karşı direnç gösterdiği bildirilmektedir (Erentürk ve ark. 2006).

Türkben ve ark. (2010) kurutulmuş kuşburnu meyvelerinde nem miktarını %20,77 olarak bulmuştur. Vidović ve ark. (2013) kuşburnu meyvelerinde nem miktarını %7,54-8,31 olarak bildirmiştir. Bu çalışmada kurutulmuş kuşburnu örneklerine ait nem miktarı %7,89-%24,23 arasında değişirken, ortalaması %14,58 olarak hesaplanmıştır. Aradaki farklılığın çevresel etmenler, yetiştirme koşulları, meyvelerin olgunluk düzeyi, kurutma ve depolama şartları gibi faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Türkben ve ark. 2010).

#### **4.2. Su Aktivitesi**

Gıda içerisinde bulunan suyun buhar basıncının, aynı sıcaklıktaki saf suyun buhar basıncına oranı şeklinde tanımlanan su aktivitesi, mikroorganizma faaliyetlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Küfler de diğer mikroorganizmalar gibi çoğalmak ve toksin üretebilmek için belirli su aktivitesi değerlerine ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle küflerin faaliyetlerini önlemek veya kısıtlamak amacıyla yönelik olarak su aktivitesinin kontrol altında tutulması önem kazanmaktadır (Demirci 2012, Anonim 2015a).

Analiz örneklerine ait su aktivitesi değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. Çalışmada incelenen ıhlamur örneklerine ait su aktivitesi değerleri 0,57-0,61 aralığında bulunmuş olup, ortalaması 0,58 olarak belirlenmiştir. Kuşburnu örnekleri incelendiğinde su aktivitesi değerlerinin 0,53-0,76 aralığında olduğu tespit edilmiş ve ortalama su aktivitesi değeri 0,62 olarak hesaplanmıştır.

Özay ve ark. (1993) değişik gıda gruplarını temsil eden örneklerin su aktivitesini belirledikleri çalışmalarında, seçtikleri her gıdadan en az 5, en çok 20 örneği incelemiştir. Çalışma sonucunda incelenen ıhlamur örneklerine ait su aktivitesi değerlerinin 0,583-0,588 aralığında olduğu ve ortalamasının 0,585 olarak bulunduğu bildirilmiştir. Bu çalışma sonucu elde edilen ıhlamur örneklerine ait su aktivitesi değerlerinin, Özay ve ark. (1993) tarafından ortaya konulan veriler ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Dağdelen ve ark. (2014) ülkemizde çay şeklinde sıklıkla tüketildiğini belirttikleri ıhlamur, kuşburnu, adaçayı, papatya ve rezeneye ait ham ve paketlenmiş örneklerin su

aktivitesini raf ömürleri boyunca periyodik olarak ölçmüştür. Ham numunelere ait  $a_w$  değerleri 0,52–0,57 olarak bulunmuş, paketlenmiş numunelerde ise 1. ay 0,422–0,493, 18. ay 0,415–0,449, 36. ay 0,424–0,467 olduğu belirlenmiştir. Kolb (1999) tarafından nane ve papatya örneklerine ait su aktivitesi değerlerinin 0,28-0,66 arasında olduğu bildirilmektedir.

Bu çalışmada elde edilen su aktivitesi değerlerinin Dağdelen ve ark. (2014) tarafından ham bitki çayı numunelerinde belirlenen değerlere ve Kolb (1999) tarafından ortaya konulan sonuçlara yakın olduğu anlaşılmaktadır. Bununla birlikte Dağdelen ve ark. (2014)'nın paketlenmiş örneklerde tespit ettiği değerlerden yüksek olduğu görülmektedir. Bunun sebebinin Dağdelen ve ark. (2014) tarafından ifade edildiği gibi higroskopik özellik gösteren bu türden kurutulmuş bitkisel materyallerin ortam nispi neminden etkilenerek su aktivitesi değerlerinin yükselebilmesi, diğer taraftan paketlenmiş örneklerde ambalaj sayesinde bu riskin azaltılması olduğu düşünülmektedir.

**Çizelge 4.2.** Ihlamur ve kuşburnu örneklerine ait su aktivitesi değerleri

$a_w$ *		
Örnek No	IHLAMUR	KUŞBURNU
1	0,61 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,53 ± 0,00
2	0,60 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,59 ± 0,00
3	0,60 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,76 ± 0,00
4	0,58 ± 0,01 <sup>c,d</sup>	0,60 ± 0,00
5	0,58 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,53 ± 0,00
6	0,57 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,55 ± 0,00
7	0,58 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,59 ± 0,00
8	0,57 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,58 ± 0,00
9	0,58 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,64 ± 0,00
10	0,59 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,56 ± 0,00
11	0,59 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,71 ± 0,00
12	0,58 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,62 ± 0,00
13	0,57 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,66 ± 0,00
14	0,60 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,60 ± 0,00
15	0,57 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,74 ± 0,00

\*Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a,b,c,d</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak önemli ( $P < 0,05$ ) fark bulunmaktadır.

### 4.3. Mikrobiyolojik Analizler

Mikrobiyolojik analizi yapılan ıhlamur örneklerinde maya küf kontaminasyonunun 6 örnekte  $<1,0 \times 10^3$  kob/g, diğer örneklerde ise  $3,0 \times 10^3$ - $1,2 \times 10^5$  kob/g aralığında olduğu tespit edilmiştir. Kolb (1999) tarafından bildirildiğine göre ıhlamur örneklerinde maya düzeyi  $<10^1$ - $10^6$  kob/g, küf düzeyi ise  $10^2$ - $10^5$  kob/g aralığında belirlenmiştir. Arslan (2013) incelediği ıhlamur örneklerinde  $3,3 \times 10^2$ - $5,2 \times 10^3$  kob/g aralığında maya küf tespit ettiğini bildirmiştir. Martins ve ark. (2001a), inceledikleri 13 adet ıhlamur örneğinde ortalama  $10^4$  kob/g maya küf bulunduğunu tespit etmiştir. Araştırmacıların ortaya koyduğu sonuçlar ile bu çalışmada elde edilen sonuçların örtüştüğü görülmektedir.

Kuşburnu örnekleri incelendiğinde maya küf düzeyleri  $<1,0 \times 10^3$ - $3,6 \times 10^5$  kob/g olarak belirlenmiştir. Kaya (2006), marketten temin ettiği poşet kuşburnu çayı örneğinde maya küf düzeyini incelemiş ve sonucu  $<1,0 \times 10^2$  kob/g olarak ifade etmiştir. Arslan (2013) incelediği ambalajlı kuşburnu örneklerinde maya küf seviyesini  $<1,0 \times 10^1$ - $2,1 \times 10^1$  kob/g olarak saptamıştır. Bu çalışmada kuşburnu örneklerinde tespit edilen maya küf düzeyi, Kaya (2006) ve Arslan (2013) tarafından bildirilen sonuçlardan daha yüksektir. Bu durumun, bahsi geçen çalışmalarda incelenen örneklerin ambalajlı olarak temin edilmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada incelenen örneklerde olduğu gibi açıkta satılan bu türden bitkisel materyallerin, Kosalec ve ark. (2009)'nın bildirdiği gibi havada yaygın olarak bulunan küfler ile bulaşma riski artmaktadır. Dağdelen ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışma sonucu elde edilen bulgular bu görüşü destekler niteliktedir. Paketlemenin bazı kalite özellikleri üzerine etkisini belirlemeye yönelik gerçekleştirdikleri çalışmalarında Dağdelen ve ark. (2014), uygun şekilde paketlenmiş ıhlamur ve kuşburnu örneklerinde maya küf düzeyini  $<1,0 \times 10^2$  kob/g olarak belirlemiş, raf ömrü boyunca örneklerde mikrobiyolojik yönden bir değişiklik gözlemlenmediğini bildirmiş ve bu durumu ürünlerin ideal şekilde yapılan paketleme aşamaları ve ambalajlanması ile ilişkilendirmiştir.

İncelenen ıhlamur örneklerinde TMAB sayısının 2 örnekte  $1,0 \times 10^3$  kob/g'dan az olduğu, geriye kalan 13 örnekte ise  $3,9 \times 10^4$ - $4,3 \times 10^6$  kob/g arasında olduğu saptanmıştır. Kaya (2006) yaptığı çalışma sonucu ıhlamurda  $9,8 \times 10^6$  kob/g TMAB tespit etmiştir. Kolb (1999), ıhlamur örneklerinde  $<10^3$ - $10^9$  kob/g düzeyinde TMAB bildirmiştir. ıhlamur örneklerinde TMAB düzeyine yönelik olarak bu çalışma sonucunda elde edilen verilerin, Kolb (1999) ve Kaya (2006)'nın bildirdiği sonuçlar ile yakınlık göstermekte olduğu, bununla birlikte Scolari ve ark. (2001) tarafından ıhlamur örneklerinin TMAB yönünden incelenmesi sonucu ortaya



konulan ortalama  $4,0 \times 10^3$  kob/g değerinden yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Örneklerin menşelerinin farklı olması, yetiştikleri ve temin edildikleri farklı bölgelere bağlı olarak maruz kaldıkları çevresel koşullar, hasat ve sonrasında gördükleri muamele, elle işlenmelerinden kaynaklı bulaşma, hava ve temas ettikleri malzemelerden meydana gelebilecek kontaminasyon gibi faktörlerin bu farklılığa yol açmış olabileceği düşünülmektedir.

Mikrobiyolojik yönden incelenen kuşburnu örneklerinde TMAB düzeyinin, 7 örnekte  $1,0 \times 10^3$  kob/g'dan az olduğu, diğer örneklerde ise  $6,4 \times 10^4$  kob/g'a ulaştığı tespit edilmiştir. Kaya (2006), kuşburnu örneğinde TMAB miktarını  $2,7 \times 10^3$  kob/g olarak belirlediğini bildirmiştir. Bu çalışma sonucunda kuşburnunda TMAB düzeyi belirlenmesine dair elde edilen verilerin Kaya (2006) tarafından ortaya konulan değer ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

İhlamur ve kuşburnu örnekleri karşılaştırıldığında, ihlamur örneklerinin TMAB düzeyinin (ortalama  $6,8 \times 10^5$  kob/g), kuşburnu örneklerine (ortalama  $2,3 \times 10^4$  kob/g) göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Kolb (1999) tarafından bildirildiğine göre, Frank (1989) çay olarak tüketilen bazı bitkisel materyallerde TMAB düzeyini incelemiş ve sonuçların  $10^4$  kob/g ile  $10^7$  kob/g arasında değiştiğini ortaya koymuştur. Kuşburnu ve bamyaya çiçeği gibi asitli ürünlerin nispeten daha düşük TMAB içerdiği, bunun düşük pH değerlerine sahip olmaları nedeniyle beklenen bir durum olduğunu ifade etmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, Gıda Güvenilirliği Kriterleri'nde, bitki çaylarında bulunabilecek maya ve küf düzeyi  $10^5$  kob/g ile sınırlandırılmış olup, TMAB için bir değer belirtilmemiştir (Anonim 2011c). THIE (Tea and Herbal Infusions Europe) ise kurutulmuş bitkisel infüzyon materyalleri için TMAB düzeyini  $\leq 10^8$  kob/g, maya ve küf düzeyini ise  $\leq 10^6$  kob/g olarak belirlemiştir (Anonim 2015b). Bu çalışma sonucu ihlamur ve kuşburnu örneklerinde belirlenen maya küf düzeyinin THIE tarafından belirlenen değerlerin altında olduğu görülmektedir. Örneklerde tespit edilen maya küf düzeyleri dikkate alındığında, örneklerin Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne uygun olduğu anlaşılmaktadır. Türk Gıda Kodeksi'nde bitki çayları için TMAB limiti belirtilmemiş olmakla birlikte, bu çalışmada incelenen örneklere ait TMAB değerlerinin THIE tarafından yapılan sınırlandırmalara uygun olduğu görülmektedir.

İncelenen ihlamur ve kuşburnu örneklerine ait toplam mezofilik aerobik bakteri ile maya küf sayım sonuçları Çizelge 4.3'te verilmiştir.

**Çizelge 4.3.** Ihlamur ve kuşburnu örneklerinin TMAB ve maya küf düzeyi

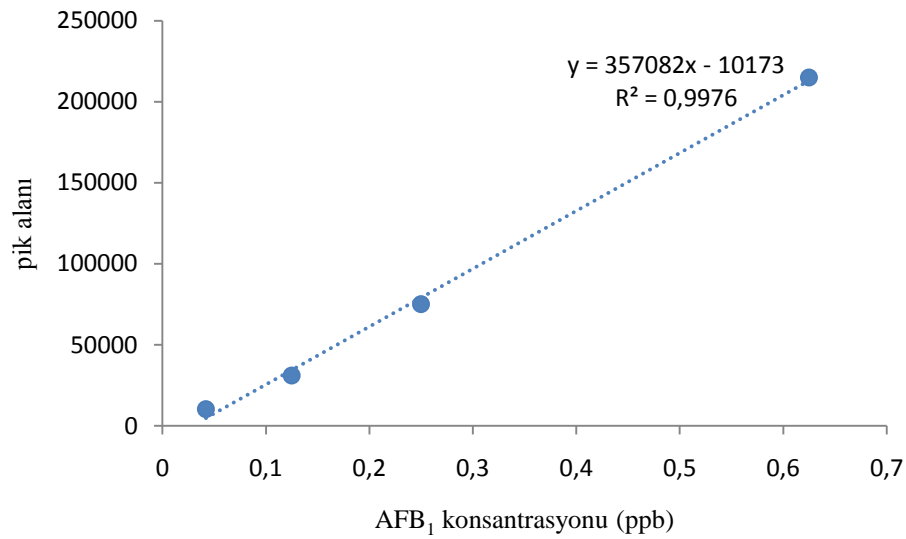
Örnek No	Örnek Türü	TMAB (kob/g)	Maya-Küf (kob/g)
1	Ihlamur	$2,9 \times 10^5$	$7,0 \times 10^3$
2	Ihlamur	$<1,0 \times 10^3$	$<1,0 \times 10^3$
3	Ihlamur	$3,9 \times 10^4$	$5,0 \times 10^3$
4	Ihlamur	$2,5 \times 10^5$	$<1,0 \times 10^3$
5	Ihlamur	$<1,0 \times 10^3$	$<1,0 \times 10^3$
6	Ihlamur	$7,8 \times 10^4$	$5,0 \times 10^3$
7	Ihlamur	$1,2 \times 10^6$	$6,0 \times 10^3$
8	Ihlamur	$4,1 \times 10^5$	$<1,0 \times 10^3$
9	Ihlamur	$7,2 \times 10^4$	$<1,0 \times 10^3$
10	Ihlamur	$6,0 \times 10^3$	$1,2 \times 10^5$
11	Ihlamur	$3,6 \times 10^5$	$1,3 \times 10^4$
12	Ihlamur	$4,3 \times 10^6$	$3,0 \times 10^3$
13	Ihlamur	$1,3 \times 10^5$	$5,6 \times 10^4$
14	Ihlamur	$1,4 \times 10^6$	$2,8 \times 10^4$
15	Ihlamur	$2,1 \times 10^5$	$<1,0 \times 10^3$
1	Kuşburnu	$4,8 \times 10^4$	$<1,0 \times 10^3$
2	Kuşburnu	$<1,0 \times 10^3$	$<1,0 \times 10^3$
3	Kuşburnu	$<1,0 \times 10^3$	$<1,0 \times 10^3$
4	Kuşburnu	$<1,0 \times 10^3$	$6,0 \times 10^3$
5	Kuşburnu	$1,7 \times 10^4$	$<1,0 \times 10^3$
6	Kuşburnu	$6,4 \times 10^4$	$<1,0 \times 10^3$
7	Kuşburnu	$4,0 \times 10^3$	$<1,0 \times 10^3$
8	Kuşburnu	$<1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$
9	Kuşburnu	$7,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$
10	Kuşburnu	$1,0 \times 10^3$	$<1,0 \times 10^3$
11	Kuşburnu	$<1,0 \times 10^3$	$3,6 \times 10^5$
12	Kuşburnu	$<1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$
13	Kuşburnu	$3,6 \times 10^4$	$3,0 \times 10^3$
14	Kuşburnu	$<1,0 \times 10^3$	$<1,0 \times 10^3$
15	Kuşburnu	$4,0 \times 10^3$	$7,0 \times 10^3$

#### 4.4. Aflatoksin Analizi

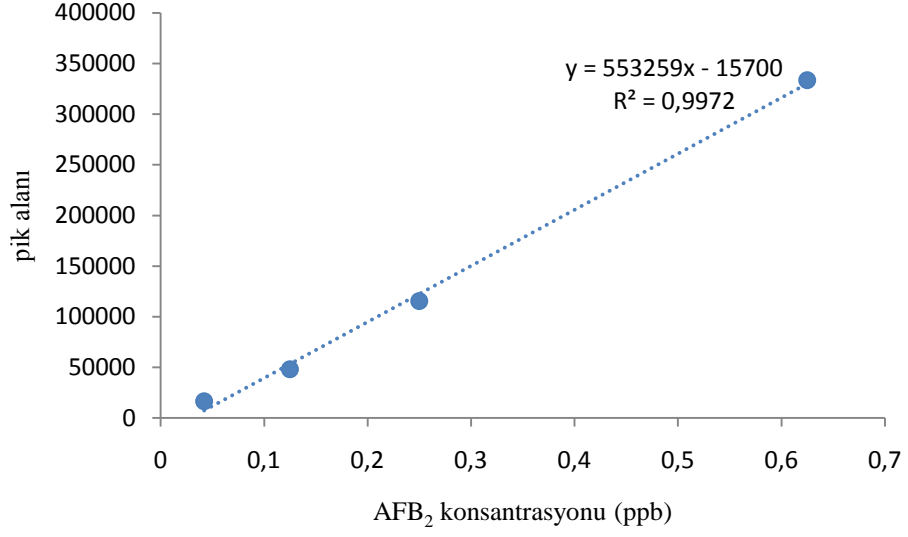
##### 4.4.1. Aflatoksin'e ait kalibrasyon grafiğinin oluşturulması, alıkonma zamanı, tespit limiti, tayin limiti ve geri alma oranlarının belirlenmesi

Kalibrasyon grafiğinin çizilmesi amacıyla değişik konsantrasyonlarda hazırlanan aflatoksin standart çözeltileri HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Kalibrasyonda 0,042, 0,125, 0,250, 0,625 µg/L olmak üzere 4 farklı konsantrasyonda aflatoksin standart çözeltileri kullanılmıştır.

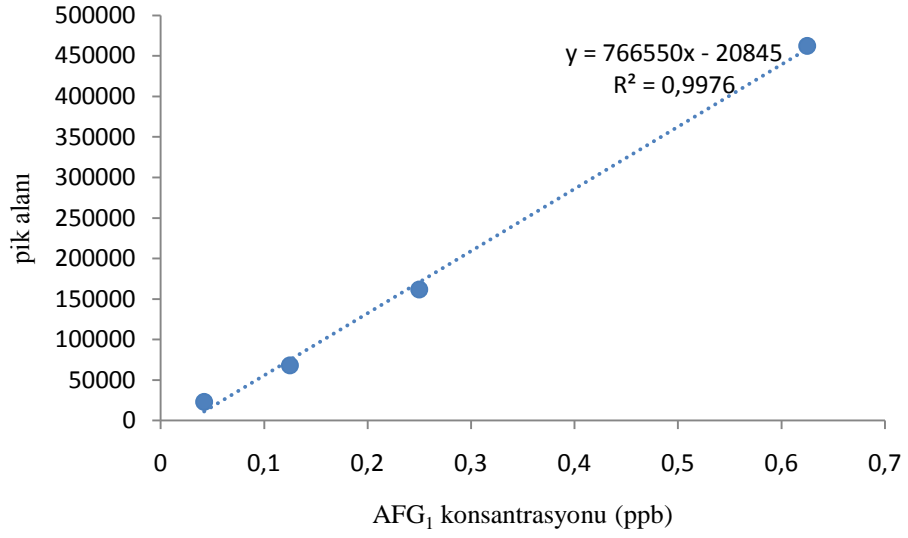
Aflatoksin konsantrasyonuna karşılık, HPLC kromatogramında elde edilen pik alanları grafiğe geçirilerek aflatoksin kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub>'nin kalibrasyon grafikleri Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4'te verilmiştir. Örneklerdeki aflatoksin konsantrasyonlarına ilişkin hesaplamalar aflatoksin kalibrasyon grafiği kullanılarak LC Solutions (Shimadzu, Japonya) paket programı ile gerçekleştirilmiştir.



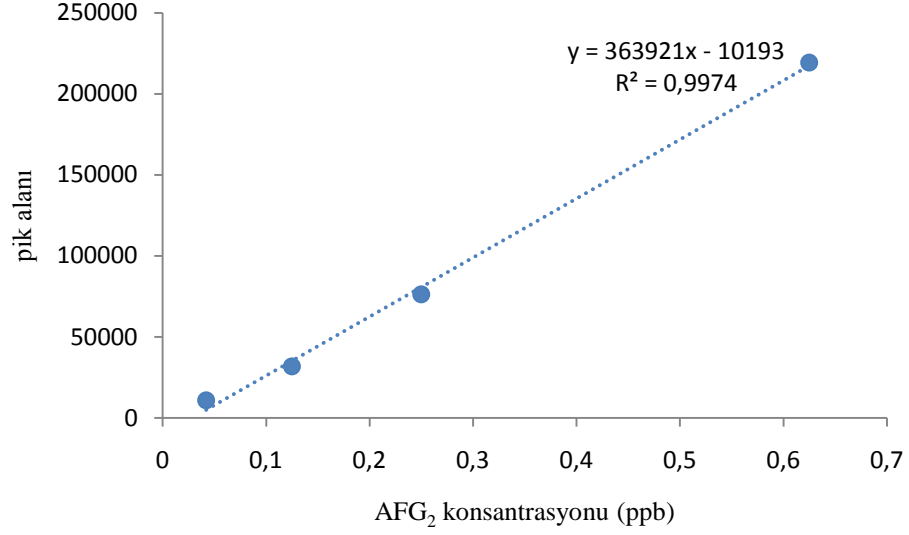
Şekil 4.1. Aflatoksin B<sub>1</sub>'in kalibrasyon grafiği



Şekil 4.2. Aflatoxin B<sub>2</sub>'nin kalibrasyon grafiği

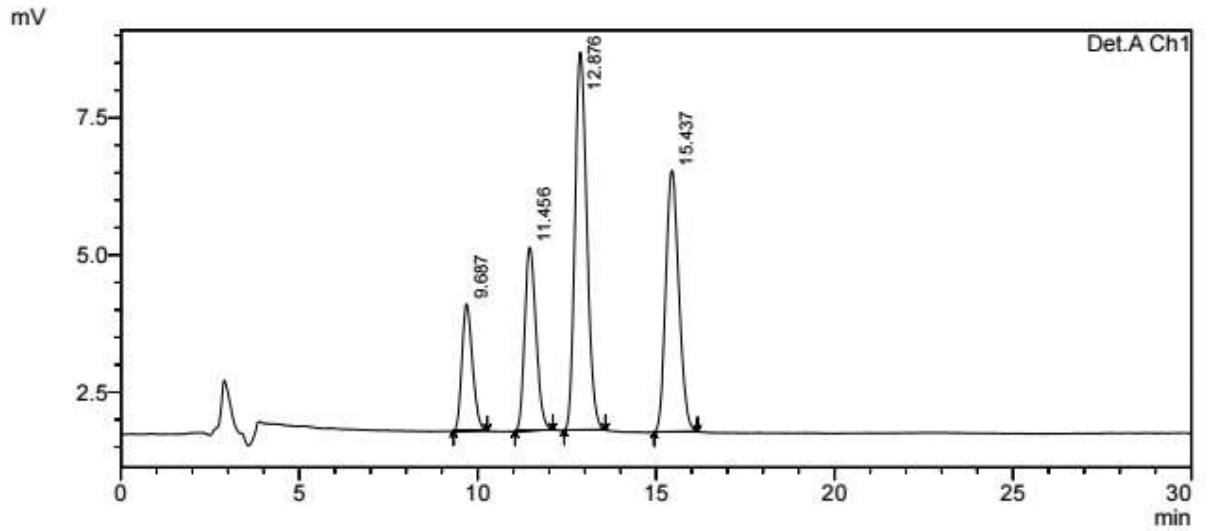


Şekil 4.3. Aflatoxin G<sub>1</sub>'in kalibrasyon grafiği



Şekil 4.4. Aflatoksin G<sub>2</sub>'nin kalibrasyon grafiği

Şekil 4.5'te aflatoksin standardına ait HPLC kromatogramı verilmiştir. Alıkonma zamanları, AFB<sub>1</sub> için 15,5, AFB<sub>2</sub> için 12,9, AFG<sub>1</sub> için 11,5 ve AFG<sub>2</sub> için 9,7 dakika olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.5. Aflatoksin standardına ait kromatogram

Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> için hesaplanan LOD ve LOQ değerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub>'ye ait LOD ve LOQ değerleri

Aflatoksin	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>
<b>LOD</b>	0,046	0,050	0,047	0,049
<b>LOQ</b>	0,155	0,168	0,156	0,162

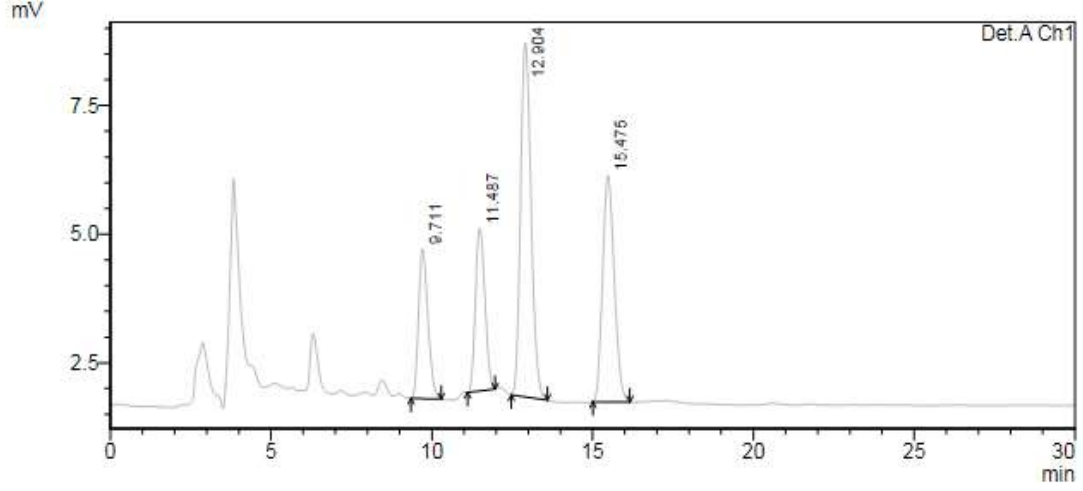
1'er µg/kg aflatoksin G<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>1</sub> içerecek şekilde kontamine edilmiş kuşburnu ve ıhlamur örnekleri ile yapılan geri alma çalışmasına ilişkin sonuçlar Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi 2011/32 no'lu "Gıdalardaki Mikotoksin Limitlerinin Resmi Kontrolü İçin Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği"ne göre, aflatoksin analizlerinde 1-10 µg/kg konsantrasyon aralığı için geri alma oranlarının % 70-110 olması gerekmektedir (Anonim 2011b).

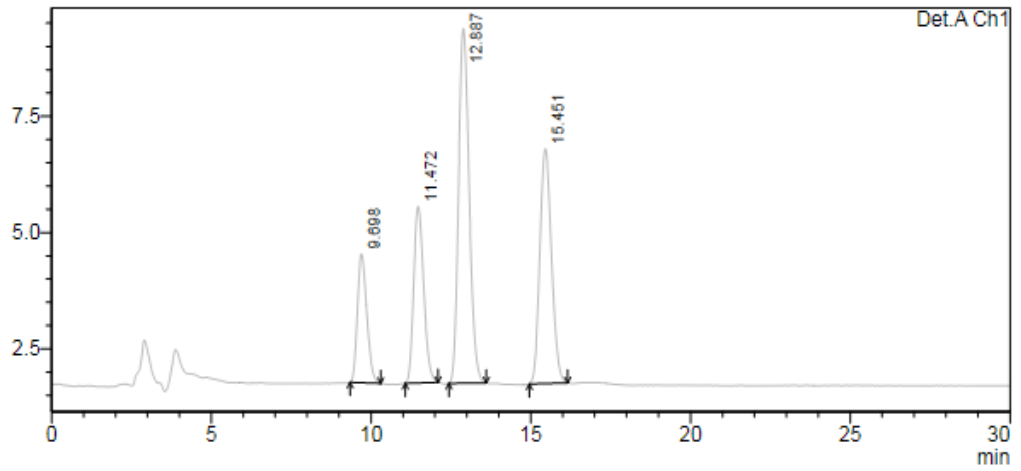
**Çizelge 4.5.** Kuşburnu ve ıhlamur için aflatoksin G<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>1</sub> geri alma oranları

<b>Geri Alma Çalışmasında Kullanılan Örnek</b>	<b>Aflatoksin</b>	<b>Konsantrasyon (µg/kg)</b>	<b>Geri alma oranı (%)</b>
Ihlamur	G <sub>2</sub>	1	71,6
	G <sub>1</sub>	1	90,0
	B <sub>2</sub>	1	101,2
	B <sub>1</sub>	1	100,6
	<b>TOPLAM</b>	<b>4</b>	<b>90,8</b>
Kuşburnu	G <sub>2</sub>	1	81,2
	G <sub>1</sub>	1	98,2
	B <sub>2</sub>	1	108,8
	B <sub>1</sub>	1	109,6
	<b>TOPLAM</b>	<b>4</b>	<b>100,5</b>

Ihlamur ve kuşburnuna ait geri alma çalışması örnek kromatogramları Şekil 4.6'da verilmiştir.



(a)



(b)

Şekil 4.6. Aflatoksin geri alımına ait kromatogramlar; (a) ihlamur, (b) kuşburnu

#### 4.4.2. Örneklerin aflatoksin miktarları

Ihlamur ve kuşburnu örneklerinde HPLC ile yapılan aflatoksin analizi sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir.

**Çizelge 4.6.** Ihlamur ve kuşburnu örneklerine ait aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> aflatoksin değerleri

Örnek No	Örnek Türü	Örneğin Alındığı Yer	AFB <sub>1</sub> (µg/kg) <sup>a,x</sup>	AFB <sub>2</sub> (µg/kg) <sup>a,x</sup>	AFG <sub>1</sub> (µg/kg) <sup>a,x</sup>	AFG <sub>2</sub> (µg/kg) <sup>a,x</sup>
1	Ihlamur	Aktar	TE	TE	TE	>LOD <sup>e</sup>
2	Ihlamur	Market	>LOD <sup>b</sup>	>LOD <sup>c</sup>	TE	>LOD <sup>e</sup>
3	Ihlamur	Aktar	>LOD <sup>b</sup>	TE	>LOD <sup>d</sup>	>LOD <sup>e</sup>
4	Ihlamur	Aktar	TE	TE	TE	>LOD <sup>e</sup>
5	Ihlamur	Aktar	>LOD <sup>b</sup>	>LOD <sup>c</sup>	0,158	0,168
6	Ihlamur	Aktar	TE	TE	TE	>LOD <sup>e</sup>
7	Ihlamur	Pazar	TE	TE	TE	>LOD <sup>e</sup>
8	Ihlamur	Pazar	TE	TE	TE	>LOD <sup>e</sup>
9	Ihlamur	Market	TE	TE	TE	>LOD <sup>e</sup>
10	Ihlamur	Pazar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	>LOD <sup>e</sup>
11	Ihlamur	Market	TE	>LOD <sup>c</sup>	>LOD <sup>d</sup>	>LOD <sup>e</sup>
12	Ihlamur	Pazar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	>LOD <sup>e</sup>
13	Ihlamur	Aktar	>LOD <sup>b</sup>	TE	TE	0,162
14	Ihlamur	Aktar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	>LOD <sup>e</sup>
15	Ihlamur	Aktar	TE	TE	TE	>LOD <sup>e</sup>
1	Kuşburnu	Aktar	TE	TE	TE	>LOD <sup>e</sup>
2	Kuşburnu	Market	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	TE
3	Kuşburnu	Aktar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	TE
4	Kuşburnu	Aktar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	TE
5	Kuşburnu	Aktar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	TE
6	Kuşburnu	Aktar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	TE
7	Kuşburnu	Aktar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	TE
8	Kuşburnu	Aktar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	TE
9	Kuşburnu	Aktar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	TE
10	Kuşburnu	Aktar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	TE
11	Kuşburnu	Aktar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	TE
12	Kuşburnu	Pazar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	TE
13	Kuşburnu	Aktar	TE	>LOD <sup>c</sup>	>LOD <sup>d</sup>	TE
14	Kuşburnu	Aktar	TE	TE	>LOD <sup>d</sup>	TE
15	Kuşburnu	Aktar	TE	>LOD <sup>c</sup>	>LOD <sup>d</sup>	TE

<sup>x</sup> Sonuçlar, iki paralel analiz sonucunun ortalamasını ifade etmektedir.

<sup>a</sup> TE, tespit edilemedi; miktar LOD değerinden küçük

<sup>b</sup> Miktar LOD (0,046) değerinden büyük, LOQ (0,155) değerinden küçük

<sup>c</sup> Miktar LOD (0,050) değerinden büyük, LOQ (0,168) değerinden küçük

<sup>d</sup> Miktar LOD (0,047) değerinden büyük, LOQ (0,156) değerinden küçük

<sup>e</sup> Miktar LOD (0,049) değerinden büyük, LOQ (0,162) değerinden küçük



İhlamur örnekleri incelendiğinde, 4 örnekte AFB<sub>1</sub>, 3 örnekte AFB<sub>2</sub>, 6 örnekte AFG<sub>1</sub>, tamamında AFG<sub>2</sub> tespit edilmiştir. Kuşburnu örneklerinde AFB<sub>1</sub> tespit edilememiş, 2 örnekte AFB<sub>2</sub>, 14 örnekte AFG<sub>1</sub>, 1 örnekte AFG<sub>2</sub> saptanmıştır. Yalnızca 1 adet ihlamur örneğinin incelenen 4 aflatoksini de içerdiği belirlenmiştir. İhlamur ve kuşburnu örneklerinin tamamının, AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub>'den en az biri ile kontamine olduğu tespit edilmiştir.

Ülkemizde gıdalarda bulunabilecek aflatoksinlerin maksimum limitleri ile ilgili yasal düzenleme “Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği”nde yer almaktadır. Buna göre, maksimum limitler, kurutulmuş meyvelerde, aflatoksin B<sub>1</sub> için 8,0 µg/kg, toplam aflatoksin (B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+G<sub>1</sub>+G<sub>2</sub>) için 10,0 µg/kg, bazı baharatlarda aflatoksin B<sub>1</sub> için 5,0 µg/kg, toplam aflatoksin için 10 µg/kg olarak belirlenmiş olup, bitki çayları için herhangi bir düzenleme mevcut değildir (Anonim 2011a). Bu çalışmada incelenen ihlamur ve kuşburnu örneklerine ait aflatoksin düzeylerinin, kurutulmuş meyveler ve baharatlar için belirlenen yasal sınırları aşmadığı belirlenmiştir.

Çalışmada incelenen ihlamur örneklerinin %47'sinde yalnızca AFG<sub>2</sub> ve kuşburnu örneklerinin %87'sinde yalnızca AFG<sub>1</sub> veya AFG<sub>2</sub> tespit edilmiştir. Bu durum, Hiscocks (1965) tarafından bildirildiğine göre bazı *Aspergillus flavus* izolatlarının yalnızca G grubu aflatoksinleri üretmesi ile ilişkili olabilir.

Romagnoli ve ark. (2007), kuşburnunun da aralarında yer aldığı tıbbi bitki ve bitki çayları ile bazı baharatların aflatoksin düzeylerini HPLC ile incelemiş ve kuşburnu örneklerinde AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> tespit etmediklerini bildirmiştir. Dağdelen ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada ihlamur ve kuşburnu örneklerinde AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub> varlığı araştırılmıştır. Raf ömürleri boyunca belirli aralıklarla HPLC ile analiz edilen örneklerde aflatoksin saptanmamıştır. Halt (1998), bitki çaylarında mikotoksijenik küf ve mikotoksin varlığını incelemek üzere gerçekleştirdiği çalışmasında, TLC ile analiz ettiği 2 adet ihlamur örneğinde AFB<sub>1</sub> tespit etmediğini ortaya koymuştur. Mısır'da yapılan bir çalışmada Abou-Arab ve ark. (1999), ihlamurun da aralarında bulunduğu bazı tıbbi bitkilerde AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> varlığını araştırmıştır. Çalışma kapsamında incelenen 2'si ambalajlı olmak üzere 4 adet ihlamur örneğinde aflatoksin bulunmadığı bildirilmiştir.

Diğer taraftan Rizzo ve ark. (1998) incelediği ihlamur örneklerinde AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub> tespit etmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada Arslan (2013) incelediği 5 ihlamur örneğinin 2'sinde AFB<sub>1</sub> tespit edememiş, diğer 3 örnekte ise 0,051-1,329-40,647 µg/kg düzeyinde

olduğunu belirlemiştir. İncelediği 6 adet kuşburnu örneğinin 4 tanesinde AFB<sub>1</sub> saptanmış olup, miktarın 20,695-52,500 µg/kg aralığında olduğunu bildirmiştir. Arslan (2013) tarafından incelenen 4 adet kuşburnu ve 1 adet ıhlamur örneğinde saptanan AFB<sub>1</sub> miktarının bu çalışmadan farklı olarak yasal limitleri aştığı saptanmıştır.

Aflatoksin oluşumu üzerine etkili birçok faktör bulunmaktadır. Ürünün nemi, kurutma hızı, ortam bağıl nemi, sıcaklık, ortamdaki küf ve sporlarının miktarı ile gelişen türlerin toksin oluşturma yetenekleri, mikroorganizmalar arası rekabet, böcek vb. zararlıların faaliyeti, bitki stresi, atmosferdeki gazların bileşimi bunlardan bazılarıdır. Diğer faktörler optimumdan uzaklaştıkça aflatoksinlerin üretildiği sıcaklık aralığı daralmakta, sıcaklık optimumdan uzaklaştıkça gerekli minimum su aktivitesi değeri artmaktadır (Çoksöyler 1999).

Önemli aflatoksin üretici türlerin dahil olduğu *Aspergillus* cinsine ait küflerin düşük su aktivitesinde dahi gelişme yeteneğine sahip olmaları nedeniyle, bu küflerin gelişmesi ve toksin üretmesinin engellenmesi etkili ve hızlı bir kurutma işleminin yanı sıra depolama koşulları ile de yakından ilgilidir. Depolama boyunca, hava sirkülasyonu sağlanan deponun sıcaklığı ve bağıl nemi kontrol altında tutularak, ürünün nem içeriğinin yükselmesinin önüne geçilebilmektedir. Aflatoksijenik küflerin toprak ve havada yaygın şekilde bulunması nedeniyle hasattan önce kontaminasyonun önlenmesi güç olmakla birlikte, kurutma ve depolama aşamalarına gelmeden önce alınabilecek tedbirler de bulunmaktadır. Nemli ve soğuk havada hasattan kaçınmak, hasattan sonra bitkisel materyal ile toprak arasındaki teması önlemek, böcek vb. canlıların vereceği fiziksel zararı engellemek, yığınlar halinde bekletmekten kaçınmak bunlardan bazılarıdır (Heperkan 2006, Stević ve ark. 2012).

Çalışmada incelenen örneklerde düşük düzeyde de olsa aflatoksin tespit edilmesi, bu örneklerde gelişen toksijenik küflerin bir miktar toksin üretmesi fakat kurutma ile toksin üretimi için gerekli koşulların ortadan kaldırılması ve toksin üretiminin durmuş olmasının, ayrıca depolama sırasında da toksin üretimine elverişli koşulların oluşmasının engellenmiş olmasının bir sonucu olabileceği düşünülmektedir.

Diğer taraftan ıhlamur ve kuşburnunun çeşitli kısımlarının, bazı mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyel etkisi bulunduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda çoğunlukla bazı bakteriler üzerine yoğunlaşmış olup, bakteriler üzerindeki etkinin funguslar üzerindeki etkiden daha güçlü olduğu ortaya konmuştur (Omar ve ark. 2000, Fitsiou ve ark. 2007, Albayrak ve ark. 2012, Olech ve ark. 2012, Özbucak ve ark. 2013, Kačaniová ve ark.

2015, Rovná ve ark. 2015). Bu bitkilerin, aflatoksijenik küflerin gelişmesi veya toksin oluşturması üzerinde benzer bir etkileri olup olmadığına ilişkin yapılmış bir çalışmaya ise rastlanmamıştır.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Dünya çapında artan kullanımları ve büyüyen küresel tıbbi bitkiler pazarındaki yerleri dikkate alındığında bitki çaylarının güvenilirliğinin ne kadar önemli olduğu ortaya çıkmaktadır. Bu türden bitkisel materyallerin gerek kimyasal gerek biyolojik çeşitli kirliliklere maruz kaldığı bilinmektedir. Bu kirliliklerin arasında mikroorganizmalar önemli bir yere sahiptir. Bitki çaylarının patojen bakterilerin yanı sıra toksijenik küfler ile de kontamine olabildiği ve küflerin uygun şartlarda bu ürünlerde gelişerek insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri bulunan mikotoksinleri meydana getirdiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Aflatoksinler ısıya dayanıklı olduklarından dolayı, bitki çaylarının hazırlanması sırasında kullanılan kaynatma gibi ısı uygulamalarının aflatoksinlerin parçalanması üzerinde etkisi bulunmamakta ve kontamine bitki çaylarının tüketilmesi sonucu aflatoksinler organizmaya alınmaktadır. Bebek, çocuk ve yaşlıların yanı sıra hastalar tarafından da sıklıkla tüketilen, çoğu zaman da sağlığı korumak ve çeşitli rahatsızlıkları gidermek amacıyla tercih edilen bitki çaylarının mikotoksinlerle, özellikle kanserojen, mutajen, teratojen ve immunosupresif etkileri olduğu bilinen aflatoksinler ile bulaşmış olması halk sağlığı açısından tehlike yaratmaktadır.

Bu çalışmada, Tekirdağ'daki aktar, pazar ve marketlerde satışa sunulan ıhlamur ve kuşburnu çaylarında aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> varlığı incelenmiş, maya küf ve toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı yapılmış ve nem tayini ile su aktivitesi tayini gerçekleştirilmiştir.

İncelenen örneklerin tamamında aflatoksin tespit edilmiştir. Bununla birlikte söz konusu örneklerin içerdiği aflatoksin miktarının Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde bazı gıdalar için belirlenen limitleri aşmadığı saptanmıştır.

Örneklerde maya küf ve toplam mezofilik aerobik bakteri düzeyinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen kültürel sayım sonucu, örneklerin bir kısmının değişen miktarlarda maya küf ve toplam mezofilik aerobik bakteri ile kontamine olduğu görülmüştür. Ancak tespit edilen maya küf ve toplam mezofilik aerobik bakteri düzeyi göz önüne alındığında örneklerin Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği ve THIE tarafından yapılan düzenlemelere uygun olduğu belirlenmiştir.

Küflerden kaynaklanan mikotoksin riskinin yanında bitki çaylarında bakterilerin varlığı da potansiyel bir tehdit unsurudur. Bunun sebebi termal direnç gösteren bazı

bakterilerin çayların sıcak su ile hazırlanmasından sonra da gelişmelerini sürdürebilmesidir. Mikrobiyolojik kontaminasyonun beraberinde getirdiği bu gibi riskleri ortadan kaldırmak amacıyla alınacak tedbirler önem taşımaktadır.

Bu amaca yönelik olarak öncelikle yapılması gereken, bitki çaylarında üretimin her aşamasını kontrol altında tutmak ve iyi üretim uygulamaları ile iyi hijyen uygulamalarına bağlı kalmaktır. Bitki çaylarında toksijenik küflerin gelişiminin ve aflatoksin kontaminasyonunun önlenmesinde özellikle kurutma ve depolama koşullarının önemi yadsınamayacağından, bu aşamalara gereken hassasiyet gösterilmelidir.

Diğer taraftan çeşitli yollarla aflatoksinlerin dekontaminasyonu üzerine yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Kontaminasyonun önüne geçilemediği ve aflatoksin varlığının tespit edildiği durumlarda uygun bir yöntem seçilerek aflatoksinin uzaklaştırılması yoluna gidilebilir.

Ülkemizde, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü tarafından hazırlanan Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğinde bazı gıdalarda bulunabilecek maksimum mikotoksin miktarları belirlenmiştir. Ancak çay ve bitki çaylarında, mikotoksinlerin maksimum limitlerine ilişkin bir sınırlama bulunmamaktadır. Birçok mikotoksinin çay ve bitki çaylarında çeşitli seviyelerde bulunabileceğini yapılan çalışmaların ortaya koyduğu göz önüne alındığında, bu ürünlerde mikotoksinlerin maksimum seviyelerine ilişkin düzenlemelere ihtiyaç duyulduğu anlaşılmaktadır.

Yapılan bu çalışmada örneklerde, diğer gıdalar için belirlenmiş yasal limitlerin üzerinde aflatoksin tespit edilmemiş olmakla birlikte, bu çalışmaya da konu olan ıhlamur ve kuşburnunun da aralarında yer aldığı bitki çaylarının toksijenik küf ve aflatoksinin yanı sıra diğer mikotoksinler ile kontamine olduğunu gösteren çalışmalar mevcut olup, ülkemizde bunlarla ilgili yapılmış çalışma sayısı ise sınırlıdır. Bu nedenle, bu ürünlerde toksijenik küf kontaminasyonu, mikotoksin varlığı, bulaşmanın hangi aşamalarda meydana geldiği ve nasıl önlenebileceği, dekontaminasyon yolları gibi alanlarda yapılacak ayrıntılı çalışmaların konuya farklı bir yaklaşım sunabileceği düşünülmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Abou Donia MA (2008). Microbiological Quality and Aflatoxinogenesis of Egyptian Spices and Medicinal Plants. *Global Veterinaria*, 2 (4): 175-181.
- Abou-Arab AAK, Kawther MS, El Tantawy ME, Badeaa Rİ, Khayria N (1999). Quantity Estimation of Some Contaminants in Commonly Used Medicinal Plants in the Egyptian Market. *Food Chemistry*, 67: 357-363.
- Acar J, Demir N (2001). Kuşburnu Çayları. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 11: 17-20.
- Adams MR, Moss MO (2007). *Food Microbiology*, Third Edition. Royal Society of Chemistry, 478 p, UK.
- Akgül A, Ünver A (2001). Bitkisel Çaylar. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, (11): 21-34.
- Aksoy U (1990). Aflatoksin. Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi, Yayın Bülteni, Y-2.
- Albayrak S, Aksoy A, Sağdıç O, Albayrak S (2012). Antioxidant and Antimicrobial Activities of Different Extracts of Some Medicinal Herbs Consumed as Tea and Spices in Turkey. *Journal of Food Biochemistry*, 36: 547-554.
- Alterman T (2013). Drying Herbs: Easier Than You Think. *Techniques Real Food*, <http://www.motherearthnews.com/real-food/drying/drying-herbs-zm0z13fmzmat.aspx?PageId=1> (erişim tarihi: 05.01.2016).
- Angelov G, Boyadzhieva SS, Georgieva SS (2014). Rosehip Extraction: Process Optimization and Antioxidant Capacity of Extracts. *Cent. Eur. J. Chem.*, 12 (4): 502-508.
- Anonim (1990). Selected Mycotoxins: Ochratoxins, Trichothecenes, Ergot. World Health Organization, [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39552/1/9241571055\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39552/1/9241571055_eng.pdf) (erişim tarihi: 18.02.2016).
- Anonim (2000). AOAC Official Method 987.18, 42:1.
- Anonim (2002). Aflatoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol82/mono82-7A.pdf> (erişim tarihi: 10.01.2016).
- Anonim (2005). Herbal Teas. European Pharmacopoeia 5.0 (01/2005:1435). [http://library.njucm.edu.cn/yaodian/ep/EP501E/06\\_general\\_monographs/immunosera\\_for\\_human\\_use\\_animal/0084e.pdf](http://library.njucm.edu.cn/yaodian/ep/EP501E/06_general_monographs/immunosera_for_human_use_animal/0084e.pdf) (erişim tarihi: 08.02.2016).
- Anonim (2010). Amending Regulation (EC) No 1881/2006 Setting Maximum Levels for Certain Contaminants in Foodstuffs as Regards Aflatoxins. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010R0165> (erişim tarihi: 19.01.2016).
- Anonim (2011a). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği, Gıdalardaki Bulaşanların Maksimum Limitleri. Resmi Gazete: 29.12.2011/28157 (3. Mükerrer).
- Anonim (2011b). Türk Gıda Kodeksi Gıdalardaki Mikotoksin Limitlerinin Resmi Kontrolü İçin Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği (Tebliğ No: 2011/32). Resmi Gazete: 15.08.2011/ 28026.
- Anonim (2011c). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. Resmi Gazete: 29.12.2011/ 28157 (3. Mükerrer).

- Anonim (2012). Assessment Report on *Tilia tomentosa* Moench, Flos. European Medicines Agency, [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Herbal\\_-\\_HMPC\\_assessment\\_report/2012/07/WC500129844.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_HMPC_assessment_report/2012/07/WC500129844.pdf) (erişim tarihi: 13.03.2016).
- Anonim (2014). Yemlerde İstenmeyen Maddelerin Kabul Edilebilir En Çok Miktarları. Yemlerde İstenmeyen Maddeler Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2014/11). Resmi Gazete: 19.04.2014/ 28977.
- Anonim (2015a). Reflection Paper On Microbiological Aspects of Herbal Medicinal Products and Traditional Herbal Medicinal Products. European Medicines Agency, [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2015/06/WC500187592.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/06/WC500187592.pdf) (erişim tarihi: 22.03.2016).
- Anonim (2015b). THIE's Recommended Microbiological Specification for Trade in Herbal Infusions Raw Materials (Dry). Tea and Herbal Infusions Europe, [http://www.thie-online.eu/fileadmin/inhalte/Publications/HFI/4\\_2015-06-30\\_THIE\\_Recommended\\_microbiological\\_specifications.pdf](http://www.thie-online.eu/fileadmin/inhalte/Publications/HFI/4_2015-06-30_THIE_Recommended_microbiological_specifications.pdf) (erişim tarihi: 03.04.2015).
- Anonim (2016a). RASFF - Food and Feed Safety Alerts. [http://ec.europa.eu/food/safety/rasff/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/safety/rasff/index_en.htm) (erişim tarihi: 05.04.2016).
- Anonim (2016b). <http://www.mycotoxins.org/> (erişim tarihi: 19.01.2016).
- Araújo MGF, Bauab TM (2012). Microbial Quality of Medicinal Plant Materials. Latest Research into Quality Control, ed: Işın Akyar. InTech, 67-81.
- Araz N, Bülbül S (2011). Use of Complementary and Alternative Medicine in a Pediatric Population in Southern Turkey. Clin Invest Med, 34 (1): E21-E29.
- Arık K (2011). Kuşburnu (*Rosa canina*) Petallerinin Genel Ekstraktının ve Esansiyel Yağlarının Antimikrobiyel Aktivitelerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Arslan R (2013). Türkiye'de Üretilen Bazı Organik Baharat ve Bitkisel Çayların Aflatoksin B<sub>1</sub> Düzeyleri ve Mikrobiyolojik Kalitesinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.
- Ashiq S, Hussain M, Ahmad B (2014). Natural Occurrence of Mycotoxins in Medicinal Plants: A review. Fungal Genetics and Biology, 66: 1-10.
- Aslan S (2014). Birinci Basamakta Erişkinlerin Soğuk Algınlığında Kullandıkları Geleneksel Yöntemlerin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Denizli.
- Atoui AK, Mansouri A, Boskou G, Kefalas P (2005). Tea and Herbal Infusions: Their Antioxidant Activity and Phenolic Profile. Food Chemistry, 89: 27-36.
- Aydın N (2007). Hayvan Sağlığında Mikotoksinler ve Mikotoksikozisler. İnfeksiyon Dergisi, 21: 37-46.
- Aydın S, Bozkaya AO, Mazıcıoğlu M, Gemalmaz A, Özçakır A, Öztürk A (2008). What Influences Herbal Medicine Use?-Prevalence and Related Factors. Turk J. Med. Sci., 38 (5): 455-463.
- Aydın S, Öztürk Y, Başer KHC, Kırimer N, Kurtaröztürk N (1992). Effects of *Alcea pallida* L. (A.) and *Tilia argentea* Desf. ex DC Infusions on Swimming Performance in Mice. Phytotherapy Research, 6 (4): 219-220.

- Balta F, Çam İ (1996). Gevaş ve Ahalat Yörelereinden Seçilen Kuşburnu Tiplerinin Bazı Meyve Özellikleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 6 (1): 155-160.
- Bayram E, Kırıcı S, Tansı S, Yılmaz G, Arabacı O, Kızıl S, Telci İ (2010). Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Artırılması Olanakları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, 437-456, Ankara.
- Bayramoğlu MM, Toksoy D, Şen G (2009). Türkiye’de Tıbbi Bitki Ticareti. II. Ormancılıkta Sosyo-Ekonomik Sorunlar Kongresi, 89-98, Isparta.
- Blesa J, Soriano JM, Moltó JC, Marín R, Mañes J (2003). Determination of Aflatoxins in Peanuts by Matrix Solid-Phase Dispersion and Liquid Chromatography. Journal of Chromatography A, 1011: 49-54.
- Bokhari F, Aly MM (2012). Unexpected Hazard Due to Fuminaisin Toxin Contaminating Herbal Teas in Saudi Arabia Fardos. Toxicol, 60: 95–248.
- Böhm V, Fröhlich K, Bitsch R (2003). Rosehip - a ‘‘New’’ Source of Lycopene? Molecular Aspects of Medicine, 24: 385-389.
- Cemeroğlu B (2010). Gıda Analizlerinde Genel Yöntemler. Gıda Analizleri, Genişletilmiş 2. baskı, ed: Bekir Cemeroğlu. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:34, Ankara, 1-85.
- Chen G, Mujumdar AS (2006). Drying of Herbal Medicines and Tea, Third Edition. Handbook of Industrial Drying, ed: Arun S. Mujumdar. CRC Press, 635-646.
- Christensen CM (1975). Molds, Mushrooms and Mycotoxins. University of Minnesota Press, 277 p, USA.
- Çelik S (2001). Karaciğer Karsinojeni Olan Aflatoksinlerin Biyokimyasal, Histolojik Etkileri ve Sağaltım Seçenekleri. J. Fac. Vet. Med., 20: 131-136.
- Çifçi H (2013). Türkiye Kuru İncir İhracatı ve AB'ne İhraç Edilen Kuru İncirlerde Aflatoksin Sorununun Değerlendirilmesi: İzmir İli Örneği.  
<http://www.gidabilimi.com/index.php/tr/makaleler-1/3070-kuru-incirlerde-aflatoksin-sorununun-degerlendirilmesi> (erişim tarihi: 05.04.2016).
- Çoksöyler N, Özkaya Ş, Boncuk H (1992). Türkiye’de Gıdalarda Yaygın Olarak Görülen Funguslar ve Bunların Mikotoksin Oluşturma Durumları Üzerine Araştırmalar. Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi, 3: 48-50.
- Çoksöyler N (1999). Farklı Yöntemlerle Kurutulan Kırmızıbiberlerde *Aspergillus flavus* Gelişimi ve Aflatoksin Oluşumunun İncelenmesi. Gıda, 25 (4): 297-306.
- D’Mello JPF, Macdonald AMC (1997). Mycotoxins. Animal Feed Science Technology, 69: 155-166.
- Dağdelen AF, Aşyemez AÜ, Tokat İE, Cumbul D, Dağdelen A (2014). Mikrobiyolojik ve Aflatoksin Yönünden Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkiler ve Çaylarının İncelenmesi. II. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, 191-196, Yalova.
- Daradimos E, Marcaki P, Michael K (2000). Evaluation and Validation of Two Fluorometric HPLC Methods for the Determination of Aflatoxin B<sub>1</sub> in Olive Oil. Food Additives and Contaminants, 17 (1): 65-73.
- Deliorman Orhan D, Hartevioğlu A, Küpeli E, Yeşilada E (2007). *In Vivo* Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activity of The Crude Extract and Fractions from *Rosa canina* L. Fruits. Journal of Ethnopharmacology, 112: 394-400.



- Deliorman Orhan D, Hartevioğlu A (2013). Kuşburnu Bitkisinin Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Aktiviteleri. *Spatula DD*, 3 (1): 23-30.
- Demir D (2003), Türkiye’de Doğal Yetişen Ihlamur (*Tilia L*) Taksonlarının Morfolojik ve Palinolojik Özellikleri. İÜ Fen Bilimleri, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul. Alınmıştır: Korkusuz EE, Dirik H (2011). Gümüşi Ihlamur’un (*Tilia tomentosa* Moench) Fenolojisi, Çiçek Özellikleri ve Yararlanma Esasları. 2. Uluslararası Odun Dışı Orman Ürünleri, 201-208, Isparta.
- Demir F, Özcan M (2001). Chemical and Technological Properties of Rose (*Rosa canina L.*) Fruits Grown Wild in Turkey. *Journal of Food Engineering*, 47: 333-336.
- Demir N, Yıldız O, Alpaslan M, Hayaloğlu AA (2014). Evaluation of Volatiles, Phenolic Compounds and Antioxidant Activities of Rose Hip (*Rosa L.*) Fruits in Turkey. *LWT-Food Science and Technology*, 57: 126-133.
- Demirci M (2011). Beslenme, 5. baskı. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No:44, 370 s, Tekirdağ.
- Demirci M (2012). Gıda Kimyası, Yenilenmiş 6. baskı. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 40, 292 s, İstanbul.
- Denning DW Quiapo SC, Altman DG, Makarananda K, Neal GE, Camallere EL, Morgan MR, Tupasi TE (1995). Aflatoxin and Outcome from Acute Lower Respiratory Infection in Children in the Philippines. *Annals of Tropical Paediatrics*, 15: 209-216.
- Diener UL, Davis ND (1969). Aflatoxin Formation by *Aspergillus flavus*. Aflatoxin Scientific Background, Control and Implications, ed: Leo A Goldblatt. Food Science and Technology, USA, 13-54.
- Duru S, Özgüneş H (1984). Mikotoksinlerin İnsan ve Hayvan Sağlığı Açısından Önemi. *Gıda*, (9) 6: 341-349.
- El-Shobaki FA, Saleh ZA, Saleh N (1990). The Effect of Some Beverage Extracts on Intestinal Iron Absorption. *Zeitschrift fur Ernährungswissenschaft*, 29 (4): 264-269.
- Ercişli S (2007). Chemical Composition of Fruits in Some Rose (*Rosa Spp.*) Species. *Food Chemistry* 104: 1379-1384.
- Erentürk S, Gülaboğlu MŞ, Gültekin S (2006). Konvektif Tip Kurutucuda Kurutulan Kuşburnu Meyvesinin Etkin Nem Difüzyon Katsayıları. Yedinci Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, Eskişehir.
- Erginkaya Z, Kabak B (2010). Fırsatçı Patojenler, Küfler, Parazitler, Virüsler, Prionlar ve Alg Toksinleri. *Gıda Mikrobiyolojisi*, ed: Osman Erkmn. Eflatun Basım, Ankara, 183-203.
- Erzurum K (2001). Gıdalarda Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler. *Gıda*, 26 (4): 289-293.
- Faydaoğlu E, Sürücüoğlu MS (2011). Geçmisten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Kastamonu Üni. Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1): 52-67.
- Fidan MS, Öz A, Adanur H, Turan B (2013). Gümüşhane Yöresinde Yetişen Bazı Önemli Odun Dışı Orman Ürünleri ve Kullanım Miktarları. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3 (2): 40-48.

- Fitsiou I, Tzakou O (2007). Volatile Constituents and Antimicrobial Activity of *Tilia tomentosa* Moench and *Tilia cordata* Miller Oils. J. Essent. Oil Res., 19: 183-185.
- Frank B (1989). Mikroorganismen in Drogen. Deutsche Apotheker Zeitung, 13: 617-623.  
Alınmıştır: Kolb N (1999). Microbiological Status of Untreated Herbal Materials. Deutsche Lebensmittel Rundschau, 95 (7): 263-268.
- Giray B, Girgin G, Engin AB, Aydın S, Şahin G (2007). Aflatoxin Levels in Wheat Samples Consumed in Some Regions of Turkey. Food Control, 18: 23-29.
- Girgin G, Başaran N, Şahin G (2001). Dünyada ve Türkiye’de İnsan Sağlığını Tehdit Eden Mikotoksinler. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 58 (3): 97-118.
- Goldblatt LA (1969). Introduction. Aflatoxin Scientific Background, Control and Implications, ed: Leo A Goldblatt. Food Science and Technology, USA, 1-12.
- Gürbüz İ, Üstün O, Yeşilada E, Sezik E, Kutsal O (2003). Anti-Ulcerogenic Activity of Some Plants Used as Folk Remedy in Turkey. Journal of Ethnopharmacology, 88: 93-97.
- Haas D, Pfeifer B, Reiterich C, Partenheimer R, Reck B, Buzina W (2013). Identification and Quantification of Fungi and Mycotoxins from Pu-erh Tea. International Journal of Food Microbiology, 166: 316–322.
- Halt M (1998). Moulds and Mycotoxins in Herb Tea and Medicinal Plants, European Journal of Epidemiology, 14: 269-274.
- Heperkan D (2006). Detecting and Controlling Mycotoxin Contamination of Herbs and Spices. Handbook of Herb and Spices, Volume 3, ed: K. V. Peter. Woodhead Publishing Limited, England, 3-40.
- Hiscocks ES (1965). The Importance of Molds in the Deterioration of Tropical Foods and Feedstuffs. Mycotoxins in Foodstuffs, ed: GN Wogan. MIT Press, Cambridge, 15-26.  
Alınmıştır: Diener UL, Davis ND (1969). Aflatoxin Formation by *Aspergillus flavus*. Aflatoxin Scientific Background, Control and Implications, ed: Leo A Goldblatt. Food Science and Technology, USA, 13-54.
- Hodisan T, Socaciu C, Ropan I, Neamtu G (1997). Carotenoid Composition of *Rosa canina* Fruits Determined by Thin-Layer Chromatography and High-Performance Liquid Chromatography. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 16: 521-528.
- Hussein HS, Brasel JM (2001). Toxicity, Metabolism, And Impact of Mycotoxins on Humans and Animals. Toxicology, 167: 101-134.
- Huwig A, Freimund S, Käppeli O, Dutler H (2001). Mycotoxin Detoxication of Animal Feed by Different Adsorbents. Toxicology Letters, 122: 179-188.
- Ivanova D, Gerova D, Chervenkov T, Yankova T (2005). Polyphenols and Antioxidant Capacity of Bulgarian Medicinal Plants. Journal of Ethnopharmacology, 96: 145-150.
- Kabak B, Var I (2006). Ülkemiz Açısından Sorun Olan Mikotoksinler ve Riskli Gıda Maddeleri. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 681-684, Bolu.
- Kačániová M, Petrová J, Kántor A, Terentjeva M, Kluz M (2015). *In vitro* Antimicrobial Activity of Four Slovak Medicinal Plants against Different Strains of Bacteria. Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies, 48 (1): 137-142.
- Kan Y (2009). Türkiye’de Tıbbi Aromatik Bitkilerin Kültürü. Zeytinburnu Tıbbi Bitkiler Bahçesi, <http://ztbb.org/festival/geleneksel-tip-festivali-2009/turkiyede-tibbi-aromatik-bitkilerin-kulturu/> (erişim tarihi:13.02.2016).

- Kara D (2009). Evaluation of Trace Metal Concentrations in Some Herbs and Herbal Teas by Principal Component Analysis. Food Chemistry, 114: 347-354.
- Karakaya S, El SN (1999). Quercetin, Luteolin, Apigenin and Kaempferol Contents of Some Foods. Food Chemistry 66: 289-292.
- Karaman S, Acar B (2006). Uluslararası Gıda Ürünleri Ticareti ve Aflatoksin Yasal Düzenlemeleri. Doğu Üniversitesi Dergisi, 7 (2): 190-197.
- Karik Ü, Öztürk M (2009). Türkiye Dış Ticaretinde Tıbbi ve Aromatik Bitkiler. Bahçe, 38 (2): 21-31.
- Kaya (2011). Tıbbi Bitkiler ve Bitkisel Maddelerle Tedavi. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni, 4: 3-7.
- Kaya DB (2006). Piyasada Satışa Sunulan Bazı Bitkisel Çayların Mikrobiyolojik Kalitesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kaya N, Telci İ (1997). Tokat Vejetasyonunda Yetişen Ihlamur (*Tilia Rubra DC* subsp. *caucasica* (Rubr.), *Tilia platyphyllos Scop.*) Türlerinden Elde Edilen Drogların Bazı Morfolojik ve Teknolojik Özellikleri. GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 14 (1): 137-144.
- Kaya S (2001). Mikotoksinler. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji, İkinci baskı, ed: Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A., Medisan Yayınevi, Ankara, 537-571. Alınmıştır: Hazer A (2011). Denizli ve Aydın İllerinde Elde Edilen Çiğ Sütlerde Aflatoksin M<sub>1</sub> Prevalansı ve Miktarının Aranması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Kayabaşı İ (2014). Gıdalarda Aflatoksin Sorunu ve Yasal Düzenlemeler. Uzman Gözüyle Bülteni, 15: 9-13.
- Khattak KF (2012). 3Microbiological Quality Assessment of Commercially Available Medicinal Plants in Peshawar City, Pakistan. Pak. J. Bot., 44 (4): 1203-1208.
- Kılıç S (2006). Biyolojik Silahlar ve Biyoterörizm. Türk Hij. Den. Biyol. Derg., 63(1,2,3): 1-20.
- Kocasarı FŞD, Erdemli SB (2014). Mikotoksinlerin İnsan ve Hayvanlar Üzerindeki Etkileri. Ayrıntı, 2 (19): 49-54.
- Kolb N (1999). Microbiological Status of Untreated Herbal Materials. Deutsche Lebensmittel Rundschau, 95 (7): 263-268.
- Korkusuz EE, Dirik H (2011). Gümüşi Ihlamur'un (*Tilia tomentosa* Moench) Fenolojisi, Çiçek Özellikleri ve Yararlanma Esasları. 2. Uluslararası Odun Dışı Orman Ürünleri, 201-208, Isparta.
- Kosalec I, Cvek J, Tomić S (2009). Contaminants of Medicinal Herbs and Herbal Products. Arh. Hig. Rada. Toksikol., 60: 485-501.
- Kökdil G (2002). Tıbbi Çaylar. Galenova, 19-21.
- Kumar A, Shukla R, Singh P, Dubey NK (2009). Biodeterioration of Some Herbal Raw Materials by Storage Fungi and Aflatoxin and Assessment of *Cymbopogon Flexuosus* Essential Oil and Its Components as Antifungal. International Biodeterioration & Biodegradation 63: 712-716.
- Kumarasamy Y, Cox PJ, Jaspars M, Rashid MA, Sarker SD (2003). Bioactive Flavonoid Glycosides from the Seeds of *Rosa canina*. Pharmaceutical Biology, 41 (4): 237-242.

- Leahu A, Damian C, Oroian M, Ropciuc S, Rotaru R (2014). Influence of Processing on Vitamin C Content of Rosehip Fruits. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 47 (1): 116-120.
- Legnani PP, Leoni E, Righi F, Zarabini LA (2001). Effect of Microwave Heating and Gamma Irradiation on Microbiological Quality of Spices and Herbs. *Ital. J. Food Sci.*, 13 (3): 337-345.
- Lewis L, Onsongo M, Njapau H, Rogers HS, Lubber G, Kieszak S, Nyamongo J, Backer L, Dahiye AM, Misore A, DeCock K, Rubin C, Kenya Aflatoxicosis Investigation Group (2005). Aflatoxin Contamination of Commercial Maize Products during an Outbreak of Acute Aflatoxicosis in Eastern and Central Kenya. *Environmental Health Perspectives*, 113 (12): 1763-1767.
- Martins ML, Martins HM, Bernardo F (2001a). Fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in Black Tea and Medicinal Plants. *Journal of Food Protection*, 64: 1268-1270.
- Martins HM, Martins ML, Dias MI, Bernardo F (2001b). Evaluation of Microbiological Quality of Medicinal Plants Used in Natural Infusions. *International Journal of Food Microbiology*, 68: 149–153.
- Megahee L (1995). Rediscovering Herbal Teas. *Flower and Garden*, 39 (4): 52-55.
- Mudau FN, Ngezimana W (2014). Effect of Different Drying Methods on Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Bush Tea (*Athrixia phylicoides*). *International Journal of Agriculture & Biology*, 16: 1011-1014.
- Murathan ZT, Zarıfıkhosroshahı M, Kafkas NE (2016). Determination of Fatty Acids and Volatile Compounds in Fruits of Rosehip (*Rosa L.*) Species by HS-SPME/GC-MS and Im-SPME/GC-MS Techniques. *Turk. J. Agric. For.*, 40: 269-279.
- Nas S, Gökalp HY (1993). Kuşburnu Pestil Teknolojisi ve Gıda Değeri. *Atatürk Ü. Zir, Fak. Der.*, 24 (2): 142-150.
- Nyikal J, Misore A, Nzioka C, Njuguna C, Muchiri E, Njau J, Maingi S, Njoroge J, Mutiso J, Onteri J, Langat A, Kilei IK, Nyamongo J, Ogana G, Muture B (2004). Outbreak of Aflatoxin Poisoning-Eastern and Central Provinces, Kenya, January-July 2004. *MMWR*, 53 (34): 790-793.
- Okioma MN (2008). The 2004 and 2005 Aflatoxin Tragedies in Kenya- A Case Study. *Mycotoxins Detection Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade*, ed: John F. Leslie, Ranajit Bandyopadhyay, Angelo Visconti. CAB International, 127-131.
- Olech M, Nowak R, Los R, Rzymowska J, Malm A, Chrusciel K (2012). Biological Activity and Composition of Teas and Tinctures Prepared from *Rosa rugosa* Thunb. *Cent. Eur. J. Biol.*, 7 (1): 172-182.
- Omar S, Lemonnier B, Jones N, Ficker C, Smith ML, Neema C, Towers GHN, Goel K, Arnason JT (2000). Antimicrobial Activity of Extracts of Eastern North American Hardwood Trees and Relation to Traditional Medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 73: 161-170.
- Omogbai BA, Ikenebomeh M (2013). Microbiological Characteristics and Phytochemical Screening of Some Herbal Teas in Nigeria. *European Scientific Journal*, 9 (18): 149-160.

- Omurtag GZ, Yazıcıoğlu D (2004). Determination of Fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in Herbal Tea and Medicinal Plants in Turkey by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Food Protection*, 67: 1782-1786.
- Oniszczyk A, Wójtowicz A, Oniszczyk T, Olech M, Nowak R, Wojtunik K, Klimek M, Krawczyk W, Hajnos M (2015). Extruded Corn Gruels Containing Linden Flowers: Quantitation of Phenolic Compounds and Selected Quality Characteristics. *Open Chem.*, 13: 1209-1217.
- Orhan N, Aslan M, Hoşbaş S, Deliorman Orhan D (2009). Antidiabetic Effect and Antioxidant Potential of *Rosa canina* Fruits. *Pharmacognosy Magazine*, 5 (20): 309-315.
- Oruç HH (2005). Mikotoksinler ve Tanı Yöntemleri. *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 24 (1-2-3-4): 105-110.
- Otsuki T, Wilson JS, Sewadeh M (2001). Saving Two in A Billion: Quantifying The Trade Effect of European Food Safety Standards on African Exports. *Food Policy*, 26: 495-514.
- Özay G, Pala M, Saygı B (1993). Bazı Gıdaların Su Aktivitesi (a<sub>w</sub>) Yönünden İncelenmesi. *Gıda*, 18 (6): 377-383.
- Özbucak TB, Akçin ÖE, Ertürk Ö (2013). The Change in Ecological, Anatomical and Antimicrobiological Properties of The Medicinal Plant *Tilia Rubra* Dc. Subsp. *Caucasica* (Rupr.) V. Engler Along an Elevational Gradient. *Pak. J. Bot.*, 45 (5): 1735-1742.
- Özcan MM, Ünver A, Uçar T, Arslan D (2008). Mineral Content of Some Herbs and Herbal Teas by Infusion and Decoction. *Food Chemistry*, 106: 1120–1127.
- Özkaya Ş, Temiz A (2003). Aflatoksinler: Kimyasal Yapıları, Toksikite ve Detoksifikasyonları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1 (1): 1-21.
- Özyaral O, Tarkan Ö, Çevikbaş A, Johansson CB (1994). Farmasötik Önemi Olan Bazı Droglarda Mikolojik Analizler. *Mikrobiyol. Bült.*, 28: 359-365.
- Palmgren MS, Hayes AW (1987). Aflatoxins in Food. *Mycotoxins in Food*, ed: P. Krogh. Academic Press, 65-95.
- Peraica M, Radić B, Lucić A, Pavlović M (1999). Toxic Effects of Mycotoxins in Humans. *Bulletin of the World Health Organization*, 77 (9): 754-766.
- Polat R, Selvi S, Çakılcıoğlu U, Açar M (2012). Bingöl Semt Pazarlarında Satılan Yabani Bitkilerin Etnobotanik Açından İncelenmesi. *Biological Diversity and Conservation*, 5 (3): 155-161.
- Rizzo I, Varsavsky E, Vedoya G, Haidukowski M, Frade H, Chiale C (1998). Fungal and Aflatoxin Contamination of Medicinal Herbs. *Mycotoxin Research*, 14: 46-53.
- Rizzo I, Vedoya G, Maurutto S, Haidukowski M, Varsavsky E (2004). Assessment of Toxicogenic Fungi on Argentinean Medicinal Herbs. *Microbiological Research*, 159: 113–120.
- Robbins CA, Swenson LJ, Nealley ML, Gots RE, Kelman BJ (2000). Health Effects of Mycotoxins in Indoor Air: A Critical Review. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 15 (10): 773–784.

- Romagnoli B, Menna V, Gruppioni N, Bergamini C (2007). Aflatoxins in Spices, Aromatic Herbs, Herb-Teas and Medicinal Plants Marketed in Italy. *Food Control* 18: 697–701.
- Roman I, Stănilă A, Stănilă S (2013). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of *Rosa canina* L. Biotypes from Spontaneous Flora of Transylvania. *Chemistry Central Journal*, 7 (73): 1-10.
- Rovná K, Petrová J, Terentjeva M, Černá J, Kačániová M (2015). Antimicrobial Activity of *Rosa canina* Flowers Against Selected Microorganisms. *J. Microbiol. Biotech. Food Sci.*, 4 (1): 62-64.
- Sabuncuoğlu SA, Baydar T, Giray B, Şahin G (2008). Mikotoksinler: Toksik Etkileri, Degredasyonları, Oluşumlarının Önlenmesi ve Zararlı Etkilerinin Azaltılması. *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 28 (1): 63-92.
- Sani AM (2012). Aflatoxins Level in Tea Samples in Amol (North of Iran). *Nutrition & Food Science*, 42: 422-427.
- Santos L, Marin S, Sanchis V, Ramos AJ (2009). Screening of Mycotoxin Multicontamination in Medicinal and Aromatic Herbs Sampled in Spain, *J. Sci. Food Agric.*, 89: 1802-1807.
- Sayılı M, Adıgüzel F, Gözener B (2010). Tokat İli Merkez İlçede Kuşburnu Ürünleri Tüketim Durumları ve Tüketimde Etkili Faktörlerin Belirlenmesi. *Tarım Ekonomisi Dergisi*, 16 (2): 33-43.
- Scolari G, Zacconi C, Vescovo M (2001). Microbial Contamination of Tea and Aromatic Herb-Tea Products. *Ital. J. Food Sci.* 4 (13): 429-433.
- Sert S (1985). Mikotoksin Üretimine Tesir Eden Faktörler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16 (1-4): 147-159.
- Sezik E (2004). Bitkisel Çay Cenneti: Anadolu.  
<http://webnaturel.com/urunbilgi/id/1243/katid/22/ustkatid/1/bitkisel-cay-cenneti-anadolu.html> (erişim tarihi: 12.02.2016).
- Sezik E (2011). Bitkilerin Dünyası: Dostlar. *Klinik Toksikoloji Derneği 16. Kongresi*, 28, Kayseri.
- Shephard GS (2008). Impact of Mycotoxins on Human Health in Developing Countries. *Food Additives and Contaminants*, 25 (2): 146-151.
- Siame BA, Nawa IN (2008). Mycotoxin Contamination in Food Systems in Eastern and Southern Africa. *Mycotoxins Detection Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade*, ed: John F. Leslie, Ranajit Bandyopadhyay, Angelo Visconti. CAB International, 117-125.
- Sroka Z, Belz J (2009). Antioxidant Activity of Hydrolyzed and Non-Hydrolyzed Extracts of the Inflorescence of Linden (*Tiliae inflorescentia*). *Adv. Clin. Exp. Med.*, 18 (4): 329-335.
- Stević T, Pavlović S, Stanković S, Šavikin S (2012). Pathogenic Microorganisms of Medicinal Herbal Drugs. *Arch. Biol. Sci.*, Belgrade, 64 (1): 49-58.
- Storari M, Dennert FG, Bigler L, Gessler C, Brogini GAL (2012). Isolation of Mycotoxins Producing Black Aspergilli in Herbal Teas Available on The Swiss Market. *Food Control* 26: 157-161.

- Sweeney MJ, Dobson ADW (1998). Mycotoxin Production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* Species. *International Journal of Food Microbiology* 43: 141–158.
- Tanker N, Koyuncu M, Coşkun M (2007). *Farmasötik Botanik*, 3. baskı. AÜ Eczacılık Fakültesi, 434 s, Ankara.
- Taydaş EE, Aşkın O (1995). Kırmızı Biberlerde Aflatoksin Oluşumu. *Gıda*, 20 (1): 3-8.
- Tekiner N, Türkyılmaz K (2011). Türk Çaylarında Aflatoksin Varlığı ve Muhtemel Bulaşma Kaynakları. Atatürk Çay ve Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü.
- Toker G, Aslan M, Yeşilada E, Memişoğlu M, Ito S (2001). Comparative Evaluation of The Flavonoid Content in Officinal *Tiliae* Flos and Turkish Lime Species for Quality Assessment. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 26: 111-121.
- Toker G, Baser KHC, Kürkçüoğlu M, Özek T (1999). The Composition of Essential Oils from *Tilia* L. Species Growing in Turkey. *J. Essent. Oil Res.*, 11: 369-374.
- Toker MC, Toker G, Yilmazer R (1997). Ihlamur (*Tilia*) Meyvaları Üzerinde Morfolojik ve Anatomik Çalışmalar. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 26 (2): 89-94.
- Tournas VH, Katsoudas EJ (2008). Microbiological Quality of Various Medicinal Herbal Teas and Coffee Substitutes. *Microbiology Insights*, 1: 47-55.
- Tschiggerl C, Bucar F (2012). The Volatile Fraction of Herbal Teas. *Phytochem Rev.*, 11: 245-254.
- Tumbas VT, Brunet JMC, Simin DDC, Cetkovic GS, Dilas SM, Gillec L (2012). Effect of Rosehip (*Rosa canina* L.) Phytochemicals on Stable Free Radicals and Human Cancer Cells. *J. Sci. Food Agric.*, 92: 1273-1281.
- Tunail N (2000). *Funguslar ve Mikotoksinler*. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını, Ankara, 3. bölüm, 13. kısım.
- Türkben C, Uylaşer V, İncedayı B, Çelikkol I (2010). Effects of Different Maturity Periods and Processes on Nutritional Components of Rosehip (*Rosa canina* L.). *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8 (1): 26-30.
- Ulusoy A, Şeker M (2013). Türkiye’de Değişen Çay Tüketim Alışkanlıkları Projesi. Trabzon Ticaret Borsası.
- Uslu J (2004). Ihlamur Sektörü Profili. İstanbul Ticaret Odası Bilgi ve Doküman Yönetimi Şubesi, 1-22.
- Uylaşer V, Başoğlu F (1992). Gıda Zehirlenmelerinde Etkin Olan Mikroorganizmalar. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9: 261-273.
- Vial, J, Jardy A (1999). Experimental Comparison of the Different Approaches to Estimate LOD and LOQ of an HPLC Method. *Anal. Chem.*, 71: 2672-2677.
- Vidović S, Cvetkovic D, Ramić M, Dunjić M, Malbasa R, Tepić A, Sumić Z, Velićanski A, Jokić S (2013). Screening of Changes in Content of Health Benefit Compounds, Antioxidant Activity and Microbiological Status of Medicinal Plants during the Production of Herbal Filter Tea. *Industrial Crops and Products*, 50: 338– 345.
- Viola H, Wolfman C, De Steina ML, Wasowski C, Peña C, Medina JH, Paladini AC (1994). Isolation of Pharmacologically Active Benzodiazepine Receptor Ligands from *Tilia tomentosa* (*Tiliaceae*). *Journal of Ethnopharmacology*, 44 (1): 47-53.

- Vitullo M, Ripabelli G, Fanelli I, Tamburro M, Delfine S, Sammarco ML (2011). Microbiological and Toxicological Quality of Dried Herbs. *Letters in Applied Microbiology* 52: 573-580.
- Wenzig EM, Widowitz U, Kunert O, Chrubasik S, Bucar F, Knauder E, Bauer R (2008). Phytochemical Composition and *in vitro* Pharmacological Activity of Two Rose Hip (*Rosa canina* L.) Preparations. *Phytomedicine*, 15: 826-835.
- Wilson C, Dettenkofer M, Jonas D, Daschner FD (2004). Pathogen Growth in Herbal Teas Used on Clinical Settings: A Possible Source of Nosocomial Infection? *Am J Infect Control*, 32: 117-119.
- Wilson DM, Mubatanhema W, Jurjevic Z (2002). Biology and Ecology of Mycotoxigenic *Aspergillus* Species as Related to Economic and Health Concerns. *Mycotoxins and Food Safety*, Ed: JV DeVries, MW Trucksess, LS Jackson. Springer Science, New York, 3-17.
- Yamankaradeniz R (1983a). Farklı Olum Aşamalarındaki Kuşburnu (*Rosa* sp.)'nun Fiziksel ve Kimyasal Nitelikleri. *Gıda*, 8 (4): 151-156.
- Yamankaradeniz R (1983b). Kuşburnunun (*Rosa* sp.) Beslenme ve Sağlık Yönünden Önemi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14 (1-2): 113-118.
- Yayalacı Y, Çelik İ, Batı B (2014). Hepatoprotective and Antioxidant Activity of Linden (*Tilia platyphyllos* L.) Infusion Against Ethanol-Induced Oxidative Stress in Rats. *J. Membrane Biol.*, 247: 181-188.
- Yentür G, Er B (2012). Gıdalarda Aflatoksin Varlığının Değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69 (1): 41-52.
- Yıldız H, Nergiz C (1996). Bir Gıda Maddesi Olarak Kuşburnu. *Kuşburnu Sempozyumu*, 309-318, Gümüşhane.
- Yoltaş A, Uztan AH (2008). Hava Kaynaklı Küflerin Toksinleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 6 (3): 39-52.
- Yurdun T (1996). Aflatoksinler Üzerine Kısa Açıklama. *Marmara Üniversitesi Eczacılık Dergisi*, 12 (1): 39-44.
- Žegarac JP, Šamec D, Piljac A (2013). Herbal Teas: A Focus on Antioxidant Properties. *Tea in Health and Disease Prevention*, ed: Victor Preedy. Academic press, 129-140.



## EKLER

**Ek 1.** Gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum aflatoksin limitleri (Anonim 2011a)

	Gıda	Maksimum Limit ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		
		B <sub>1</sub>	B <sub>1</sub> +B <sub>2</sub> +G <sub>1</sub> +G <sub>2</sub>	M <sub>1</sub>
<b>2.1.</b>	<b>AFLATOKSİN</b>			
2.1.1.	Yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) - Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar hariç	8,0	15,0	-
2.1.2.	Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	12,0	15,0	-
2.1.3.	Fındık ve Brezilya fıncığı (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) - Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	8,0	15,0	-
2.1.4.	Sert kabuklu meyveler (Bölüm 2.1.2. ve 2.1.3'de belirtilenler hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8,0	15,0	-
2.1.5.	Yerfıstığı, diğer yağlı tohumlar ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) - Rafine edilecek bitkisel ham yağ ve rafine bitkisel yağ hariç	5,0	10,0	-
2.1.6.	Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8,0	10,0	-
2.1.7.	Fındık ve Brezilya fıncığı (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) -Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	5,0	10,0	-

**Ek 1. Gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum aflatoksin limitleri (Devam)**

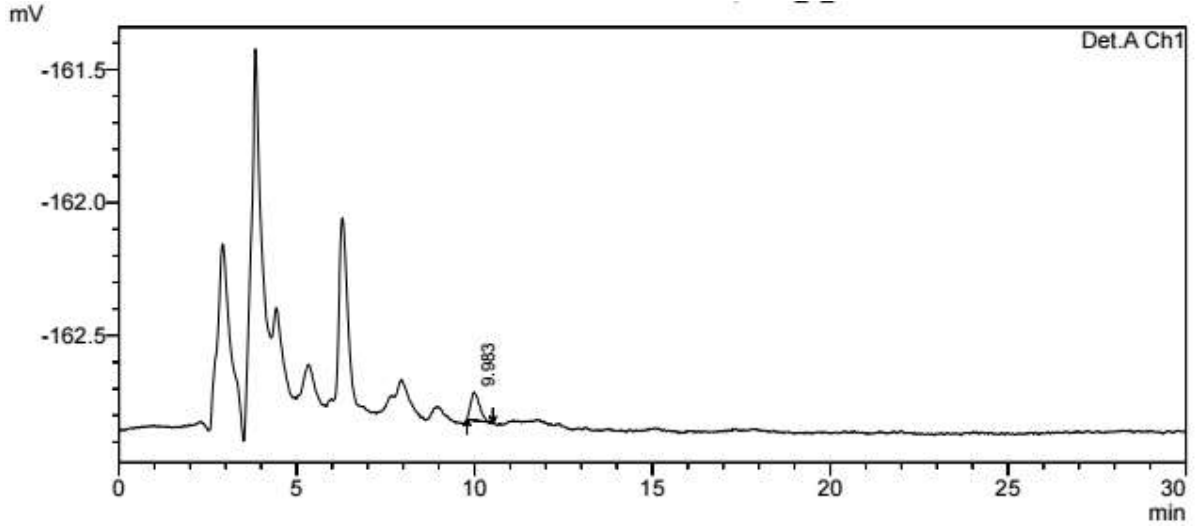
2.1.	AFLATOKSİN	Maksimum Limit (µg/kg)		
		B <sub>1</sub>	B <sub>1</sub> +B <sub>2</sub> +G <sub>1</sub> +G <sub>2</sub>	M <sub>1</sub>
2.1.8.	Sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 2.1.6 ve 2.1.7'de belirtilenler hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	5,0	10,0	-
2.1.9.	Kurutulmuş meyveler (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8,0	10,0	-
2.1.10.	Tahıllar, bunlardan elde edilen ürünler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 2.1.11, 2.1.14.ve 2.1.16'de belirtilenler hariç)	2,0	4,0	-
2.1.11.	Mısır ve pirinç (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5,0	10,0	-
2.1.12.	Çiğ süt, ısıtılmış süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	-	-	0,050
2.1.13.	Baharatın aşağıdaki türleri için; - Kırmızıbiber ( <i>Capsicum spp.</i> ) (bunların kurutulmuş meyveleri, tüm ve öğütülmüş halleri dahil) - Karabiber ( <i>Piper spp.</i> ) (bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) - Hintceviz/Muskat ( <i>Myristica fragrans</i> ) - Zencefil ( <i>Zingiber officinale</i> ) - Zerdeçal ( <i>Curcuma longa</i> ) - Bunların bir veya birkaçını içeren karışım baharat	5,0	10,0	-
2.1.14.	Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0,10	-	-
2.1.15.	Bebek formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	-	-	0,025
2.1.16.	Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0,10	-	0,025

Gıdalarla ilgili ayrıntılı tanımlamalara yer verilmemiş olup, bunlara orijinal kaynaktan ulaşmak mümkündür.

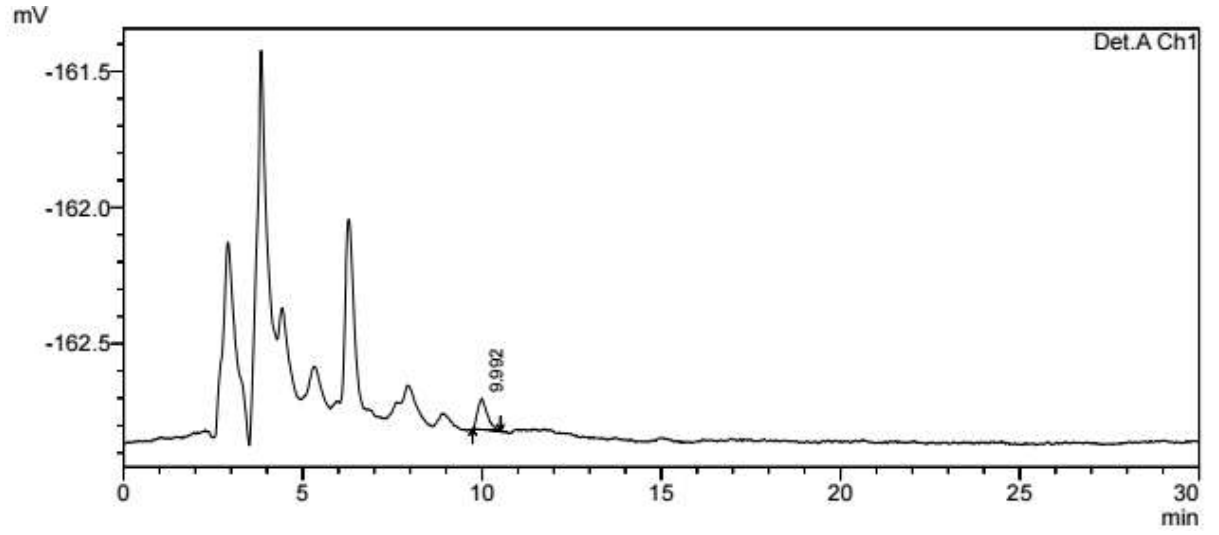
**Ek 2.** Hayvan yemlerinde kabul edilebilir en yüksek aflatoksin B<sub>1</sub> düzeyleri (Anonim 2014)

<b>İstenmeyen maddeler</b>	<b>Hayvan yemi olarak kullanılan ürünler</b>	<b>Kabul edilebilir en çok miktar mg/kg (ppm) (% 12 rutubet içeren yeme göre)</b>
(1)	(2)	(3)
1.Aflatoksin B <sub>1</sub>	Yem maddeleri	0,02
	Tamamlayıcı ve tam yemler; aşağıdakiler dışında:	0,01
	-Süt sığırları ve buzağılar, süt koyunları ve kuzular, süt keçileri ve oğlaklar, domuz yavruları ve genç kanatlı hayvan karma yemleri	0,005
	-Sığır (süt sığırları ve buzağılar hariç), koyun (süt koyunları ve kuzular hariç), keçi (süt keçileri ve oğlaklar hariç), domuz (domuz yavruları hariç), kanatlı (genç kanatlılar hariç) karma yemleri	0,02

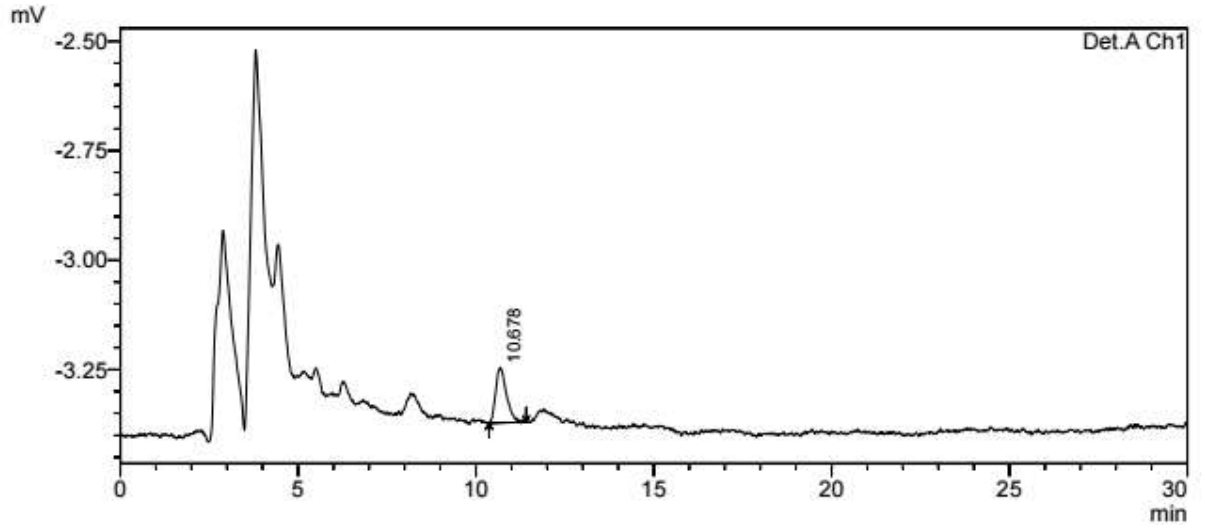
**Ek 3.** İhlamur ve kuşburnu örneklerinde HPLC ile aflatoksin analizine ait örnek kromatogramlar



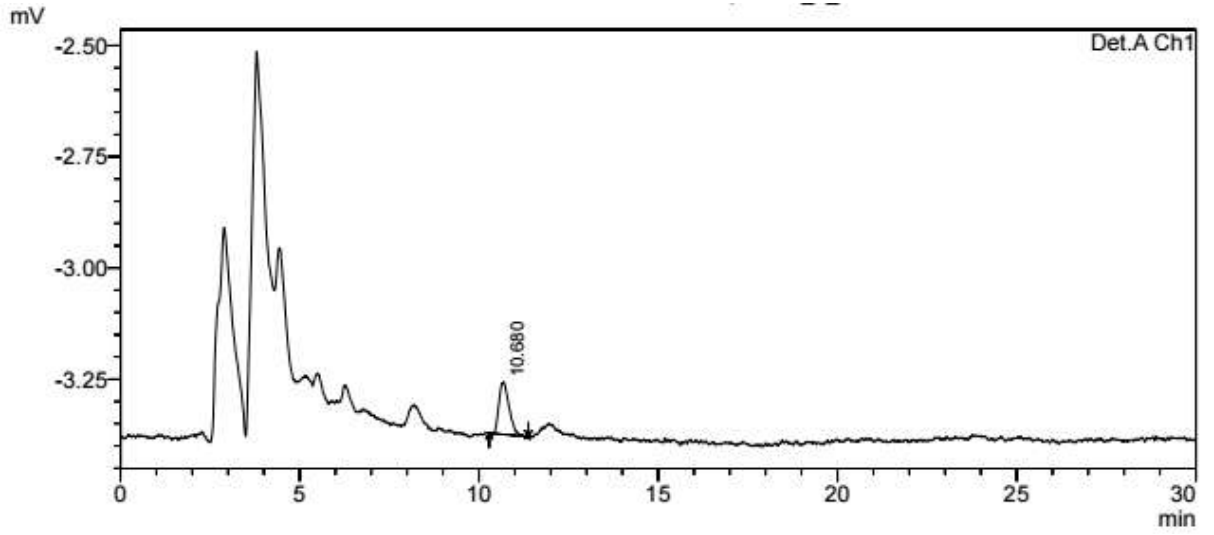
**Şekil 1.** 8.1 no.lu ihlamur örneğine ait kromatogram



**Şekil 2.** 8.2 no.lu ihlamur örneğine ait kromatogram



Şekil 3. 5.1 no.lu kuşburnu örneğine ait kromatogram



Şekil 4. 5.2 no.lu kuşburnu örneğine ait kromatogram

## **ÖZGEÇMİŞ**

13.09.1990 tarihinde İstanbul'da doğdu. İlköğretim ve lise öğretimini Çorlu'da tamamladı. 2009 yılında Mehmet Akif Ersoy Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. 2009-2013 yılları arasında Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde lisans eğitimi aldı. 2013 yılında Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2014 (Aralık) - 2015 (Aralık) tarihlerinde özel bir firmada Sorumlu Yönetici olarak görev yaptı.