**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ**
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

# ÇANKIRI İLİ MERKEZ VE KIZILIRMAK İLÇESİNDE KULLANILAN HAYVAN YEMLERİNDE BULUNAN MİKOTOKSİNLERİN TESPİTİ

**Elvan Emir GÜLDEN**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÇANKIRI**
**2022**

**Her hakkı saklıdır**

## TEZ ONAYI

Elvan Emir GÜLDEN tarafından hazırlanan **"Çankırı İli Merkez ve Kızılırmak İlçesinde Kullanılan Hayvan Yemlerinde Bulunan Mikotoksinlerin Tespiti"** adlı tez çalışması 24/05/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** **:** Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK

**Jüri Üyeleri** **:**

**Başkan** **:** Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

**Üye** **:** Dr. Öğr. Üyesi Hayrettin SAYGIN
Biyoloji Anabilim Dalı
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

**Üye** **:** Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ**

**Enstitü Müdürü**

## ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Çankırı İli Merkez Ve Kızılırmak İlçesinde Kullanılan Hayvan Yemlerinde Bulunan Mikotoksinlerin Tespiti**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (24/05/2022).

**Elvan Emir GÜLDEN**

# ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇANKIRI İLİ MERKEZ VE KIZILIRMAK İLÇESİNDE KULLANILAN HAYVAN YEMLERİNDE BULUNAN MİKOTOKSİNLERİN TESPİTİ

Elvan Emir GÜLDEN

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK

Araştırmada bulunduğumuz bölgede (Merkez ve Kızılırmak ilçeleri) büyük baş hayvancılık yapan çiftçilerimizin kullanmış oldukları yemlerin mikotoksinlerle kontamine olma durumlarını tespit etmek ve yemlerin toksin yönünden durumlarını değerlendirme amaçlanmıştır. Bu nedenle değerlendirme yapabilmek amacıyla bölgemiz çiftçilerinin kullandığı yemlerden aynı tarihlerde ve yem torbalarına dikkat etmeden random şekilde 32 adet yem örneği toplanmıştır. Topladığımız yem örneklerini LC/MS-MS (Simadzu LCMS-8040) cihazı yardımıyla 11 farklı mikotoksinle (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, FB1, FB2, OTA, ZEA, DON, T-2, HT-2) bulaş durumlarının analizi yapılmıştır. Yapmış olduğumuz analiz sonucunda yem örneklerimizin birden fazla mikotoksin çeşidi ile bulaş olduğu tespit edilmiştir. Hayvan yemlerimizin büyük bir kısmında mikotoksin bulaş oranlarının yüksek seviyelerde olduğunu gözlemledik. Yem örneklerimizi geliştirme, büyütme, besi, tamamlayıcı ve karma yem grupları içerisinde detaylıca analiz ettik. Elde ettiğimiz veriler bölgemizde kullanılan yemlerin funguslar tarafından kontamine olduğunu ortaya koymuştur. Tespit edilen mikotoksin miktarları Yemlerde istenmeyen maddeler tebliğinde belirtilen toksin üst sınırlarıyla karşılaştırdığımız 2 yem örneğinin Aspergillius tarafından AFB1 ve 1 yem örneğinin ise Fusarium türleri tarafından üretilen ZEA üst limitinin üzerine çıktığı görülmüştür. Ayrıca HT-2 ve T-2 mikotoksinleri ile yem örneklerimiz yüksek oranlarda kontamine olmalarına rağmen bu mikotoksinler için tebliğde üst limit belirlenmediğinden bu yemlerin ilerde hayvanlarda ve hayvan ürünlerinden faydalanan canlıların sağlıklarında çıkartacağı sorunlar tam olarak öngörülememektedir.

**2022, 76 sayfa**

**ANAHTAR KELİMELER:** Mikotoksin, Bulaş, Kontamine, Küf, Mantar, Aflatoksin, Okratoksin, Fumonisin, HT-2, T-2

## ABSTRACT

Master of Science Thesis

DETECTION OF MYCOTOXINS IN ANIMAL FEED USED IN ÇANKIRI PROVINCE CENTRAL DISTRICT AND KIZILIRMAK DISTRICT

Elvan Emir GÜLDEN

Çankırı Karatekin University
Institute Of Sciences
Department of Biology

Advisor: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞIMSEK

It is aimed to determine the contamination status of the feeds used by our cattle raising farmers in the region we are researching (Center and Kızılırmak districts) and to evaluate the toxin status of the feeds. For this reason, 32 feed samples were collected randomly from the feed used by the farmers of our region on the same dates and without paying attention to the feed bags. Analysis of the contamination status of the collected feed samples with 11 different mycotoxins (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, FB1, FB2, OTA, ZEA, DON, T-2, HT-2) with the help of LC/MS-MS (Simadzu LCMS-8040) device. As a result of the analysis we have made, it has been determined that our feed samples are contaminated with more than one mycotoxin type. We observed high levels of mycotoxin contamination in most of our animal feeds. We analyzed our feed samples in detail in development, rearing, fattening, complementary and compound feed groups. The data we obtained revealed that the feeds used in our region were contaminated by fungi. It was observed that 2 feed samples, which we compared with the toxin upper limits specified in the notification of undesirable substances in feed, exceeded the upper limit of ZEA produced by Aspergillius and 1 feed sample by Fusarium species. In addition, although our feed samples are highly contaminated with HT-2 and T-2 mycotoxins, since the upper limit for these mycotoxins is not determined in the communiqué, the problems that these feeds will cause in the future in animals and in the health of animals benefiting from animal products cannot be fully predicted.



**2022, 76 pages**

**Keywords:** Mycotoxin, contamination, contaminated, mold, fungus, Aflatoxin, ochratoxin, fuminosin, HT-2, T-2

# ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

‘’Çankırı ili Merkez ve Kızılırmak İlçesinde kullanılan hayvan yemlerinde bulunan mikotoksinlerin tespiti’’ adlı bu çalışmamız 2018-2022 yılları arasında hazırlanarak Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne ‘’Yüksek Lisans Tezi’’ olarak sunulmuştur. Bu araştırmamızın amacı Merkez ve Kızılırmak İlçemizde toplamış olduğumuz yem örneklerimizin analizlerini yaparak mikotoksinler ile kontamine olma durumlarını inceledik. Elde ettiğimiz verileri yemlerde istenmeyen maddeler tebliğinde belirtilen üst limitler incelenerek karşılaştırmaları yaptık.

Çalışmamın her aşamasında yakın ilgi ve öneriler ile beni yönlendiren, her türlü yardımda bulunan ve her daim anlayışlı olan çok kıymetli Danışmanım Prof. Dr. Sayın Seçil AKILLI ŞİMŞEK’e sonsuz teşekkürlerimi bildiriyorum. Ders döneminde ve tez yazma sürecinde yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL’a ve yem örneklerimizin analizi konusunda bize her daim yardımlarını sunan Sayın Pınar hanıma minnet ve teşekkürlerimi sunuyorum. Yüksek Lisans eğitimine başladığım günden mezuniyete sürecine kadar her zaman yanımda ve destekçim olan kıymetli eşim Emine GÜLDEN’e ve birtanecik kızım İkra Öykü GÜLDEN’e sevgilerimi iletiyorum. Son olarak da izimden gelen kıymetli kız kardeşim Merve Aslı GÜLDEN’e çok teşekkür ediyorum.

**Elvan Emir GÜLDEN**

**Çankırı, Haziran 2022**

# İÇİNDEKİLER

**ÖZET** ..... **i**
**ABSTRACT** ..... **ii**
**ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR** ..... **iii**
**İÇİNDEKİLER** ..... **iv**
**SİMGELER DİZİNİ** ..... **v**
**KISALTMALAR DİZİNİ** ..... **vi**
**ŞEKİLLER DİZİNİ** ..... **vii**
**ÇİZELGELER DİZİNİ** ..... **viii**
**1. GİRİŞ** ..... **1**
**1.1 Mantar Gelişimi Ve Mikotoksin Oluşumu Üzerindeki Etkili Koşullar** ..... **5**
**1.2 Mikotoksinler** ..... **6**
**1.2.1 Aflatoksinlerin kimyasal yapısı** ..... **7**
**1.2.2 Aflatoksinlerin toksisitesi** ..... **10**
**1.3 Okratoksinler** ..... **14**
**1.3.1 Okratoksin A'nın kimyasal yapısı** ..... **14**
**1.3.2 Okratoksin üreten küf çeşitleri** ..... **17**
**1.3.3. OTA toksisitesi** ..... **17**
**1.4 Zearalenone** ..... **19**
**1.5 Trikotesenler** ..... **21**
**1.6 Fumonisinler** ..... **25**
**2. MATERYAL VE YÖNTEM** ..... **29**
**3. BULGULAR VE TARTIŞMA** ..... **36**
**4. SONUÇ VE ÖNERİLER** ..... **65**
**KAYNAKLAR** ..... **67**
**ÖZGEÇMİŞ** ..... **76**

## SİMGELER DİZİNİ

| | |
|---|---|
| AFB1 | Aflatoksin B1 |
| AFB2 | Aflatoksin B2 |
| AFG1 | Aflatoksin G1 |
| AFG2 | Aflatoksin G2 |
| ' | Dakika |
| DON | Deoxynivaleno |
| ° | Derece |
| DAS | Diasetoksiskirperol |
| FB1 | Fumonisin B1 |
| FB2 | Fumonisin B2 |
| gr | Gram |
| kg | Kilogram |
| lt | Litre |
| mm | Milimetre |
| ppm | Milyonda Bir |
| NIV | Nivalenol |
| OT-A | Okratoksin-A |
| " | Saniye |
| vb | ve bunun gibi |
| vd | ve diğerleri |
| % | Yüzde |
| ZEA | Zearalenone |

## KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|---|---|
| Asp | Aspergillus |
| Don | Deoksinivalenol |
| Nıv | Nivalenol |
| Zea | Zearelenon |

# ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Aflatoksinlerin yapılarının görünümü (WHO) ..... 8
Şekil 1.2 Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapısı (Özkaya ve Temiz 2003) ..... 9
Şekil 1.3 AFB1 molekül yapısı ..... 12
Şekil 1.4 AFB1-N7-Guanil kompleksi (Girgin vd. 2001) ..... 13
Şekil 1.5 OTA ve türevlerinin kimyasal yapıları (Büyüker 2019) ..... 15
Şekil 1.6 Zearalenon ve türevlerinin kimyasal yapıları ..... 20
Şekil 1.7 Trikotesenlerin kimyasal yapıları (Sweeney and Dobson 1999) ..... 25
Şekil 1.8 FB1 ve FB2 nin kimysal yapıları ..... 27
Şekil 2.1 Yemlerin öğütülme aşamaları ..... 31
Şekil 2.2 Yemlerin ölçümlerinin yapılmasından görünüm ..... 32
Şekil 2.3 Yemlerin santrifuj cihazında hazırlanmasından görünüm ..... 32
Şekil 2.4 Yemlerin santrifuj edilmesinden görünüm ..... 33
Şekil 2.5 Yemlerin seyreltilme işlemlerinden görünüm ..... 33
Şekil 2.6 Yem numunelerinin enjektörde süzülme işlemlerinden görünüm ..... 34
Şekil 2.7 Yem örneklerinin etiketlenmesinden görünüm ..... 34

# ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Bazı mikotoksinleri üreten fungus cinsleri ..... 7
Çizelge 1.2 Bazı OTA türevi metabolitlerin karakteristik oluşumu ..... 16
Çizelge 2.1 Mikotoksilerin tebliğe göre üst limitleri ..... 30
Çizelge 2.2 LC-MSMS cihazında yapılan analizlerde ortalama mikotoksin teşhis limitleri..... 35
Çizelge 3.1 Yem örneklerinin türleri ..... 37
Çizelge 3.2 Tamamlayıcı yem örneklerinin LC-MSMS sonuçları ..... 38
Çizelge 3.3 Tamamlayıcı yem örneklerinde saptanan mikotoksin sayısı ..... 40
Çizelge 3.4 Besi yem numunelerinin LC-MSMS sonuçları ..... 42
Çizelge 3.5 Besi yem örneklerinde saptanan mikotoksin sayısı ..... 44
Çizelge 3.6 Geliştirme yem numunelerinin LC-MSMS sonuçları..... 45
Çizelge 3.7 Geliştirme yem örneklerinde saptanan mikotoksin sayısı ..... 46
Çizelge 3.8 Büyütme yem numunelerinin LC-MSMS sonuçları..... 47
Çizelge 3.9 Büyütme yem örneklerinde saptanan mikotoksin sayısı..... 48
Çizelge 3.10 Karma yem numunelerinin LC-MSMS sonuçları..... 49
Çizelge 3.11 Karma yem örneklerinde saptanan mikotoksin sayısı ..... 50
Çizelge 3.12 Yem örneklerimizin mikotoksinler ile kontamine olma sayıları ..... 52

# 1 GİRİŞ

Küf ve mantar kelimelerinin kullanımında bir kargaşa bulunmaktadır. Aynı canlı cinsine klinik ortamda çalışan bilim insanları mantar ismini verirken farklı çalışmacılar küf olarak adlandırmaktadır. Şapkalı mantarlar alemi içerisinde mayalar ve şapkalı mantarlar bulunmaktadır (Halkman 1988). Oluşan kavram yanılgılarına son vermek için şapkalı mantarlar, maya ve küfler şeklinde tanım yapılabilir. Genel olarak canlılar üzerinde en çok deri rahatsızlıkları olmak üzere hastalığa neden olanlar "mantar" olarak adlandırılırken gıdalarda bozulmalara neden olanlar "küf" olarak adlandırılır. Bu sebeple günlük yaşantımızda "Küf mantarı" deyişini kullanmak anlatım bozukluğuna neden olmaktadır (Halkman 1988).

Yaklaşık 100.000 mantar türünün isimlendirilmesi ve sınıflara ayrılması işlemi yapılmış olup, bilinen 1,5-5 milyon arasında farklı çeşit küf olduğu ve bu küf türlerinden sadece %5 kadarının bilindiği tahmin edilmektedir (Halkman 1988). Mantarlar yararlı ve zararlı mantarlar olmak üzere iki gruba ayrılır. Canlılar da ölüm ile sonuçlanan birden fazla hastalığa sebep olan mantar türleri bulunurken, farklı mantar türlerinden antibiyotik ve türevleri, çeşitli enzim ve kimyasal, küflü peynir üretiminde ve daha birçok farklı uygulamada kullanılır (Oruç 2006).

En önemli mikotoksin üreticileri; Deuteromycota sınıfı içerisinde bulunan Penicillium, Aspergillus, Alternaria ve Fusarium cinslerine giren mantar türleridir (Altunatmaz vd. 2012). Tarımsal ürünler hasat dönemi öncesi, hasat süresi ve hasat işlemleri sonrası olmak üzere farklı dönemlerde küflerle kontamine olabilirler. Küflerle kontaminasyona uğramak ekonomik açıdan kayıp ve mikotoksinlerin oluşması sebep olabilir (Halkman 1988).

Hayvan yemlerinin küflerle kontamine olması da ekonomik açıdan kayıplara ve mikotoksinlerin oluşmasına neden olur. Günümüzde bilinen mikotoksin üreten küf sayısı 350-400 ile sınırlıdır (Oruç 2006). Şu ana kadar 400 mikotoksin tespit edilmiştir fakat teknolojinin gelişmesi, yeni araştırmalar ve keşifler sonucunda tespit edilen mikotoksin

sayısı sürekli olarak artmaktadır (Halkman 1988). Tespit edilen mikotoksin sayısının çoğalmasına meydana gelen sorunlar sonucunda mikotoksinler üstünde sürdürülen yoğun çalışmalar ve beraberinde yeni antibiyotik türleri ve farklı çalışmalarda kemoterapik ajanların aranması metabolitlerin mikotoksin çeşiti olarak kabul edilmesine katkı sağlamıştır. Okratoksin A (OTA) keşfi bu biçimde olmuştur.

İlk olarak Okratoksin A'nın Nefrotoksik etkiye sahip Balkan nefropatisiyle olan ilişkisi anlaşılamamış olup teknolojinin gelişmesi ve yapılan çalışmaların ve araştırmaların artması sonucunda daha sonraki senelerde anlaşılmıştır. Fungus gruplarının antibiyotikler ve mikotoksinler olmak üzere farklı ikincil metabolitleri bulunur. Mikotoksin türlerinin bazıları (antibiyotik), mikroorganizma türlerinin gelişmelerini önler (Anon 2000). Örneğin patulin, türü ilk olarak antibiyotik olarak tanımlanmış ve üstünde araştırmalar yapılmıştır. Mikroorganizma çeşitlerine karşı etkili olan türler antibiyotik, yüksek organizmalara zehirli etki yapanlar ise mikotoksin olarak tanımlanabilir. Ancak mikotoksinleri fungusların meydana getirdiği antibiyotik çeşitleri arasında düşünülebilir (Halkman 1988).

Küflerin ikinci metabolitleri olduğu bilinen mikotoksinlerin, ikincil metabolitleri neden oluşturduğu tam anlamıyla anlaşılmış değildir. Mikroorganizma, canlı varlıklar tarafından oluşturulan ve çok geniş bir alana yayılan ikincil metabolitlerin, canlı ekosistemlerinde görevlerinin önemli olduğu düşünülmektedir (Halkman 1988). Organizma üremesinde etkili rol oynayan fizyolojik öneme sahip ikinci metabolitler bulunduğu gösterilmiştir (Karagözlü 2010). Mikroorganizmaların, ikincil metabolitleri üretmelerinde ki amacı konusunda farklı fikirler bulunmaktadır. Bu metabolitler küflerin üreme sürecinin sonuna doğru ya da durma sürecinin başında sentezlenmektedir. Metabolizma çalışmasının tamamıyla durması yerine yavaş şekilde akışla süren ikincil metabolizmanın mikroorganizma için bir kazanım oluşturmuş olduğu, hücrede toplanan ve uzaklaştırılması gereken bileşiklerin hücreden gönderilecek formlara dönüşümünü mümkün hale getirdiği öne sürülmekte, antagonizm için antibiyotik ve mikotoksinlerin varlığının gerektiği düşünülmektedir (Halkman 1988). Suda çözünemeyen sterigmatosistinin salgılanmadan miseller içerisinde toplanmasına, ileri sürülen bu fikirler bir açıklama getirmemektedir. Öne sürülen bu düşüncelere zıt fikir olarak sentezlenen

ikinci metabolitlerin mikroorganizmalar tarafından doğrudan kullanılmadığı için metabolizmanın lüzumsuz metabolitleri (yonga ve talaş) şeklinde tanımlanır (Proctor 2000). Sentezlenen ürünlerin miktarca çok düşük olması, antogonistik ilişkilerin doğada pek saptanamaması, antibiyotiklerin genelde üretim gerçekleştiren mikroorganizmayı inhibe etmesi ikinci metabolizmalarının sebebine açıklama getirememektedir. Pek çok ikincil metabolit üretimini determine eden genlerin mikroorganizma için ağırlık olduğu, evrim sürecinde bu genlerin delesyonla DNA'dan ayrılmaları gerekirken sürüklenip geldikleri düşünülmektedir. Sonuç için evrim sürecinde doğanın düşünülenden daha konservatif davranış gösterdiği öne sürülmektedir (Özkaya 2001).

Mikotoksin türlerini, sentezlerini gerçekleştiren küfün cinsi ya da küfün türlerine göre sınıflandırmak mümkün olmamaktadır. "A" küfü "a" ve "b" mikotoksinleri oluştururken, "B" küfü "a", "b", "c" mikotoksinlerini oluşturur (Halkman 1988). Mikotoksin sentezinin gerçekleşebilmesi için belli şartların yerine gelmesi gerekir. Mikotoksinler genelde yüksek sıcaklık derecelerine karşı direnç gösterirler ve kendileri tarafından sentezlenen toksik maddelerden zarar görmezler. Bakteri toksinleri ile mikotoksin türleri karşılaştırıldıklarında bakteri toksinlerinin tam tersine büyük moleküllü bileşikler değildirler. (Tunail 2000). Bazı mikotoksin türlerinde endotoksin şeklinde misel içinde birikirken, birden fazlası ise miselden substrata doğru salgılanır ve difüze olur. O sebeple küf ile kontamine olan yem ve gıdalar misellerden temizlense bile ürün üzerinde mikotoksin bulaşı tehlikesi son bulmaz (Halkman 1988).

Küfler aracılığıyla üretilen sekonder toksik bileşiklere verilen isme mikotoksin denir (Karabulut ve Değirmencioğlu 2002). Gıda ve yemler üzerinde bulunan canlı sağlığına olumsuz etkileri olan ve içerisinde kimyasal etkenler bulunan en ciddi tehlike mikotoksinlerdir. Çeşitlerine göre mikotoksinler bölgesel bir problem oluştururken, dünyanın farklı lokasyonlarında üretilen aynı ürünlerde görülmesiyle yerel olan bu problem daha çok uluslararası bir soruna dönüşebilmektedir.

Tarım ürünlerinde mikotoksin üretimi, ürüne bağlı olmak üzere, uygun koşullarda, üretim aşamasından tüketime kadar süreç içerisinde gerçekleşebilmektedir. (Oruç 2006). Mikotoksinler, güvenli gıda tüketimini sağlayabilmek için kontrol altında

tutulması gerekmektedir. Canlı varlıkların sağlığı açısından önemli arz eden kuru incir, zeytin, kuruyemişler, toz ve pul biber çeşitleri gibi ihraç ürünlerinin yanında, süt ve süt mamülleri ve başta mısır ve mısır ürünleri mikotoksinlerle bulaş göstermektedir (Aluç ve Aluç 2005). Bugün keşfedilen 400'den çok mikotoksin türüne karşı, bu türler içerisinden beş ya da altı çeşidi son derece önemlidir (Pıtt 2002). Önem durumu ülkelerde ve bölgelerde görülme çokluğuna göre farklılık içermekle beraber aflatoksin türleri, okratoksin türleri (OTA), fumonisin mikotoksinleri, trikotesen mikotoksinleri ve zearalenonun önemli mikotoksin türleri olduğu üzerine yapılan araştırmalar sonucunda görüş ortaklığına varmışlardır (Sorensen and Elbaek 2005). Örneğin ABD'de, mısırda fumonisin mikotoksinleri çok önemli mikotoksinler olarak kabul ediliyorken, beslenme alışkanlıları arasında mısır ve ürünleri fazla kullanılmadığından Avustralya'da mısır ürünlerinde fumonisin varlığı tehlike olarak görülmemektedir (Park 2002). Ülkelerin kullanımın durumlarına göre ürünlerde meydana gelen mikotoksin türlerinin önem sırası değişebilir. Avrupa'da sıcaklıkların uygun olmaması sebebiyle genel itibari ile aflatoksinler ile düşük seviyelerde kontamine olma durumu görülmekte ve ülkeye gelen ithal ürünlerin sıkı denetim süreçlerinden geçirildiğinden tüketicilerin sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturmazken; Aflatoksinler, Amerika, Afrika ve Asya kıtalarında bulunan birçok ülke ve Türkiye için önemli bir konumdadır. Avrupa'da tahıllarda yaygın olarak Okratoksin A bulunabilmekte bu sebeple bu bölgelerde üretilen un ve unlu mamüllerde Okratoksin A ile karşılaşılmaktadır. (Oruç 2006). Araştırmalarda, kan örnekleri ve süt örnekleri üzerinde yapılan analizlerin sonuçları canlılara Okratoksin A mikotoksinine geçtiğini göstermektedir. Balkan bölgelerinde, Balkan Endemik Nefropati (BEN) isimli böbrek rahatsızlığının Okratoksin ile bulaş gösteren olan tahılların kullanılmasının neden olduğu kanıtlanmıştır. Mikotoksinlerin neden olduğu zehirlenme genelde kronik şekilde olurken, akut durumda olabilmekte ve bu durumun sonucunda çok ciddi durumlar meydana gelebilmektedir (Arda 1980).

## 1.1 Mantar Gelişimi ve Mikotoksin Oluşumu Üzerinde Etkili Koşullar

Hayvansal ve bitkisel ürünler üzerinde mantar türlerinin artması ve gelişmesi bu ürünlerde meydana gelen küflenmenin ve mikotoksin çeşitlerinin üretilebilmesi;

a) Mantar türünün varlığı ve bileşimine
b) Besin ortamının uygunluğuna
c) Çevresel koşulların uygunluğuna bağlıdır.

1.a. Nem Düzeyi: Fungal etkinliğin ve çoğalmanın başlayabilmesi için gereken çevresel koşullar içerisinde ilk olarak rutubet gelir. Mantar türlerinin üremeye başladıkları rutubet oranı %9 düzeylerindedir. Yem üzerinde görülen yüksek nem kurutulma işleminin detaylı olarak yapılmadığından ya da ürünlerin yanlış depolanması ve yanlış saklama koşullarından kaynaklanmaktadır. Normal şartlarda %13-16 seviyesinde rutubet bulunan hayvan yemleri uygun ısı ve oksijenin olduğu ortamlarda basitçe küflenebilir. Aspergillus türü ve penicullum türü funguslar %13-18 oranında rutubete maruz kalan ve yemlerin saklandığı koşulların nisbi rutubet seviyesinin %50-60 olduğu koşullarda çok çabuk üreme gerçekleştirirler (Şahin ve Sehu 2015).

1.b. Isı: Mikotoksin sentezini ve sentezlenecek olan mikotoksin metabolitlerinin cinsini sıcaklık miktarı etkilemektedir. Farklı sıcaklıklarda farklı mantar türlerinin üremeleri gerçekleşir. Örneğin Aflatoksin üreten mantarlar 10-45 °C sıcaklık aralığında gelişim gösterirken cladosporium ve fusarium gibi mantar türleri 0°C'de dahi mikotoksin üretebilirler (Şanlı 1995). Mantar oluşumları için uygun olan sıcaklık ile mantarın zehirli madde üretmelerine sebep olan sıcaklık şartları farklı olabilmektedir.

1.c. Oksijen: Mantar türlerinin aerobik ortamda gelişimleri iyi düzeydedir. Ortamda bulunan $CO_2$ gazının derişimi %10 seviyesinin üzerine çıktığında fungus mikroflorası hızla bir şekilde inhibasyona uğrar. Hava ile temasın olmadığı ortam içerisinde besinlerin küflenmesi daha hızlı gerçekleşmektedir (Kaya 1989).

1.d. Besin Çeşidi: Fungal gelişim üzerinde ve mikotoksin sentezlenmesinde besin çeşidi

ile karma yem ve yem hammaddeleri etkili olmaktadır (Yıldız 2009). Tarımsal ürünlerin kullanılabilir besin çeşitleri, karbonhidrat ve yağ içeriğince zengin olanları hızla küflenerek bozulabilmektedir (Şahin vd. 2015).

## 1.2 Mikotoksinler

Mikotoksinler, temel olarak protein yapılı ve antijen özellik gösteren bakteri kökenli toksinlerin özelliklerinin tam tersine, çok farklı kimyasal yapıya ve farklı biyolojik aktivilere sahiptirler (Harvey et al.1991). Küflerin her ortamda oluşabilmeleri ve birçok gıda ve yem maddesi üzerinde üreyerek toksinlerini oluşturması sebebiyle, mikotoksinler doğal toksinler olarak tanımlanmaktadır (Basmacıoğlu 2003).

Üzerinde fazlaca çalışma yapılan mikotoksin türlerinden biri olan aflatoksinler 1960 senesinde keşfedilmiş ve 1962 senesinde kuvvetli "hepatotoksik" ve "hepatokarsinojen" etkisi gösterdiği anlaşılmıştır (Özkaya ve Temiz 2009). Aflatoksin türlerinden, *Aspergillus flavus*'un bazıları tarafından, *Aspergillus parasiticus*'un nerdeyse tüm suşları aracılığıyla üretilmektedir. 1987 senesinde *Aspergillus flavus*'a fenotipik olarak benzerlik gösteren *Aspergillus nomius* ve son olarak da *Aspergillus pseudotamarii* olarak adlandırılan türlerin aflatoksin oluşturduğu belirtilmiştir. (Taylor 1999).

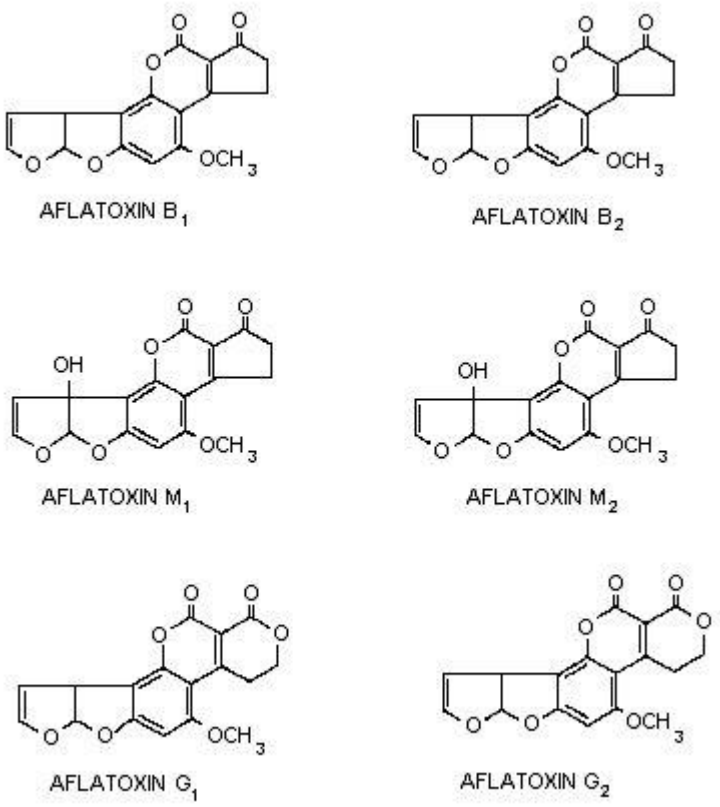
**Çizelge 1.1** Bazı mikotoksinleri üreten fungus cinsleri (Şahin vd. 2015)

| **Mikotoksin** | **Üreten Cins** |
|---|---|
| Aflatoksin B1, B2<br><br>Aflatoksin G1, G2 | *Aspergillus* |
| Citrinin | *Penicillium* |
| Fumonisin B1, B2 | *Fusarium* |
| Okratoksin A | *Aspergillus* |
| T-2 | *Fusarium* |
| HT-2 | *Fusarium* |
| Zearalenon | *Fusarium* |
| Deoxynivalenol | *Fusarium* |

### 1.2.1 Aflatoksinlerin kimyasal yapısı

Aflatoksinler, "difurokumarolakton" ve "difurokumarosiklopentenon" diye iki farklı grup şeklinde sınıfa ayrılmıştır. Aflatoksinlerin, aflatoksin B1, B2, G1 ve G2 olmak üzere dört en temel türü bulunur (Şekil 1.1). İnce tabaka kromatografisi ile incelendiğinde, uzun dalga boyu UV ışığı altında aflatoksin B1 ve B2 'nin mavi renk, aflatoksin G1 ve

G2'nin ise yeşil floresan vermesinden dolayı bu şekilde isimlendirilmiştir. (Özkaya ve Temiz 2009).

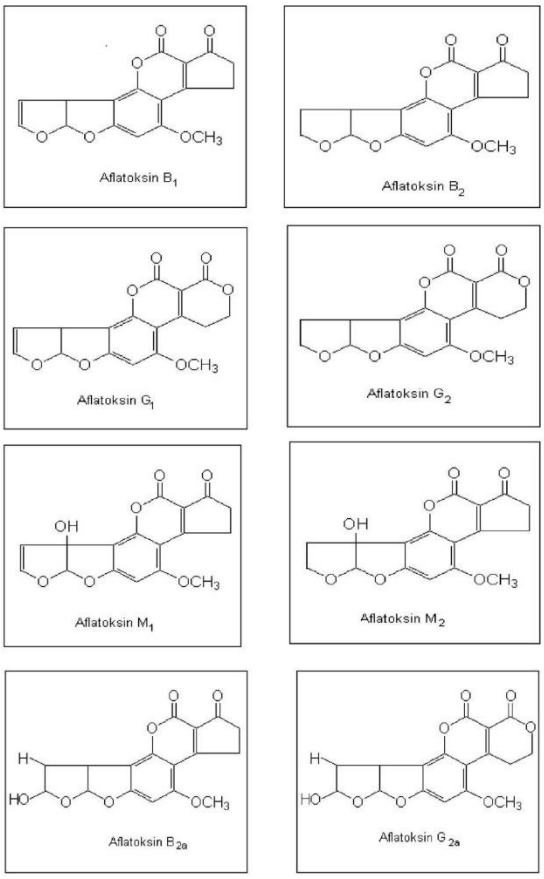



**Şekil 1.1** Aflatoksinlerin yapılarının görünümü (WHO)

Toksik etki gösteren *A. flavus* türleri ve aflatoksin ile bulaş gösteren ürünler üzerindeki biyolojik aktivitelerden aflatoksin B1 ve AFB1 e göre daha az sorumlu olan aflatoksin G1'dir (Şekil 1.1).

Aflatoksin B1'in dihidro türevi B2, aflatoksin G2 de G1'in dihidro türevidir. Metabolik olarak B1 ve G1'e okside olmadıklarında "in vivo" şartlarda biyolojik olarak aktif değildirler. Bu aflatoksinlerden farklı olarak aflatoksin M1 ve aflatoksin M2 şeklinde adlandırılan önemli iki aflatoksin türü daha bulunur. M mikotoksinleri aflatoksinle kontamine olan yemle beslenen laktasyon devresindeki memeli hayvanların sütlerinden izole edilmiştir (Özkaya ve Temiz 2003). İnce tabaka kromatografisinde bu toksinler, UV ışığı altında mavi floresan verir ve B grubu toksinlerinden daha düşük Rf değerlerine

sahip olmaları sebebiyle ayrılırlar. Aflatoksin B1 ve B2'nin hidroksi türevleri Aflatoksin M1 ve M2 dir. Aflatoksin M2 aynı zamanda dihidro-aflatoksin M1'dir (Şekil 1.2) (Özkaya ve Temiz 2003).




**Şekil 1.2** Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapısı (Özkaya ve Temiz 2003)

Aflatoksinler, metanol, kloroform ve başka organik çözücü içerisinde çözünebilmektedir. Fakat suda bulunan çözünürlükleri düşüktür (10-30 µg/mL). Toksinler, UV ışığını (362 nm) yüksek şekilde absorbe ederler ve AFB1 ve AFB2 için 425 nm de floresan emisyonu oluştururlar; aflatoksin G1 ve G2 için ise floresan emisyonu oluşturmaları 450 nmdir. Gıda ve yemlerde bulunan aflatoksinler sabittir fakat düşük (3'den az) ya da çok yüksek pH'larda (10'dan büyük), oksijen olan ortamda ve okside edici ajanlarla UV ışığına maruz kaldıklarında aktivasyon özelliklerini hızlı bir şekilde yitirirler (Özkaya ve Temiz 2009).

### 1.2.2 Aflatoksinlerin toksisitesi

Yüksek miktar dozda aflatoksinler akut toksisiteye, sub-letal miktar dozda ise kronik zehirlenmeye neden olmaktadırlar (Bullerman 1979). Aflatoksinlerle düşük dozlarda düzenli olarak kontamine ürün tüketimi, pek çok hayvan üzerinde yapılan denemeler sonucunda karsinojen etki ile sonuçlanmıştır. Aflatoksin B1, Aflatoksin türleri içerisinde (AFB2, AFG1, AFG2) en yüksek toksisiteyi göstermektedir (Hsieh et al. 1977). Hayvanların birçoğu tüketmiş oldukları ürünler sebebiyle aflatoksinlerden etkilenmektedir. Fakat hayvanların gösterdikleri duyarlılık türden türe göre farklılık göstermektedir. Aynı tür içerisinde genç bireyler yaşlı olan bireylere göre daha hassastır. Ayrıca zehir etkisi, kontamine ürünün tüketimine ve zamanına, canlının türüne ve özelliklerine, cinsiyetine, sağlık koşullarına ve beslenme şekillerine göre değişmektedir (Bullerman 1986).

Hayvanlar üzerinden örnek verecek olursak civciv, piliç ve ördek yavruları en duyarlı olanlar hayvanlardır. Bu hayvanlardan sonra yavru hindi, sülün palazı, tavuk ve bıldırcınlar gelmektedir (Smith 1997). Memeli hayvanlar içerisinde aflatoksinin etkilerinden sırasıyla; 3-12 haftalık domuz, gebe domuz, yetişkin domuz, sığır ve koyun etkilenir. Köpekler ve alabalıklar da aflatoksinin etkilerine karşı hassas canlılardır (Özkaya ve Temiz 2009).

Aflatoksinlere yüksek dozlarda maruz kalındığında akut zehirlenmeye sebep olurlar. Hayvanlarda görülen akut aflatoksikozisin klinik bulguları arasında; iştahsızlık, kilo kaybı, nörolojik bozukluklar, sarılık ve ölüm vardır. Aflatoksine yüksek dozda maruz kalmış canlılarda karaciğer renginin açılması ya da bütünüyle renksizleşme ve yağ birikimi belirgin bir şekilde görülür (Bullerman 1979).

Aflatoksinlerin akut toksisitesi deney hayvanlarında yukarıda anlatılan biçimlerde gözlemlendiği gibi, insanlar üzerinde akut zehirlenmeye neden olduğunu gösteren olaylar da literatür kayıtlarına geçmiştir. 26 kişi Tayvan'da küflenmiş pirinç tüketerek hastalanmış ve 26 kişinin arasındaki 3 çocuk, karın ağrısı, kusma, karaciğerde büyüme ve ayaklarda ödem oluşması sonucunda vefat etmiştir. Pirinç üzerinde yapılan analiz

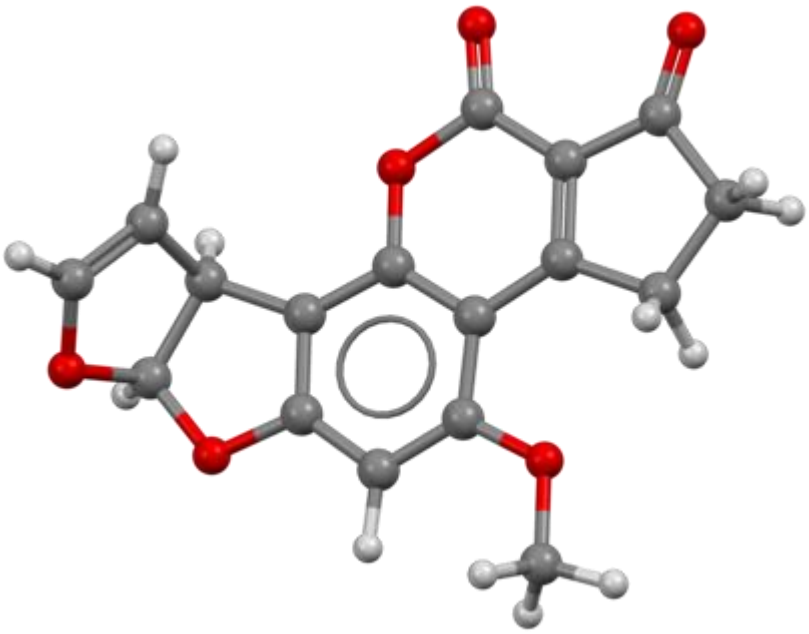
sonucunda 200 ppb aflatoksin B1 tespit edilmiştir (Bullerman 1979). Uganda'da bir çocuk, Tayvan'da bulunan çocuklarda görülen belirtilere benzer belirtiler göstererek vefat etmiş ve bu çocuğun da yediği "cassava" analizinde 1.7 ppm aflatoksin içerdiği belirlenmiştir. Çocuğun patolojik bulguları incelendiğinde akciğer üzerinde ödem, kalp sorunu, karaciğer üzerinde nekroz ve yağlanma durumu görülmüştür. Diğer iki çocuk daha hastalanmış fakat ''cassaya''dan tükettikleri için hayatta kalmışlardır. Tayland'da da 3 yaşınlarında bir bebek "Reye's sendromu" sonucu hayatını kaybetmiş ve çocuğun tükettiği pirincin 10 ppm miktarda aflatoksin içerdiği tespit edilmiştir. 1974'de Hindistan ülke sınırları içerisinde, 15 ppm kadar yüksek seviyede aflatoksin içeren kontamine mısırı tüketen 320 kişiden 80 kişisi vefat etmiş ve bu oran %25'e denk gelmektedir (Pohland 1993). Fakat bu miktar da yüksek bir bulaş görülme olasılığı düşüktür (Polhand 1993). Yapılan araştırmalarda, çocuklar üzerinde hipoglisemi ve kusma, kıvranma, çırpınma ve koma sonucunda çoğu kez de ölümle sonuçlanan Reye's sendromu ile aflatoksin tüketimi arasında ilişki olabileceği araştırmalarda ileri sürülmektedir (Bullerman 1986).

Aflatoksinler, sub-letal dozlarda kronik etkiler göstermektedir. Düşük seviyede fakat uzun vadeli aflatoksin alımı ise pek çok deney hayvanı üzerinde incelendiğinde karaciğer problemleri olduğu görülmektedir (Bullerman 1979). Hayvanlardan elde edilen bu sonuçlara bağlı olarak aflatoksin grubu mikotoksinlerin güçlü bir hepatokarsinojen durumun görülmesi sonucunda, insanlar üstündeki etkiyi tespit etmek için birçok etiyolojik çalışma yapılmıştır. Asya ve Afrika kıtasının farklı ülkelerinde yapılan bu araştırmalarda; karaciğer kanseri görülme sıklığı ile aflatoksinle bulaş gösteren gıdaların tüketilme seviyeleri arasında güçlü bir bağ gözlenmiştir (Wilson 1978). Yapılan çalışmalar hepatokarsinojenik etmen olan hepatit B virüsü enfeksiyonunun önemsenmediği gerekçesi ile ilgili tartışma ortamı yaratılmıştır (Ueno 1985). Fakat son senelerde yapılan çalışmalarda, aflatoksinin insanlar üzerinde karaciğer rahatsızlıklarına sebep olduğu yönünde önemli veriler elde edilmiştir (Öztürk 1995).

Aflatoksin B1'in karsinojen ve mutajenitik etkileri metabolizmanın işlevleri sonucunda ortaya çıkmaktadır. Aflatoksinler, hayvan üzerinde ilk olarak mikrozomal ve sitoplazmik enzimler aracılığıyla metabolize edilir. Bu enzimler, karaciğerin endoplazmik retikulumu içerisinde bulunan, sitokrom ile ilişkili, $O_2$'ye ve NADPH'a bağlı enzimlerin karışık bir

oluşumudur. Enzim sistemleri, farklı hidroksillenmiş türlerinin ve yüksek reaktif yapısına sahip epoksid metabolitin oluşumuyla sonuçlanan aflatoksin B1'in metabolizmasını katalize etmektedir (Ueno 1985).

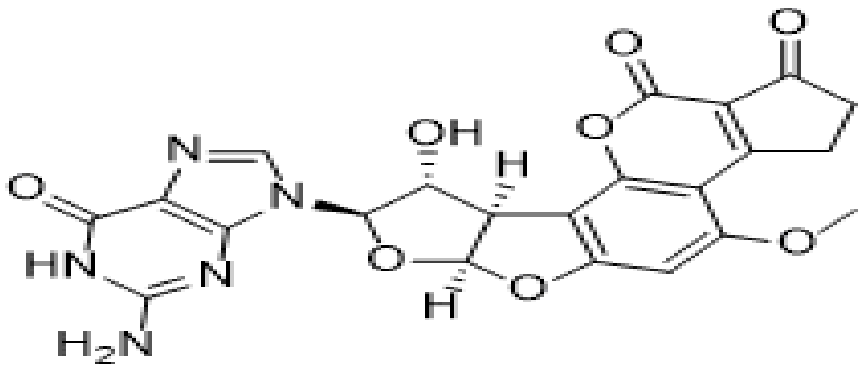
Aflatoksin M1 önceden de anlatıldığı üzere, Aflatoksin B1'in türevlerinden bir tanesidir ve karsinojenik etkisi Aflatoksin B1'in etkisinden 10 kat daha düşük seviyededir. Mikrozomal hidroksilasyon ve demetilasyon tepkimeleri sonucunda meydana gelen aflatoksin Q1 ve P1 metabolitleri de aflatoksin B1'e göre aktifliği daha az düzeydedir. Bu nedenle bu tepkimeler, detoksifikasyon prosesi olarak tanımlanır (Özkaya ve Temiz 2003). Metabolizma üzerinde AFB1'in detoksifikasyonu; 4 hidroksillenmiş metabolitlerin sülfat ve glukuronik asitle biraraya gelerek, suda çözünebilen sülfat veya glukuronid esterlerine dönüştükten sonra vücuttan idrar ve safra aracılığıyla atılmasıyla süreç tamamlanmaktadır. Bu olaylar üzerinde asıl önemli olan proses, yine bu enzimler ile oluşan, aflatoksin B1'in mikotoksininin epoksidasyonu prosesidir (Şekil 1.3). Bu yapıda, bifuran halkasında bulunan çift bağın epoksidasyonu sonucunda reaktif bir şekil oluşmaktadır (Özkaya ve Temiz 2003).



**Şekil 1.3** AFB1 molekül yapısı

Elektrofilik epoksid Deoksiribonükleik Asit (DNA), Ribonükleik Asit (RNA) ve protein gibi yapısal makromoleküldeki farklı nükleofilik merkezlerine kovalent şekilde tutunabilir. AFB1'in epoksi şeklinin bu aktif hale gelme tepkimesi neticesinde DNA ile bir araya gelerek AFB1-N7-Gua bileşiğini oluşturmaktadır (Şekil 1.4) Bu bileşik organizmalar ya da hücre türleri için biyolojik bir tehlike durumunda görülmekte, karsinojenik ve genotoksik etkilerin nedeni olarak görülmektedir (Ueno 1985). Kenya'nın karaciğer kanseri ile aflatoksin B1 alımı arasında olumlu yönde bağlantının görüldüğü bir bölgede hastalardan elde edilen idrar örneklerinde AFB1-N7-Gua bileşiği belirlenmiştir (Groopman and Kensler 1988).

Bu epidemiyolojik çalışmalar, genetiksel ve deneysel veriler neticesinde, Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu (IARC; International Agency for Research on Cancer) aracılığıyla 1993 senesinde yapılmış sınıflandırmada, AFB1 "yeterli kanıt elde edilmiş insan karsinojenleri (sınıf 1)", Aflatoksin LM1 de "olası insan karsinojenleri (2B sınıfı)" olarak belirtilmiştir (Smith 1997). Avrupa Birliği'nin "Gıda Maddelerinde Bazı Kontaminantların Maksimum Düzeylerini Belirleyen Komisyon Direktifi"nde; öncelikle AFB1'in etkileri ve aflatoksin çeşitlerinin genotoksik karsinojen etkileri olduğu, bu sebeple NOEL (No Observable Effect; gözlenebilir etki oluşturmayan düzey) ve ADI (Acceptable Daily Intake; kabul edilebilir günlük alım miktarı) değerine sahip olmadığı belirtilmiştir. (Smith 1997).



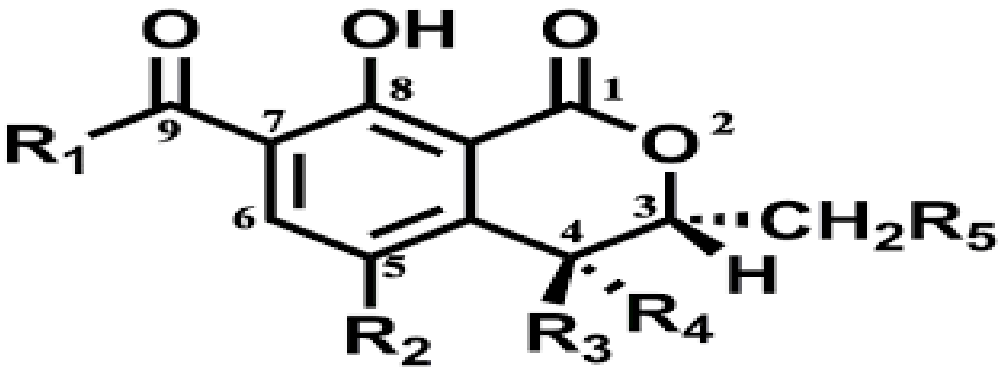

**Şekil 1.4** AFB1-N7 -Guanil kompleksi (Girgin vd. 2001)

## 1.3 Okratoksinler

Okratoksinler, *Aspergillus albertensis, Aspergillus wentii, Aspergillus auricomus, Aspergillus nigervar, Aspergillus ochraceus, Aspergillus melleus, Aspergillus alliaceus, Aspergillus ostianus, Aspergillus sclerotorium, Aspergillus sulphureus ve Penicillium viridicatum (P. verrucosum*) küfleri tarafından üretilen mikotoksinlerdir (Steyn and Stander 1999). Okratoksin mikotoksini 1965 senesinde Van der Merwe et al. Keşfedilmiş ve üreten küf olduğundan bu ismi almıştır (Büyüker 2019). Gıda ürünlerinde sık olarak rastlanılan okratoksinlerin en fazla tanınanı ve zehirli olan metaboliti okratoksin A (OTA)'dır. OTA tahıllarda çok görülen bir mikotoksin çeşididir (Özkaya ve Temiz 2003). Mısır, arpa, buğday gibi ürünlerde ve hayvansal kaynaklı gıdalarda OTA kontaminasyonu görülebilmektedir. Yapılan çalışmalarda anne sütünde de OTA'nın tespit edilmiş olması toksinin kontamine gıdalarla alınabildiğini göstermektedir (Özkaya ve Temiz 2003). Okratoksin A'yı, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) "Grup 2B" muhtemel karsinojen olarak tanımlamıştır. OTA doğrudan olmayan yollarla etkileri ortaya çıktığından epigenetik karsinojen olarak da adlandırılmaktadır (Han et al. 2013).

### 1.3.1 OkratoksinA'nın kimyasal yapısı

Okratoksin çeşitleri içerisindeki zehir etkisi en yüksek metabolit OTA'dır. Kimyasal ismi; L-fenilalanin-N-[[5-kloro-3,4 dihidro- 8 hidroksi -3-metil-1 okso-1H-2-benzopiran-7-il] karbonil]- [R]-isokumarindir. Okratoksin A ve türevlerinin kimyasal yapıları Şekil 1.5'de gösterilmektedir (Büyüker 2019)




**Şekil 1.5** OTA ve türevlerinin kimyasal yapısı (Büyüker 2019)

Okratoksin A ile ilgili olarak pek çok metabolit tanımlaması yapılmıştır. Okratoksin A'nın dekloro analoğu okratoksin B [OTB], etil ester yapılısı okratoksin C, izokumarik yapıda olan okratoksin α (Otα) ve onun dekloro analoğu okratoksin β(OTβ) dir. Çizelge 1.2' de bazı Okratoksin A ve çeşitleri görülmektedir (El Khoury and Atoui 2010)

**Çizelge 1.2.** Bazı OTA türevi metabolitlerin karakteristik oluşumu (Büyüker 2019)

| İSİM | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 |
|---|---|---|---|---|---|
| Okratoksin A | Fenilalananin | CI | H | H | H |
| Okratoksin B | Fenilalananin | H | H | H | H |
| Okratoksin C | Etil ester, Fenilalanin | CI | H | H | H |
| Okratoksin A metilester | Metil ester Fenilalananin | CI | H | H | H |
| Okratoksin B Metilester | Metil ester Fenilalananin | H | H | H | H |
| Okratoksin B Etilester | Fenilalananin Etil-ester | | H | H | H |
| Okratoksin α | OH | CI | H | H | H |
| Okratoksin β | OH | H | H | H | H |
| 4RHidroksiokratoksin A | Fenilalananin | CI | H | OH | H |
| 4sHidroksiokratoksin A | Fenilalananin | CI | OH | H | H |
| 10Hidroksiokraoksin A | Fenilalananin | CI | H | H | OH |

Okratoksin A, su içerisnde çözünebilen renksiz ve kristalize yapıda asidik özelliği zayıf olan bir bileşiktir (Büyüker 2019). OTA ultraviole (UV) ışık tutulduğunda asitin yüksek olduğu durumda yeşil, alkali özelliği yüksek ortamlarda ise mavi renkte floresans verir. OTA asitli ya da nötür pH' değerlerinde polar çözücü çeşitlerinde (etanol, metanol, ksilen ve kloroform gibi) iyi çözünme gerçekleştirir. Doymuş hidrokarbonlarda ve petrol eterinde çözünme gerçekleştirmez. Okratoksin A'nın sabit hal durumunda kalma özelliğinin yüksek olduğu bilinmektedir. OTA mikotoksinleri sıcaklığın yüksek olduğu ve asitlik durumunun yüksekliğine karşı dirençlidir. Bu sebeple Okratoksin A mikotoksini ile kontamine olmuş yiyecekler, ürünler ve hayvansal yemlerden Okratoksin A'nın uzaklaştırılması iş ve işlemleri zordur (Han et al. 2013).

### 1.3.2 Okratoksin üreten küf çeşitleri

Penicillium ve Aspergillus, okratoksin üretiminde görev almaktadırlar. *Aspergillus ochraceus* OTA üretimi gerçekleştirmede ilk olduğu için daha önemli konumdadır (Frisvad et al. 2004). 2004 senesinde Okratoksin A oluşturan özellikleri benzer bir tür daha keşfedilmiş ve *Aspergillus westerdijkiae* olarak adlandırılmıştır (Büyüker 2009). Diğer senelerde yapısal olarak benzerlik gösteren küf çeşidi *Aspergillus Steynii* tanımı yapılmıştır (Gil-Serna et al. 2011). Bu küf çeşitlerinin *Aspergillus ochraceus*'dan oran olarak çok daha fazla Okratoksin A üretmiş olduğu belirlenmiştir. Aspergillus türleri içersinde *Nigri* sekşını *A. carbonarius* önemli OTA üreticilerindendir.

### 1.3.3 Ota toksisitesi

Memeli canlıların büyük bir bölümünde OTA nefrotoksik etki göstermektedir (Castegnero et al.1998). Deney hayvanları ile kontamine gıdalar ile üzerine yapılan araştırmalar OkratoksinA'nın hepatotoksik, teratojenik, nefrotoksik, immünosupresif, genotoksik, hücre ölümlerine ve lipid peroksidasyonunu artırdığını göstermektedir (Kussak et al. 1995). OkratoksinA'nın akut zehirlenme durumu hayvanın cinsine, özelliklerine ve tükettikleri toksin miktarıyla bağlantılıdır. İntraperitoneal yolla alınan OTA'nın ağızdan alımlardan daha toksik olduğu bildirilmektedir. Birden fazla hayvan türünde OTA ilk olarak böbrekler olmak üzere toksik etki gösterir (Marquardt and Fronlich 1992).

OkratoksinA, tüm memeliler hayvanlarda ve yaşamını kümeslerde geçiren hayvanlarda akut düzeyde ve kronik lezyonlara neden olacak seviyede toksindir. Hayvanlar ve insanlar üzerinde bu zehirin böbreklere özellikle etki ettiği bilinmekle beraber pek çok çalışmada toksik maddenin çeşitli organlara ve sistemlere (karaciğerler, sinir ve immün sistemler) etki ettiği görülmüştür (Şengül vd. 2015). Sıçan ve farelerle üzerinde yapılan bazı çalışmaların sonuçlarında erkekler karşı cinsle karşılaştırıldığında OkratoksinA'nın etkilerine daha duyarlı olduğu ve hassasiyet üzerinde cinsiyetin etkisinin görüldüğü bildirilmiştir (Mor vd. 2014). Laboratuvar hayvanlarının OTA ile

kontamine olmuş yemler ile beslenmeleri durumunda hayvanlar üzerinde organ lezyonlarına sebep olmasının yanında süreç içerisinde tümör oluşumun meydana geldiğini ortaya konulmuştur (Şengül vd. 2015). Düşük seviyede Okratoksin A'ya maruz kalan sıçan türleri ve fareler üzerinde yapılan araştırmalarda kansere sebep olduğundan, Okratoksin A'nın böbreklerde tümör oluşturduğu ve erkeklerde dişilere göre görülme sıklığının yoğun olduğu tespit edilmiştir. Erkeklerde görülen yüksek böbrek tümörü oranının nedeni hala bilinmemektedir (Bendele et al. 1985). OTA elde edilen veriler incelendiğinde, Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü tarafından, insan üzerinde potansiyeli yüksek kanserojen madde (Grup 2B) sınıfında tanımlanmıştır.

Okratoksin A pek çok hayvanın üzerinde immunotoksik, nörotoksik ve nefrotoksik etkilere sahiptir. Okratoksin A, akut düzeyde ve subakut düzeyde toksisitesini pek çok çeşitli mekanizma aracılığıyla meydana getirebilmektedir. Membran peroksidasyon hızının artması, mitokondrial solunumu engellemesi, kalsiyum dengesinin bozulmasına ve DNA üzerinde bozukluklar meydana getirmesi belli başlı etkilerindendir (Ringot et al. 2005). Ayrıca fenilalanin metabolizma üzerinde bozulmaya, fosfoenol purivat karboksikinaz enzim miktarında azalma, karbonhidrat üzerinden yağ üretim miktarında azalmaya ve DNA sentezi fonksiyon bozukluklarının görülmesine sebep olmaktadır (Brien et al. 2001). Okratosin A oluşumu, çeşitli besin kaynaklarında (havyan yemlerinde, baklagil, hububat ve bitki bazlı ürünler) toksinin üretimini gerçekleştiren küf sayılarının artmasına bağlıdır. Okratoksin A bitkisel kökenli ürünlerden mısır, arpa türleri, buğday, yulaf, baklagil, fıstık ve karışık yemler içerisinde görülen en önemli mikotoksinlerden birisi olarak tanımlanmaktadır. Hayvanların tükettiği yemlerin, saklama koşullarının yerine getirilmemesine bağlı olarak yüksek seviyelere çıkan toksik madde miktarı, bu yemleri tüketen büyükbaş ve küçükbaş hayvanlar üzerinde verim kayıpları, gelişim eksikliği ve toksik madde alımına bağımlı ölümlere ve dolayısı ile ekonomik açıdan kayıp yaşanmasına sebep olmaktadır (Hamilton et al. 1982). Okratoksin A'nın çiftlik canlıları üzerinde en önemli etkileri böbrek üzerindedir ve pek çok ülkenin (Norveç, İsveç, Finlandiya, Danimarka, Polonya, ve Macaristan) ticari üretimini yaptığı domuzlarda görülen nefropati rahatsızlıklarının ilk sebebinin yem tüketimi ile maruz kalınan Okratoksin-A olduğu düşünülmektedir (Elling et al. 1985).

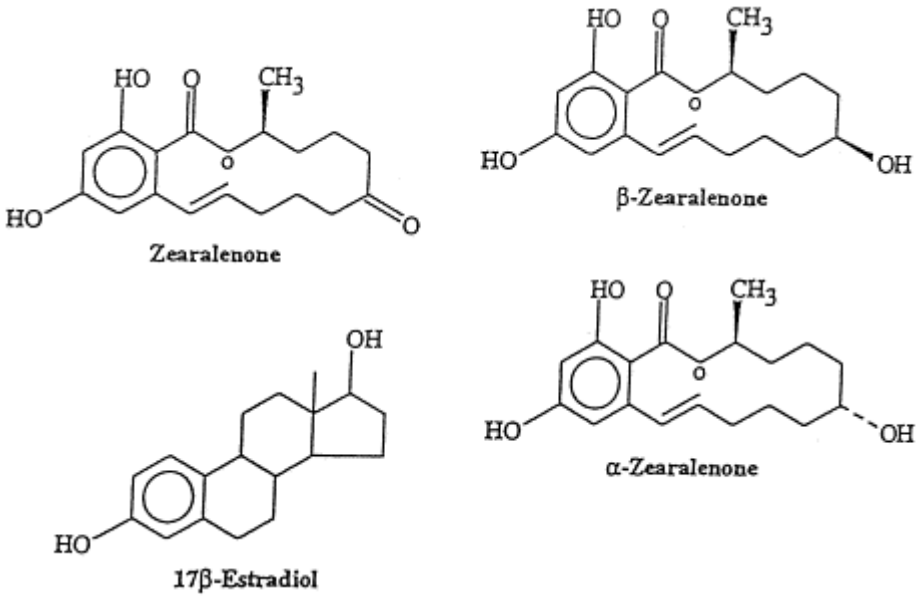
Hayvan yemlerinde ve türevlerinde OTA ile kontamine olma durumu görülüyor olmasından dolayı ve kontamine olmuş yemleri tüketen hayvanların ürünleriyle insanlara geçebilecek olması sebebiyle, besi hayvanları üzerinde Okratoksin A miktarının tespiti için pek çok ülkede çalışma yapılmıştır. Fransa ve İngiltere' de doğal yöntemlerle beslenme gerçekleştiren domuzlara ait böbrek yapıları incelendiğinde Okratoksin A miktarı 0,2-2,3 ve 0,5-5 µg/kg olarak tespit edilmiştir (Dragacci et al. 1999). Avrupanın geneli üzerinde domuz böbrekleri üzerinden alınmış örneklerin %21-42'sinde Okratoksin A tespit edildiği ve böbrekler üzerinde Okratoksin A'nın da 1-100 µg/kg arasında değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (Şengül vd. 2015). Aynı çalışmalarda, organlar üzerinde tespi edilen Okratoksin A miktarları kıyaslandığında, Okratoksin A'nın genellikle böbrekler ve karaciğer de yüksek miktarda görüldüğü ve diğer organlarda görülen miktarın daha düşük olduğu ortaya konmuştur. OTA Mikotoksini miktarlarının deney hayvanları üstündeki etkilerinin tespit edildği bir çalışmada, 1,4 ppm miktarda toksin verilen deneklerin sürekli idrar yapma, susuzluk, besin alınımında ve gelişim oranında düşüş olduğu bildirilmiştir (Hald 1991). Günlük 1,0 ppm Okratoksin A verilen deney hayvanlarında, 14. günün sonunda kilogram artışında azalma, depresif bozukluklar, bağırsak ve böbrek rahatsızlığı olduğu belirtilmiş ayrıca 2,0 ppm Okratoksine maruz kalan deney hayvanlarında, 15. Günün başlangıcıyla birlikte pıhtılaşma sorunu olduğu görülmüştür (Kap 2002). Okratoksin A, hayvansal tüketim malzemeleri (yumurta, süt, et gibi) ve bitkisel ürünlerin (biralık arpa, buğday unu kuru üzüm, türk kahvesi, ve nişasta) tüketilmesi ile insanlar vücuduna geçtiği görülmektedir. İnsan vücudunun katlanabileceği Okratoksin A'nın haftalık alım miktarı, JECFA tarafından deneklerden elde edilen verilere göre 1991 senesinde 114 ng/kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiş, 1995 senesinde alım miktarı 100 ng/kg olarak güncellenmiş ve 2001 senesindeki toplantı da oranının geçerliliğinin devam ettiği onaylanmıştır. (Şengül vd. 2015)

## 1.4 Zearalenone

Fusarium spp.'nin sentezlediği zeralenone (ZEA) mısırın, arpanın, yulaf ve buğdayın sıcak ve ılık iklime sahip bölgelerinde görülen doğal kontaminantıdır (Şekil 1.6) *Fusarium roseum* 'un ürettiği ZEA için 24-27°C ve 12-14°C aralığında iki farklı sıcaklık

aralığı alternatifi vardır. Ayrıca, mantar gelişimi esnasında ortamın sıcaklığının 12-14 °C'nin altına düşmesi toksin maddenin sentez hızını arttırmaktadır. Sıcaklığın düşük olması enzimin aktivasyonunun gerçekleşmesi için ön koşuldur ancak aktive olan bir enzim sıcaklığın artışı gerçekleşse dahil toksin üretebilmeye devam etmektedir.

Zearalenonla kontamine olmuş yemleri yiyen hayvanların et, süt ve yumurtalarına Zearalenon kalıntıları geçmektedir (Meronuck and Xie 1990). ZEA'nin yüksek hızda gastrointestinal kanalda emilimi gerçekleşerek, konjuge olduğu glukronik asit ile birlikte hızlı bir biçimde atılarak α-ZEA, β-ZEA, α-zeralenol (ZAL) ve β-ZAL'a metabolize edilir (Visconti and Pascale 1998).




**Şekil 1.6** Zearalenon ve türevlerinin kimyasal yapıları

Tüketilen yemler aracılığıyla 1,3 mg/kg seviyesinin üstünde ZEA alımına maruz kalan süt üreten hayvanların metabolizmalarının etki gördüğü ve mikotoksinin süt içeriğinde görüldüğü bildirilmiştir. Görülen mikotoksin çesidinin soğutma, dondurma, kaynatılma, pişirme işlemi ve pastörizasyon süreci sonunda hala etkisiz hale getirilemiyor olması riskin boyutlarını ve görülebilecek olumsuz sonuçları daha da arttırmaktadır (Özkaya ve Aşkın 1994).

Denekler üzerinde yapılan araştırmalar ZEA'nın farklı toksik etkilerini ortaya koymuştur. Östrojenik etki gösteren zearalenonun yem üzerinde görülme düzeyi ile hayvanların gösterdiği semptomlar arasında olumlu ilişki vardır. Az seviyede zearalenon içeren yemlerle beslenen dişilerin vulva ve memelerde ödem, kızgınlık belirtileri ve fertilite bozukluğu görülmektedir. Kanatlı hayvanlar zearalenon'a en dirençli gruptur (Özkaya ve Aşkın 1994). Fakat yem üzerinde tespit edilen 100 ppm zearalenon miktarları dahi yumurta üreten tavuklara olumsuz etki etmemektedir. ZEA östrojenik etkileri nedeniyle çocuklar üzerinde 7-8 yaşlarında erken puberteye girmeye sebep olur (Salem 2003). İn vivo üzerinde, Fusarium kaynaklı mikotoksinler yumurtlama bozukluğu, foliküler büyümede bozukluklar ve atreziye sebep olur. İn vitro olarak mikotoksin çeşitleri, germ hücrelerinde artışı engelleyerek ve oositlerin olgunlaşma sürelerini ve steroid üretimi özelliklerini etkileyerek değiştir ve yumurtalık üzerinde direk olarak olumsuz etkilere neden olur (Topçu vd. 1999). Etkilenen çocukların kan plazmalarında yapılan çeşitli çalışmaların sonucunda zeralenon ve derivatlarının etkileri meydana çıkmıştır. F-2 toksini erkeklerde normal testis gelişiminin inhibe edilmesine, östrojenizasyona ve kadınlarda yalancı gebeliğe sebep olur (Abdel et al. 1993). Ayrıca kadınlarda servikal kanserlerin ve erkeklerde prostat kanserlerinin etiyolojisinde bir hayli önemli görevleri bulunmaktadır (Uçkun ve Yıldız 2003).

ZEA'nın bir toksik madde olduğu ve her ortamda bulunabildiği düşünüldüğünde yalnızca fazla dozlarda ya da sürecin uzun olduğu zamanlarda emilimi evcil memeli hayvanlar için potansiyel tehlike arz etmektedir. Koyun türleri, sığırlar ve domuz üzerinde fiziksel gelişimin arttığı gözlenmiştir; ancak görülen bu etki, toksinin insanlar üzerinde östrojenik reseptörler üzerinde olan olumsuz argonistik etkileri sebebiyle büyük tehlikelere neden olacağından önemi tartışılmaktadır (Topçu ve Tayfur 1999).

## 1.5 Trikotesenler

Trikotesenler grubu içerisinde sindirim sistemi toksini olarak da tanımlanan mikotoksinlerin birçoğu bulunmaktadır. *Trichothecium roseum*'dan ilk olarak trikotesen 1848 yılında izole edilmiştir (Meronuck and Xie 1990). Trikotesenler, Fusarium türlerinin ilk sıraları aldığı bilinmekte olup daha düşük boyutlarda *Myrothcium,*

*Verticimonosporium* ve *Stachybotyrs* türleri tarafından sentezlenen sekonder metabolitlerdir. *F. sporotrichioides, F. equeseti, F. graminearum, F. trinictum*'in bazı türleri T-2 mikotoksinlerini ve diğer trikotesen çeşitlerini üretirler. Diasetoksiskirperol (DAS), deoksinivalenol (DON), nivalenol (NIV) T-2 ve HT-2 toksinler bu grup içerisinde bulunan önemli mikotoksin çeşitleridir (Şekil 1.7). Zehirlilik durumları sıralaması T-2> DAS> DON> NIV şeklindedir. Gıda maddeleri üzerinde sıkça DON mikotoksinine rastlanır (Sabuncuoğlu 2008).

Ekim yapılan alanlarında bütün tahıllar T-2 ve benzeri toksinleri üreten Fusarium çeşidi mantarlarla kolayca kontamine olabilir. Toksin gelişimi ve bulaş görülmesi genelde uygunsuz depo ortamları ve ürünleri saklama şartlarında gerçekleşir. Özellikle hasadı geç yapılan tahıl türlerinde, sert geçen sonbahar mevsiminde küf oluşumu ve T-2 ile kirlenme oranı artmaktadır (Meronuck and Xie 1990).

Trikotesenler oral yol ile alındığında sindirim kanalından ve paranteral yollar üzerinden hızlıca emilimi gerçekleşir ve vücudun tamamına yayılırlar. Bahsettiğimiz bu mikotoksinlere öncelikle karaciğer, böbrek, safra, safra kesesi ve bağırsaklar üzerinde ve bütün dokularda rastlanılır. Emilimi gerçekleşen trikotesenler vücut dışına idrar ve dışkı, salya ve süt içerisinde atılır (Ayaz ve Yurttagül 2008). Trikotesenlerin bilinen en toksik etkisi lökositlerde görülen belirgin azalışla tanımlanan "Alimentary Toxic Aleukia" (ATA) rahatsızlığıdır. T-2, yüksek toksik etkiye sahip trikotesendir. En fazla küf oluşumu gerçekleşmiş tahıl ürünlerini tüketen hayvanlarda ve aç kaldıkları zamanlarında bu tahılları tüketen insanlar üzerinde zehirlenmeler görülmüştür.

Trikotesen çeşitleri içierisinde 80'in üstünde karakterize edilen türü bulunmasına karşın (Deshpande 2002), bu türlerin sadece birkaçı tahıl ve tahıl ürünleri üzerinde doğal bulaşan olarak bulunur (Mateo et al. 2002). Trikotesenle A grup, B grup, C grup ve D grup tipi olmak üzere 4 farklı alt gruba sahip olup (Placinta et al. 1999) son senelerde yapılan çalışmalarda bu gruplara E grup ve F grup tipi daha katılmıştır (Deshpande 2002). 6 farklı grup bulunmasına rağmen, genellikle A ve B grup tipi trikotesenlere rastlanmaktadır. A grup trikotesenler; T-2 ve HT-2 toksini, neosolanioli (NEO), diacetoxycirpenoli (DAS) oluştururken, Trikotesen B ise; deoksinivalenol (DON,

vomitoksin), 3 acetyl-deoksinivalenol (3-ADON) ve 15 acetyl-deoksinivalenol (15-ADON), nivalenol (NIV) ve fusarenon-X mikotoksinlerini oluşturmaktadır (Placinta et al.1999). A tipi trikotesenlerin, Trikotesen B den farkı 8. C atomunda karbonil fonksiyonel grubu bulunmamakta ve bu farklılıktan dolayı da UV absorbsiyonu yöntemi ile tespiti yapılamamaktadır (Mateo et al. 2002). A tipi trikotesenler yüksek oranlarda etil asetat, kloroform, aseton ve dietil içeren eterde çözünme eğilimi gösterirken, B tipi trikotesenler daha fazla polariteye sahip olup asetonitril, metanol ve etanol'de çözünme oranları yüksektir (Deshpande 2002).

Fusarium mikotoksinleri de akut zehirlenme ve kronik zehirlenme aktivitelerine sahiptir. Trikotesenler fusariotokzikozis, alimentary toxic aleukia, ve memeli hücrelere karşı sitotoksik aktivite içerisinde olduğu bildirilmektedir. Bağışıklık sistemi üzerinde trikotesenlerin zıt yönde toksik aktivite gösterdiği ve protein sentezi için inhibitör görevi gördüğü üstünde durulmaktadır.

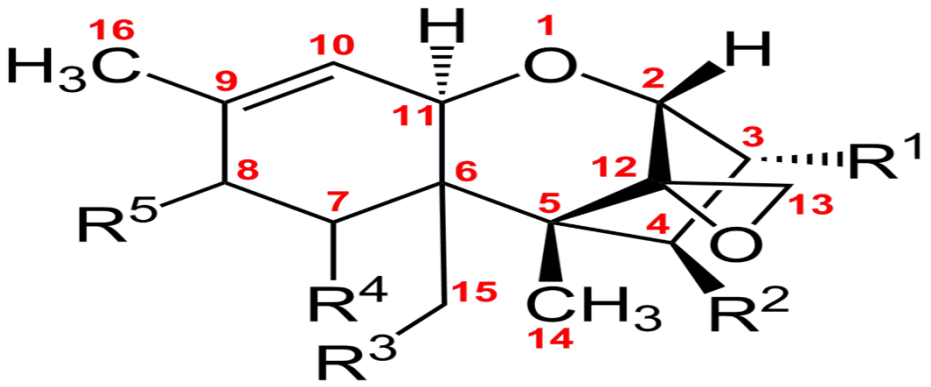
Fusarium toksinlerden dünyada en ağırlıklı olarak rastlanan B tipi trikotesenlerden DON mikotoksinidir. DON tarım ürünleri üzerinde indikatör etki gösteren toksin olarak da isimlendirilmektedir. DON mikotoksini öncelikle *F. graminearum* (*gibberellazeae*) ve *F. culmorum* küf çeşitleri tarafından oluşturulmakta olup, ilk sırada buğday gelmek üzere yulaf, çavdar, pirinç, mısır ve arpa gibi farklı tahıllarda olumsuzluklar oluşturmaktadır (Creppy 2002, Prange et al. 2005). Bu küflerin buğday üzerinde "Gibberella koçan çürüklüğü" ile "Fusarium başak yanıklığı" hastalığına sebep olduğu belirtilmektedir. Coğrafi dağılımına bağlı olarak bu iki tür farklılık göstermekte, *F. graminearum*'un iklim olarak sıcaklığın yüksek olduğu şartlarda sorun oluşturduğu söylenmektedir. *F. culmorum* ve *F. graminearum* 'un ideal sıcaklıkları sırasıyla 21°C ve 25 °C'dir.

Tahıl ve tahıl ürünleri üzerinde DON ile bulaş gösterme riskini tespit etmek amacı ile yapılan araştırmada, 11444 buğdayın analizi sonucunda %57'sinde 1-5700 mg kg-1 oranında, 834 yulafın analiz sonucunda %68'inde 4-760 mg kg-1, 5349 mısır örneğinin analizi sonucunda %41'inde 3-3700 mg kg-1, 295 çavdarın analizi sonucunda % 49 'unda 13-240 mg kg-1 662 arpa örneği incelendiğinde % 59'unda 4-9000 mg kg-1 ve 154

pirinç numunesi analizinde % 27'sinde 6-5100 mg kg-1 aralığında değişim gösteren miktarlarda DON mikotoksini tespit edilmiştir (Kabak ve Var 2005). Başka bir araştırmada, Almanya'da bulunan değirmenler ve gıda ürünleri satışı gerçekleştiren noktalarından alınan toplam 60 adet buğday unu çeşidinin %98'inde DON, %38 'inde ZEA, %12 'sinde NIV, %7'sinde HT-2, %3 'ünde 15-ADON ve %2 'sinde 3-ADON toksin türü olduğu tespit edilmiştir (Schollenberger et al. 2002).

Ülkemizde bu konu üzerinde yapılan bir çalışmada, Çukurova yöresinde 2002-2003 seneleri arasında hasadı yapılan 73 adet mısır ve 43 adet buğday örneklerinden oluşan 116 örneğin analizi sonucunda 37 örnek üzerinde 36.2-627,6 mg kg-1, 31 örnek üzerinde 6.44-43,2 mg kg-1 T-2 toksin ve 25 örnek üzerinde ise 20 -2540 mg kg-1 DON ve aralıklar arasında farklılık gösteren ZEA mikotoksini saptanmıştır (Gürsoy ve Biçici 2003). Farklı bir çalışmada benzer yöntemle, İstanbul ilimizde bulunan pazar ile marketlerden alınan toplam 83 bakliyat ve hububat örneği üzerinde yapılan araştırmada hububat örnekleri üzerinde %8,8 'de DON mikotoksini görülürken bakliyat örnekleri üzerinde DON mikotoksinine rastlanmamıştır (Beyoğlu ve Omurtag 2003).

DON mikotoksini akut düzeylerde alındığında kusma ve kilogram kaybına, düşük seviyelerde maruz kalındığında gelişim üzerinde ve yem tüketim miktarında azalmalara sebep olduğu çeşitli denekler ve çiftlik hayvanları ile üzerinde yapılan araştırmalar neticesinde tespit edilmiştir. DNA, RNA ve protein sentezi üzerinde DON mikotoksininin inhibe edici özelliği olduğu dile getirilmektedir (Şekil 1.7) Denekler üzerinde yapılan araştırmalarda DON mikotoksininin mutajenik ve kanserojenik etkileri olduğu ile alakalı bir veri elde edilememiştir. Fakat DON mikotoksininin farklı çalışmalar da nöroloji ve immun sistem üzerinde toksik etkileri rapor edilmiştir (Anonymous 1999).




| R1 | R2 | R3 | R4 | R5 |
|---|---|---|---|---|
| **DON** | OH | H | OH | OH |
| **NİVALENOL** | OH | OH | OH | OH |
| **DİACETOXYSCİRPENOL** | OH | $OA_C$ | $OA_C$ | H |
| **T-2 TOKSİN** | OH | $OA_C$ | $OA_C$ | H |
| **NEOSOLANiOL** | OH | $OA_C$ | $OA_C$ | H |

**Şekil 1.7** Trikotesenlerin Kimyasal Yapıları (Sweeney and Dobson 1999)

## 1.6 Fumonisinler

Fusarium cinsi mantarların metaboliti olan Fumonisinler genelde mısır bitkisini kontamine eden bir mikotoksin çeşitlerinden biridir. Fumonisine ait B1 (FB I), B2 (FB2), B3 (FB3), B4 (FB4), Al (FAl) ve A2 (FA2) diye altı farklı türevi mikotoksin üzerinde yapılan çalışmalar ile izole edilerek yapıları aydınlatılmıştır. Bu türevlerden olan FB1 ve FB2'nin kimyasal yapıları Şekil 1.8'de görülmektedir. 1988 senesinde fumonisinin türevleri olan FB1 ve FB2 izole edilerek tanımlanmıştır (Oelderblom et al. 1988). Fumonisinlerin N-asetil türevleri FA1 ve FA2'dir. Fumonisinler, Trikotesen familyasına ait mikotoksinler olarak *Fusarium vertillicoides* ve *Fusarium proliferatum* türü fungusların metabolitleridir. Bu türlerin beraberinde *Fusarium napiforme*, *Fusarium anthophilum*, *Fusarium nygamai* ve *Fusarium dlamini*, gibi türler FB1 üretebilir (Anonymous 2000). *F. Vertillicoides*, 28°C üstündeki sıcaklıkta çok iyi gelişim gösterir. Kuraklık ve insekt stresi başaklarda küflenmeye ve fumonisin birikimine neden olur. Adaptasyon bölgesinin dışında da hibritler gelişebilir (Miller 2001). Arjantin, Avusturya, Botsvana, Brezilya, Bulgaristan, Çin, Kanada, Mısır, Fransa, Almanya, Macaristan,

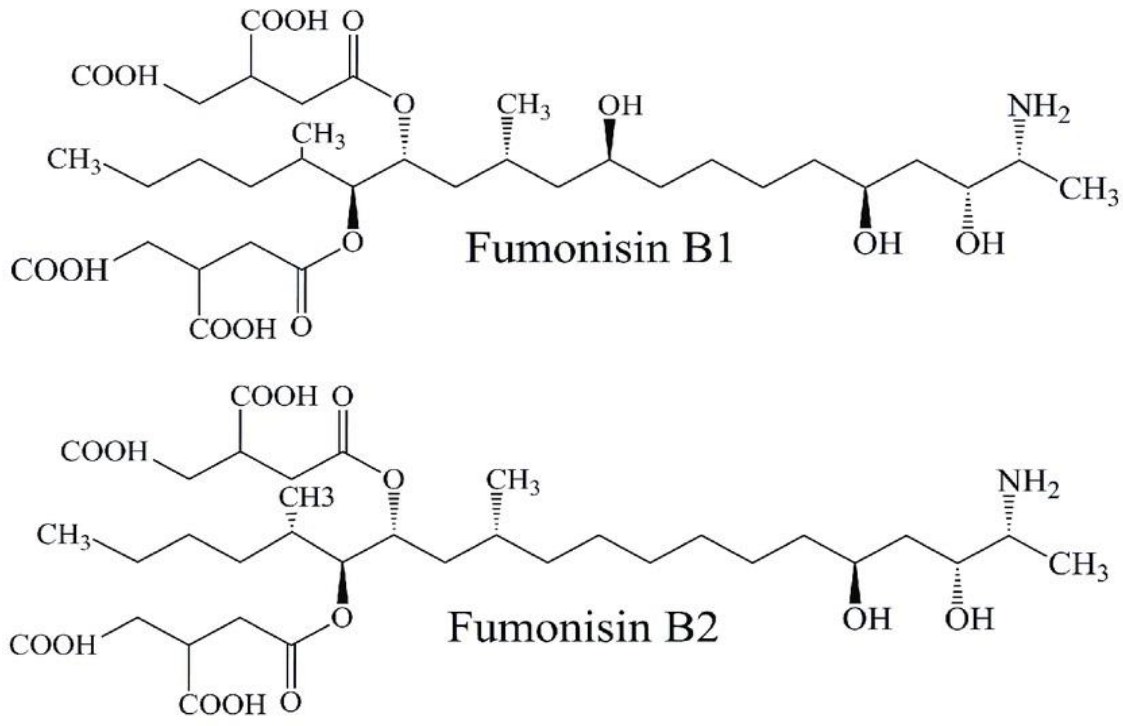
Hindistan, İtalya, Japonya, Kenya, Nepal, Yeni Zelanda, Peru, Polonya, Güney Afrika, İsviçre, İngiltere, Amerika, Venezuela ve Zimbabve gibi dünyanın çeşitli bölgelerindeki ülkelerde fumonisinlerin doğal olarak oluştuğu belirtilmiştir (Marasas 1996, Saraçoğlu ve Ergun 2003). Kontamine olmuş örneklerin çoğunda, total fumonisin miktarının yaklaşık %70'ini FBI, %20'sini FB2 ve %10' unu da FB3 oluşturur (Howard et al. 2002). Fumonisinler en fazla mısır ve mısır ürünlerinde bulunmaktadır (Marasas 1996). Darı, kuşkonmaz, pirinç, bira, fasulye, siyah çay gibi besinlerde ve papatya, portakal yaprağı, ıhlamur çiçeği gibi tıbbi bitkilerde de fumonisin bulunduğu bildirilmiştir (Martins 2001, Creppy 2002). FB 1 ve FB2 doğada en çok bulunan türevler olması sebebiyle toksik etkileri üzerine araştırmalar bu iki türev üzerine yoğunlaşmıştır (Şekil 1.8). FB1 atlar üzerinde lökoensefalomalasine (LEM), domuz ve türleri üzerinde pulmoner ödem gelişimine sebep olmaktadır (Marasas et al. 1988, Haschek et al. 1992).

1989-1990 senelerinde fumonisin ile bulaş göstermesine bağlı olarak Amerika'da bulunan atlar arasında LEM ve domuzlar arasında pulmoner ödem salgınları görüldüğü bildirilmiştir (Marasas 1996). Böbrekler ve karaciğerle üzerinde etkili olan FB1, organlarda kanser oluşumuna neden olmaktadır (Gelderblom et al. 1991). Çin üzerinde ve Güney Afrika bölgelerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalar fumonisin türevleri ile bulaş gösteren ürünlerin besin maddesi olarak alımında bölgenin özefageal seviyesi ve hepatosellüler karsinoma insidansının arttığını göstermektedir (Wang 2000, Li et al. 2001, Chelule et al. 2001). Uluslararası kanser araştırmaları ajansı 1993 senesinde *F. Moniliforme*'nin ürettiği toksinleri 2B grubu karsinojenik ürünler sınıfı içerisinde gruplandırarak insanlar üzerinde etkileri meydana gelebilecek olası karsinojen maddeler olarak değerlendirmiştir.

FB1'in memeli hücrelerinde sitotoksik (apoptoz ve nekroz) etkisi vardır ve sfingolipid biyosentezinin inhibisyonuna neden olur (Marasas 1996). FB1'in mikotoksinler içinde en az genotoksik etkili bileşik olduğu ve hedef hücrelerdeki sinyal iletim yollarını bozarak kanseri indüklediğine inanılırken, son senelerde yapılan çalışmalar FB1'in de DNA hasarına yol açabileceğini göstermektedir (Galvano et al. 2002). FBl'e maruz kalan farelerde beslenme yetersizliği ve vücut ağırlığında azalma görülür (Bondy et al. 1997, Carratu et al. 2003).

FBl 'e yüksek dozda akut maruziyet insanlarda abdominal ağrı, borborigmi ve diare ile karakterize gastrointestinal bozukluklara neden olur (Bhat et al. 2010). Aflatoksin BI, FB1 tarafından indüklenen hepatokarsinom gelişimini artırırken (Pozzi et al.2001, Gelderblom et al. 2002) deoksinivalenol ve T2 toksini arasında sinerjistik bir etkileşme gözlenmemiştir (Kubena et al. 1997). Diasetoksiskirpenol ve okratoksin A da hindilerde FB1 ile toksik sinerjistik etki göstermemiştir (Kubena et al. 1997).

Fumonisin türevlerinin bitkiler üstünde de toksik etkileri vardır. FB 1'in Datura stramonium bitkisinin hızla ölümüne, domateste sfinganin birikimine bağlı nekrotik semptomlara, Lemna minar bitkisinin gelişiminin yavaşlamasına ve klorofil sentezlerine yeteneğinin azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (Marasas 1996, Norred et al. 1996).




**Şekil 1.8** FB1 ve FB2 nin kimyasal yapıları

Sonuç olarak mikotoksinlerin bulundukları ortamlarda kontamine olmuş yemlerle beslenen hayvanların sağlığı dolaylı olarak da bu hayvanların ürünlerini tüketen insanların sağlığını etkilenmektedir. Hayvan ve insan sağlığının olumsuz yönde etkilenecek olması sebebiyle Çankırı ilinde kullanılan hayvan yemlerindeki mikotoksin

tespit çalışması planlanmıştır. Mikotoksinlerle bulaş olan hayvan yemlerinin tüketilmesinin süreç içerisinde neden olduğu toksisite ve potansiyel sağlık sorunları, hassas ve sağlam analitik metod ve analiz yöntemlerine ihtiyaç duyulmasını gerektirir.

Mevcut yöntemler arasında elektron yakalama ve gaz kromatografisi, gaz kromatografisi ile kütle spektrometrisi ölçümü (GC/MS) yöntemi bulunmaktadır. Sıvı kromatografisi-kolondan türetme ve floresan algılama sonrası, hızlı atom bombardımanı ile sıvı ile kromatografi kütle spektrometrisi (LC/MS-FAB) ve sıvı kromatografi tandem kütle spektrometrisi (LC/MS/MS) enstrümantasyon yöntemi bulunmaktadır.

# 2 MATERYAL VE YÖNTEM

Çankırı ili Merkez ve Kızılırmak ilçesinden büyükbaş hayvancılık ile uğraşan çiftçilerimizden hayvanlarına düzenli olarak verdikleri yemlerden numune toplanıldı. Örnekleri alırken çiftçilerimizin elinde bulunan ve yeni açtırdığımız yem torbalarından bir küçük kürek yardımı ile her örnekte kürek alkolle dezenfekte edilerek rastgele örnekleme yapıldı. Aldığımız her yem örneğinin torbası üzerinde bulunan tanıtım kartlarındaki marka ve cins bilgileri kayıt edildi. Alınan yem örnekleri analiz için Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığına bağlı İstanbul İli Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğüne götürmek üzere hazırlanıldı. Yem örneklerinin sıvı kromatografi kütle spektrometresi LC/MS-MS (Simadzu LCMS-8040) cihazında analizi gerçekleştirilmiştir. Yemlerin analiz sonucunda oluşan veriler Yemlerde İstenmeyen Maddeler Hakkında Tebliğ (2014/11) de belirtilen limitlere göre değerlendirildi.

**Çizelge 2.1** Mikotoksinlerin tebliğe göre üst limitleri (Yemlerde istenmeyen maddeler hakkında tebliğ 2014/11)

| **İstenmeyen maddeler** | **Hayvan yemi olarak kullanılan ürünler** | **Kabul edilebilir en çok miktar mg/kg (ppm) (% 12 rutubet içeren yeme göre)** |
|---|---|---|
| (1) | (2) | (3) |
| 1.Aflatoksin B1 | 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 |
| 2. Çavdar mahmuzu (Rye Ergot) | Yem maddeleri ve öğütülmemiş tahıl içeren karma yemler | 1000 |
| 3. Deoxynivalenol | Yem maddeleri:<br>-Mısır yan ürünleri hariç tahıllar ve tahıl yan ürünleri<br>-Mısır yan ürünleri | <br>8<br>12 |
| | Aşağıdakiler dışında tam ve tamamlayıcı yemler:<br>-Domuz tam ve tamamlayıcı yemleri<br>-Kuzu, oğlak ve 4 aydan küçük buzağı tam ve tamamlayıcı yemleri | 5<br>0,9<br>2 |
| 4. Zearalenone | Yem maddeleri:<br>-Mısır yan ürünleri hariç tahıllar ve tahıl yan ürünleri<br>-Mısır yan ürünleri | <br>2<br>3 |
| | Tam ve tamamlayıcı yemler:<br>-Domuz yavruları ve genç anaç domuz tam ve tamamlayıcı yemleri<br>-Anaç domuz ve besi domuzu tam ve tamamlayıcı yemleri<br>-Buzağı, süt ineği, kuzu dahil koyun ve oğlak dahil keçi tam ve tamamlayıcı yemleri | <br>0,1<br><br>0,25<br>0,5 |
| 5. Ochratoxin A | Yem maddeleri:<br>-Tahıllar ve tahıl ürünleri | <br>0,25 |
| | Tam ve tamamlayıcı yemler:<br>-Domuz tam ve tamamlayıcı yemleri<br>-Kanatlı tam ve tamamlayıcı yemleri | <br>0,05<br>0,1 |
| 6. Fumonisin (B1+B2) | Yem maddeleri:<br>-Mısır ve mısır ürünleri | <br>60 |
| | Tam ve tamamlayıcı yemler:<br>-Domuzlar, tektırnaklılar, tavşanlar ve ev ve süs hayvanları<br>-Balık<br>-Kanatlılar, kuzular, oğlaklar ve 4 aydan küçük buzağılar<br>-4 aydan büyük yetişkin gevişgetiren hayvanlar ve vizon | <br>5<br>10<br>20<br>50 |

Çalışmada test metodumuz iki aşamadan oluşmaktadır.

**Numune hazırlanması;** Numunenin ekstraksiyonu, saflaştırılması ve zenginleştirilmesi işlemleri.

**Mikotoksin tespiti;** LC-MS/MS ile analizin yapılması

**1.** Her bir yem örneğinden rastgele alınan miktarda yemleri ilk olarak blenderda öğütüldü. (Şekil 2.1)




**Şekil 2.1** Yemlerin öğütülme aşamaları

**2.**Blender işlemi sonrası öğütülerek homojen hale getirilen yem örneklerinden 4'er gram tartıldı. (Şekil 2.2).




**Şekil 2.2** Yemlerin ölçümlerinin yapılmasından görünüm

**3.** Alınan her yem örneği 50 mL'lik santrifüj tüpüne aktarıldı. Tüp içindeki örneğin üzerine 20 ml ekstraksiyon çözeltisi (%80 Metanol+%2 Asteikasit) eklenip, 30 dk vorteks karıştırıcıda karıştırılma işlemini başlatıldı (Şekil 2.3).



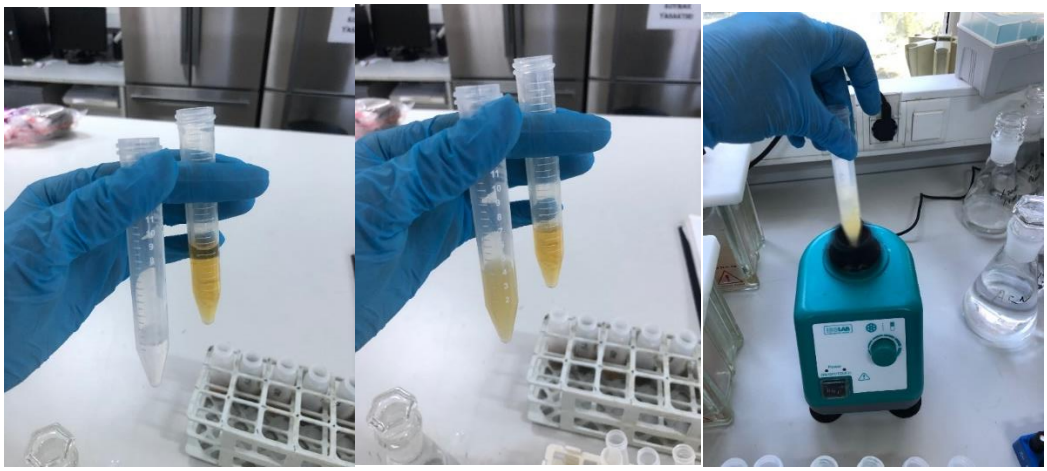
**Şekil 2.3** Yemlerin santrifüj cihazında hazırlanmasından görünüm

**4.** Örnekler daha sonra 10000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. (Şekil 2.4).



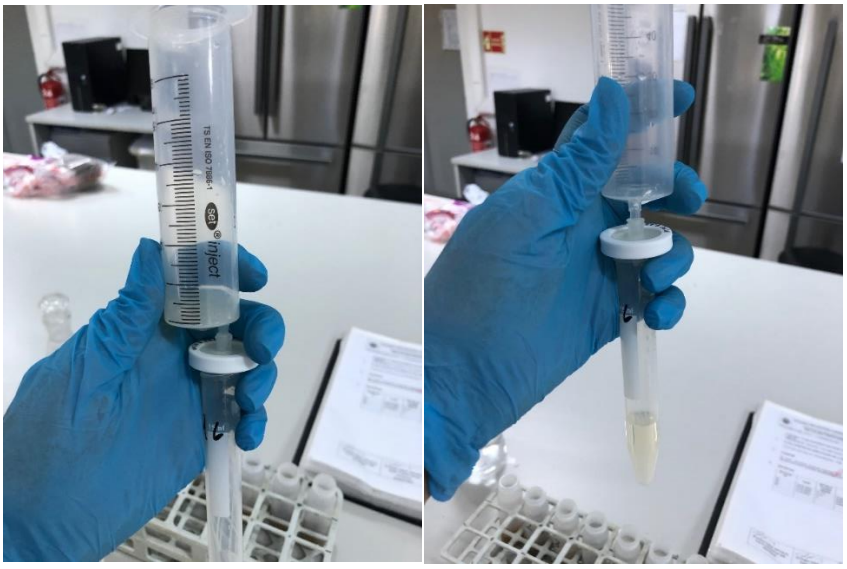

**Şekil 2.4** Yemlerin santrifüj edilmesinden görünüm

**5.** Santrifüj sonrası süzülen ekstrakt su, 1/1 oranda seyreltme sıvısı eklenerek (%20 Metanol + 2 Asetikasit karışımı) seyreltildi (Şekil 2.5).



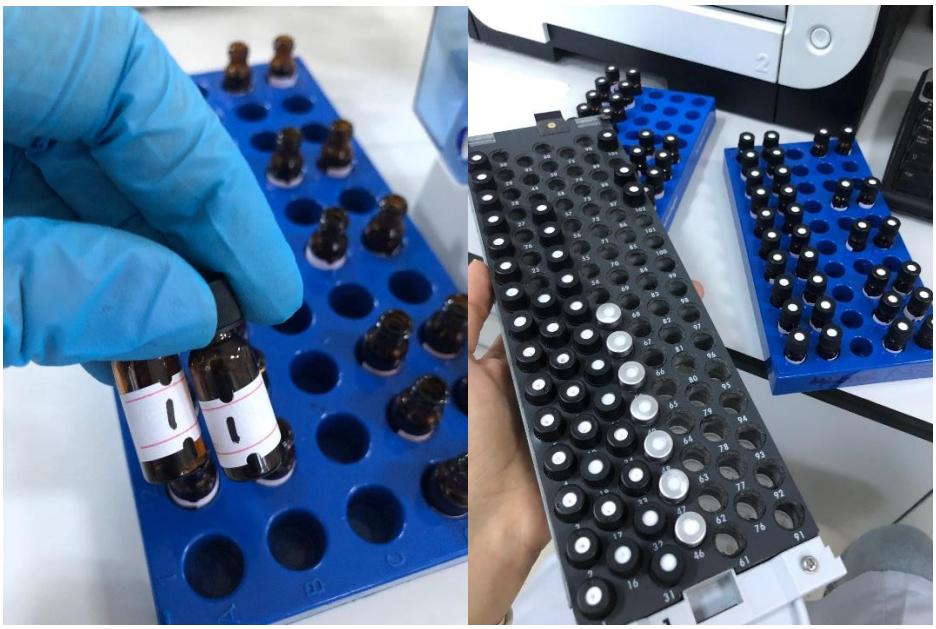
**Şekil 2.5** Yemlerin seyreltilme işlemlerinden görünüm

**6**. Bulanıklık görülen örnekler numune enjektörene takılan 0.45 mm filtreden süzme işlemini gerçekleştirerek HPLC flakonuna alındı (Şekil 2.6).



**Şekil 2.6** Yem numunelerinin enjektörde süzülme işlemlerinden görünüm

**7.**Etiketleme işleminden sonra LC-MS/MS sistemine 10 µL enjeksiyon yapıldı (Şekil 2.7).



**Şekil 2.7** Yem örneklerinin etiketlenmesinden görünüm

**Çizelge 2.2** LC-MSMS cihazında yapılan analizlerde ortalama mikotoksin teşhis limitleri

| **Aflatoksin** | | | | **OTA** | **FB1** | **FB2** | **HT-2** | **T-2** | **ZEA** | **DON** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **G2** | **G1** | **B2** | **B1** | | | | | | | |
| 0,54 | 0,5 | 0,44 | 0,44 | 0,54 | 70 | 30 | 10 | 6 | 11 | 24 |

MS parametreleri, bir şırınga pompası aracılığıyla 0,5 ml/dakika akış hızında ayrı mikotoksin infüzyonu ile optimize edildi. Kurutma gazı sıcaklığı, nebulize edici gaz basıncı ve kurutma gazı basıncı gibi elektrosprey iyonizasyon parametresi, akış enjeksiyonu ile optimize edildi. İncelenen 11 mikotoksinin tamamının tespiti için iyi bir ayırma ve hassasiyet sağlayan bir LC-MS/MS yöntemini kullanıldı.

Elde ettiğimiz LC–MSMS kromatogramları üzerinden cihazda var olan programın kalibrasyonu incelenerek numunelerimize ait sonuçların değerlendirilmesini yapıldı. Kullanmış olduğumuz yöntem ile çok bileşenli yöntemin performansı, bu uygulamada tek seferde aynı örnek üzerinde 11 farklı mikotoksin için mükemmel sonuçlarla kanıtlanmıştır.

# 3 BULGULAR VE TARTIŞMA

Toplamış olduğumuz 32 farklı büyükbaş yem örneğini Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi (LC-MS/MS), sıvı kromatografisinin (HPLC) kütle spektrometrisinin (MS) kütle analizi yeteneklerini ve fiziksel ayırma yeteneklerini bir araya getiren analitik bir kimya tekniği ile analiz ettik. Analiz sonucunda elde 32 farklı yem örneğimizi (Çizelge 3.1) 11 farklı mikotoksin türü yönünden teşhis limitleri doğrultusunda mikotoksinler ile kontamine olma durumunu değerlendirdik. Yem örneklerimiz büyükbaş hayvanlar için kullanılan pelet diye adlandırılan kuru yemlerden ve 3 örneğimiz ise çiftçilerimizin kendi hazırladıkları karma (arpa-yulaf karışımı) yemlerden oluşmaktadır. 29 Yem örneğimiz farklı firmaların paketli olarak sattığı ürünlerden oluşmuştur (Çizelge 3.1).

Pelet yem kuru yeme göre daha avantajlı olarak kabul edilmektedir. Tarım ve hayvancılık çalışmalarında gelişmiş durumda bulunan ülkelerde ve hayvancılığın doğru şekilde yapıldığı bögelerde her bir pelet tanesi aynı besin değerini içermesi, vitamin ve mineral değerlerini daha iyi muhafaza etmesi. hayvanların yerken daha az yem saçması, depolama ömrü daha uzun olması, nedeniyle pelet veya granül yem tercih edilmektedir. Pelet yemler hazırlanması esnasında ısıya maruz bırakıldıkları için daha hijyeniktirler ve üzerlerinde hastalık bulundurma riskleri yoktur. Toz yemler üzerinde bulaşıcı hastalıklar (şap, brusella vb) görülme riskini bulunmaktadır. Pelet yemler ile toz yemler karşılaştırıldığında pelet yemler hayvanın işkembesinde uzun süre bulunur ve hayvanın yemin özelliklerinden daha fazla yararlanmasını sağlar. Pelet yemlerin üretim aşamlarında yeme uygulanan ısıl işlemlerden dolayı yemin sağladığı enerjiden yararlanma miktarı daha yüksektir. Toz yemlerin taşıma ve kullanım şekillerinden kayanklı meydana gelen israf miktarı pelet yemlere yüksektir. Bu sebeplerle pelet yem kullanımı uygundur.

Çizelge 3.1 incelendiğinde 32 yem örneğimizin 14 örneği tamamlayıcı, 3 örneği büyütme, 5 örneği geliştirme, 7 örneği besi ve geriye kalan 3 yem örneğimiz arpa-yulaf karışımından oluşmaktadır. Arpa-yulaf kırması olarak tüketilen yem çiftçiler tarafından

hazırlanmıştır. Diğer yem türleri farklı firmaların paketli olarak sattığı ürünlerden oluşmuştur.

**Çizelge 3.1** Yem örneklerinin türleri ve örnek sayısının dağılımı

| **Yem Türleri** | **Yem Örneği Sayısı** |
|---|---|
| Tamamlayıcı Yem | 14 |
| Büyütme Yemi | 3 |
| Geliştirme Yemi | 5 |
| Besi Yemi | 7 |
| Karışım ( Arpa-Yulaf) | 3 |
| Toplam | 32 |

Çalışmamızda kullanılan Tamamlayıcı yem, 5-6 aylık yaştan büyük besi danalarının kas ve iskelet sisteminin gelişmesini teşvik eden ve kaliteli protein, vitamin ve mineral maddelerce zenginleştirilmiş özel besi yemidir. Farklı firmalardan bu yem örneğinden 14 adet toplanmıştır. Yem örneklerimizin hepsinde analizi sonucunda en az bir mikotoksin kontaminasyonu saptanmıştır.

Tamamlayıcı yemlerde en yüksek oranlarda Fumonisin grubuna rastlanmıştır. En yüksek oran 19 numaralı tamamlayıcı yem de Fumonisin B1 (755,914) ve B2 (126,048) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3.2) Okratoksin ise en yüksek 8 numaralı tamamlayıcı yemde 17,506 ppm olarak saptanmıştır. HT-2 (8,615) ve T2 (1,853) ise en yüksek 23 numaralı örnekte tespit edilmiştir (Çizelge 3.2). Zearalenone en yüksek oranda 614,520 ppm ile 10 numaralı örnekte görülmüştür. Çizelge 3.2 incelendiğinde Aflatoksin grubunda ise B1 (14,999) oranında en yüksek 19 numaralı örnekte rastlanmıştır. B2 ise sadece 2 örnekte çıkmış ve en yüksek oranda (1,157) 19 numaralı örnek olmuştur. G1 ise sadece 23 numaralı tamamlayıcı yem örneğinde 0,251 olarak tespit edilmiş ve tebliğde belirtilen limit değeri geçmemiştir. Aflatoksin grubu G2 ise hiçbir örnekte tespit edilmemiştir

Örnek 9 ve Örnek 19 da tespit edilen AFB1 hayvan yemlerinde istenmeyen maddeler tebliğinde belirtilen limitin üzerinde çıkmıştır. Örnek 10 da görülen Zea mikterı da limitte belirtilenin üzerindedir (Çizelge 3.2). Bu yemlerin kullanımı hayvanlar için uygun değildir. Bu yemlerde tespit edilen limitin diğer yemlerden daha yüksek olması yemleri

aldığımız çiftçilerin yemleri saklama koşullarının uygun olmamasından kaynaklanıyor olabilir.

**Çizelge 3.2** Tamamlayıcı yem numunelerinin LC-MSMS sonuçları; (ppb)

| Tam. yem No | Aflatoksin | | | | OTA | Fumonisin | | HT-2 | T-2 | ZEA | DON |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | G2 | G1 | B2 | B1 | | B1 | B2 | | | | |
| 1 | - | - | - | - | 1,311 | 144,569 | 31,893 | 5,063 | 1,498 | 36,784 | - |
| 2 | - | - | - | - | 0,223 | 74,371 | 7,356 | 3,232 | 1,269 | 56,216 | - |
| 3 | - | - | - | 0,186 | 1,289 | 88,942 | 11,050 | 2,829 | 1,412 | 50,827 | - |
| 5 | - | - | - | - | 1,909 | 161,305 | 24,893 | 3,669 | 0,632 | 7,268 | - |
| 8 | - | - | - | 0,628 | 17,506 | 227,389 | 66,516 | 1,340 | 0,722 | 2,034 | - |
| 9 | - | - | 0,666 | 13,533[1] | 1,965 | 644,579 | 102,405 | - | - | 2,516 | - |
| 10 | - | - | - | - | 4,268 | 265,444 | 55,938 | - | 1,732 | 614,520 | - |
| 12 | - | - | - | - | 1,631 | 117,292 | 12,846 | 2,350 | 1,777 | 66,535 | - |
| 17 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 19 | - | - | 1,157 | 14,999 | 2,335 | 755,914 | 126,048 | - | - | 1,643 | - |
| 21 | - | - | - | - | 1,883 | 146,628 | 30,487 | 3,509 | 0,878 | 25,525 | - |
| 22 | - | - | - | 0,890 | 1,875 | 287,812 | 61,991 | 3,066 | 0,515 | 2,900 | - |
| 23 | - | 0,25 | - | 0,685 | 11,209 | 299,769 | 54,594 | 8,615 | 1,853 | 3,709 | - |
| 29 | - | - | - | - | 0,679 | 6,489 | 1,201 | 1,442 | 0,202 | 1,684 | - |

[1] Not: Kırmızı ile yazılan örneklerde tespit edilen mikotoksin miktarı tebliğde belirtilen limitin üstündedir.

Yem örneklerimiz içerisinde 14 tane olan tamamlayıcı yem örneklerimizi incelediğimizde bu yemlerin genellikler birden fazla mikotoksin türü ile kontamine olduğu görüldü. Tamamlayıcı yem örneklerimizin 0-8 aralığında farklı mikotoksin ile kontamine olmuştur (Çizelge 3.3). Bu yem örneklerimizin Aflatoksin G2 ve Deoxynivalone ile hiçbiri kontamine olmamıştır. Tamamlayıcı yemlerimizin Aflatoksin G1 den etkilenme durumu incelendiğinde 14 örnekten sadece 23 numaralı örneğimizde bulaş tespit edildiği görülmektedir (Çizelge 3.3). Yine bu 14 örneğimizden 9 ve 19 numaralı örneklerin AFB2 ile bulaş oldukları görüldü. AFB1 ile kontamine olan örnek sayımız ise AFG1 ve AFB2 den daha fazla olduğu tespit edildi. 3,8,9,19,22 ve 23 numaralı örneklerimiz incelendiğinde AFB1 ile bulaş oldukları görüldü. Çizelge 3.3 incelendiğinde örnek 17 dışında kalan tamamlayıcı yem örneklerimizin hepsinin OTA, FB1, FB2 ile kontamine oldukları analiz sonuçlarımızda görülmektedir. Tamamlayıcı yemlerimizin tamamına yakınında görülen bu kontamine olma durumu bu yemler ile beslenen hayvanların ve bu hayvanların ürünlerini tüketecek olan canlıların sağlıklarını süreç içerisinde olumsuz olarak etkileyecektir (Çizelge 3.3). 17 numaralı yem örneğimiz hasat öncesi ve sonrasında uygun şartlar sağlanarak bulaş yönünden temiz kalmış olduğu düşünülmektedir

Çankırı merkez ilçe ve Kızılırmak ilçelerinden toplamış olduğumuz bu tamamlayıcı yemlerin OTA, FB1 ve FB2 ile kontamine olma durumları bölgede bu mikotoksinlere sebep olan Aspegillus ve Fusarium funguslarının aktif olduğunu düşündürmektedir.

Fusarium funguslarının sebep olduğu HT-2, T-2, ZAE, DON mikotoksinleri ile tamamlayıcı yemlerimizin bulaş durumlarını incelediğimizde DON ile hiçbir yem örneğimiz kontamine olmadığı görüldü (Çizelge 3.3) 17 numaralı örneğimiz dışında kalan yem örneklerimiz Zearalenone ile bulaş durumundadır. 9, 17 ve 19 numaralı örneklerimizin dışında kalan 11 adet tamamlayıcı yem örneğimiz Fusariumların sebep olduğu T-2 toksini ile kontamine durumdadır (Çizelge 3.3).

Fusarium mantarlarının neden olduğu diğer bir toksin olan HT-2 ile tamamlayıcı yemlerimizin 4 örneği dışında kalan 10 örneğinin kontamine olduğu görülmüştür. 9,10,17

ve 19 numaralı örneklerimizin analizi sonucunda HT-2 ile bulaş göstermedikleri görülmüştür (Çizelge 3.3)

Tamamlayıcı yemlerimiz içerisinde bulunan 17 numaralı örneğimiz yapılan 11 mikotoksin analizi yönünden tamamen temiz çıkmıştır. Bu yemler güvenle tüketen hayvanlara verilebilir (Çizelge 3.3).

**Çizelge 3.3** Tamamlayıcı yem örneklerinde saptanan mikotoksin sayısı

| **Tamamlayıcı Yem Örnekleri** | **Saptanan mikotoksin sayısı** |
|---|---|
| ÖRNEK 1 | 6 |
| ÖRNEK 2 | 6 |
| ÖRNEK 3 | 7 |
| ÖRNEK 5 | 6 |
| ÖRNEK 8 | 6 |
| ÖRNEK 9 | 6 |
| ÖRNEK 10 | 5 |
| ÖRNEK 12 | 6 |
| ÖRNEK 17 | 0 |
| ÖRNEK 19 | 6 |
| ÖRNEK 21 | 6 |
| ÖRNEK 22 | 6 |
| ÖRNEK 23 | 8 |
| ÖRNEK 29 | 5 |

Besi yemi, besi hayvanlarına 4. Aydan besi dönemlerinin sonuna kadar ki evrede kullanılan, dengeli ve sindirimi kolay tamamlayıcı bir yem olarak üretilmektedir. Çalışmada çiftçilerimizin kullandığı 7 farklı firmaya ait besi yemi örneği numunesi alınmıştır. Aflatoksin grubu mikotoksinlerden G2, G1 ve B2 besi yem örneklerinde rastlanmamıştır (Çizelge 3.4). Ancak Aflatoksin B1 4, 25 ve 26 numaralı örneklerde tespit edilmiştir. Okratoksin tüm besi yemi örneklerinde saptanmıştır (Çizelge 3.4).

Besi yemlerinden 6 numaralı örnek 0,326 ile en düşük toksin değerini verirken en yüksek değeri (4,505) 11 numaralı besi yemi vermiştir. Fumonisin grubu bir örnekte (27nolu) teşhis limitin (70) çok altında bir değerde iken 26 numaralı örnekte teşhis limite yakın bir değer vermiştir (Çizelge 3.4). Fumonisin B1 en yüksek değeri diğer tüm örneklerde limiti

fazlasıyla aşarken 11 numaralı örnek 252,978 ppm le en yüksek değerde tespit edilmiştir. Fumonisin B2 ise teşhis limit değerinin (30) üstüne 49.613 (4 numaralı örnek) ve 53.039 (11 numaralı) değeri ile 2 örnekle çıkmıştır. En yüksek değeri 11 numaralı örnekte vermiştir (Çizelge 3.4).

HT-2 mikotoksini ise 5 örnek de (4,6,14,25,26 nolu örnek) limit değeri (10) altında olsa da saptanmıştır. Besi yemlerinden 11 ve 27 numarda hiç görülmemiştir. T2 grubu mikotoksin ise limit değer (6ppm) altında kalmış ama tüm örneklerde düşük de olsa tespit edilmiştir. Zearalenone grubu ise 3 örnekte limit değerin (11ppm) üstünde tespit edilmiştir. En yüksek 71.525 ppm ile 6 numaralı besi yeminde görülmüştür. Düşükte olsa tüm örneklerde tespit edilmiştir (Çizelge 3.4).

Besi yemi örneklerimiz analizin yapıldığı cihazın teşhis limitlerinin üzerinde ve altında sonuçlar vermesine rağmen bu limitler hayvan yemlerinde istenmeyen maddeler tebliğinde belirtilen limitlerin üzerine çıkmamıştır. Yemlerde yasal olarak sorun teşkil edecek miktar da mikotoksin tespit edilmemiştir.

Yemlerde tespit edilen mikotoksin miktarlarının tebliğde belirtilen limitlerin altında olmasına rağmen bir yem örneğinin birden fazla mikotoksin ile bulaş gösteriyor olması yemlerin uygun olmayan koşullarda depolandığını, saklandığını ya da taşıma esnasında bulaş durumu olduğunu düşündürmektedir.

**Çizelge 3.4** Besi yem numunelerinin LC-MSMS sonuçları

| Besi Yem Örnek No | Aflatoksin | | | | OTA | Fumonisin | | HT-2 | T-2 | ZEA | DON |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | G2 | G1 | B2 | B1 | | B1 | B2 | | | | |
| 4 | - | - | - | 0,238 | 1,302 | 222,696 | 49,613 | 6,066 | 0,976 | 41,686 | - |
| 6 | - | - | - | - | 0,326 | 110,640 | 12,421 | 2,729 | 1,395 | 71,525 | - |
| 11 | - | - | - | - | 4,505 | 252,978 | 53,039 | - | 2,781 | 14,105 | - |
| 14 | - | - | - | - | 1,470 | 121,546 | 19,341 | 8,965 | 1,007 | 9,831 | - |
| 25 | - | - | - | 0,842 | 1,305 | 105,923 | 18,315 | 2,716 | 0,379 | 3,489 | - |
| 26 | - | - | - | 0,168 | 1,851 | 71,905 | 14,914 | 7,998 | 0,780 | 6,905 | - |
| 27 | - | - | - | - | 1,334 | 2,842 | 7,995 | - | 0,275 | 8,519 | - |

Besi yem örneklerimizin farklı mikotoksinlerle kontamine olma durumlarını incelediğimizde tüm yem örneklerimizin 4 ve daha fazla farklı mikotoksin türü ile bulaş yönünden pozitiflik gösterdikleri görüldü (Çizelge 3.5). Bu yemlerimizin üzerinde farklı mantar türlerinin etki göstererek toksin olduğu tespit edilmiştir. Besi yemlerimizin 4 ve üzeri sayıda mikotoksinle bulaş göstermiş olmaları bu yemleri tüketen hayvanların ve bu hayvanlardan elde edilecek ürünlerin zamanla toksin barındıracağını düşündürmektedir.

4 numaralı besi yemi örneğimiz Aflatoksinler yönünden sadece AFB1 ile bulaş göstermiştir. Bu yem örneğimizin AFG1, AFG2 ve AFB2 analizleri temiz çıkmıştır. Fusarium mantarlarının sebep olduğu Fumunosin B1 ve Fuminosin B2, HT-2, T-2 ve ZAE mikotoksinleri ile kontamine olan bu örneğimizin analiz sonuçlarında DON yönünden temiz olduğu gördük (Çizelge 3.5).

Besi yemlerimizden bir diğeri olan 6 numaralı yem örneğimiz de analizini yaptırdığımı 6 farklı mikotoksin ile bulaş göstermiştir. Aflatoksin grupları yönünden temiz olan bu örneğimiz OTA, FB1, FB2, HT-2, T-2 ve ZAE mikotoksinleri ile tebliğde belirtilen limitlerin altında olmak üzere toksin görülmüştür. Trikotesenlerden olan ve Fusarium tarafından üretilen DON yönünden örneğimiz temizdir (Çizelge 3.5).

Örnek 11 ile ilgili olarak analiz verilerimiz incelendiğinde AFG2, AFG1, AFB2 ve AFB1 mikotoksinleri ile bulaş tespit edilmemiştir. *Fusarium* cinsi mantarların üretmiş olduğu toksinler yönünden yem örneğimiz FB1, FB2, T-2 ve ZAE mikotoksinleri ile kontamine olmuştur. Bu yem örneğimiz HT-2 ve DON mikotoksinleri yönünden temiz olduğu görüldü (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5 incelendiğinde 14 numaralı örneğimizde bulunan besi yemimiz 6 numaralı örneğimizde olduğu gibi aynı tür mikotoksinler ile kontamine görüldü. Bu yem örneğimiz Aflatoksin grupları ve DON mikotoksinleri yönünden temiz iken geriye kalan analizini yaptırılan 11 farklı mikotoksin çeşidinden 6 si ile (OTA, FB1, FB2, HT-2, T-2 ve ZAE) bulaş olduğu görüldü (Çizelge 3.5).

Örnek 25 ve Örnek 26 da bulunan besi yemi örneklerimizin analizinde miktarları farklı olmasına rağmen aynı çeşit mikotoksinler görüldü. Bu iki örneğimizde Aflatoksin mikotoksinlerinden AFB1 ile kontamine olduğu görülürken DON mikotoksini yönünden temiz çıkmıştır. Analiz sonuçlarına göre bu iki örneğimizin OTA, FB1, FB2, HT-2, T-2, ve Zae mikotoksinleri ile kontamine olduğu gözlemlendik (Çizelge 3.4)

Besi yemi örneklerimizden sonuncusu olan 27 numaralı örneğimiz diğer besi yemi örneklerine göre daha az çeşitte mikotoksin ile kontamine oldu. OTA, FB1, FB2, T-2 ve ZAE yönünden bulaş görülen bu yem örneğimiz analizini yaptırmış olduğumuz diğer mikotoksin çeşitleri yönünden temiz olduğu gördük (Çizelge 3.4).

Genel olarak besi yemlerimizin analizin sonucunda Yemler Hakkında İstenmeye Maddeler tebliğinden belirtilen üst limitlerin altında olmasına rağmen birden fazla çeşit mikotoksin ile bulaş görüldü. Tüm besi yemlerimiz AFG2, AFG1 ve AFB2 yönünden ortak olarak temiz çıkarken yine tüm besi yemi örneklerimizin OTA, FB1, FB2, T-2 ve ZAE mikotoksinleri ile kontamine oldukları tespit ettik (Çizelge 3.4).

Besi yemlerimizin üretim aşamasından çiftçimize ulaştığı süreçte depolama koşulları ve üreticilerin saklama koşulları mikotoksinler ile olan kontamine durumları etkilemektedir.

Yemleri çiftçilerimizin saklama koşullarında almış olmamıza rağmen bulaş durumunun daha önce üretim aşamasında da gerçekleşmiş olabileceği ihtimalinin değerlendirilmesi gerekmektedir.

**Çizelge 3.5** Besi yem örneklerinde saptanan mikotoksin sayısı

| **Besi Yem Örnekleri** | **Saptanan Mikotoksin Sayısı** |
|---|---|
| ÖRNEK 4 | 7 |
| ÖRNEK 6 | 6 |
| ÖRNEK 11 | 5 |
| ÖRNEK 14 | 6 |
| ÖRNEK 25 | 7 |
| ÖRNEK 26 | 7 |
| ÖRNEK 27 | 4 |

Besi hayvanının dengeli beslenmesinin sağlanması, hayvan için gerekli enerjinin sağlanması için üretilen özel yemlere besi geliştirme yemi denilmektedir. Besi geliştirme yemleri öncelikle yüksek minarel içermektedirler. Besi yemleri, içerisinde bulundurduğu vitamin ve içerdiği yoğun protein ile hayvanların ağırlıkları üzerinde arttırıcı etki sağlamaktadır. Bu 5 adet yem numunesinde Aflatoksin B1 2 örnekte görülmüş ancak limit değer olan 0,44 ppm in altında çıkmıştır (Çizelge 3.6). Okratoksin limit değeri olan 0,54 ün üstünde çıkmıştır. En yüksek değeri ise 38.622 ile 24 nolu örnekte göstermiştir. 13 nolu örnek te ise okratoksin çıkmamıştır. Fumonisin grubu B1 ve B2'e 13 numaralı örnekte hiç rastlanmamıştır (Çizelge 3.6). Fumonisin B1 limit değeri olan 70ppm i 3 örnekte (16, 20, 24 nolu) fazlasıyla aşmıştır. FB2 ise limit değeri olan 30ppm i ise 2 örnekte (16 ve 20) aşmıştır. (Çizelge 3.6). HT-2 ve T-2 toksini ise 13 numaralı örnek hariç tüm örneklerde limit değerinin (10ppm ve 6ppm) altında görülmüştür. Zearalenone toksini sadece 20 numaralı örnekte 32,783 limit değerinden (11ppm) fazla tespit edilmiştir (Çizelge 3.6)

Cihazın teşhis limitlerine göre yemlerimizin bazılarında yüksek sonuçlar çıkmasına rağmen yayımlanan genelgeye göre tüm geliştirme yem örneklerimiz limitin altında ve kullanıma uygun olarak değerlendirilmektedir (Çizelge 3.6).

Geliştirme yemi örneklerimizin analiz verilerini incelediğimizde 13 numaralı örneğimizin Fusariumların neden olduğu Zaeralenon ile kontamine olduğu görülmektedir. Bu yem örneği analizimizde Aflatoksin grubu mikotoksinleri (AFB1,AFB2,AFG1,AFG2), fusariumların oluşturduğu FB1,FB2,HT-2,T-2 ve DON ve aspergillus üreten mantarların oluşturuduğu OTA ile bulaş yönünden temiz olduğu görülmektedir. Geliştirme Yemi örneklerimiz içerisinde en az çeşit mikotoksin ile kontamine olan bu örneğimizdir (Çizelge 3.6).

**Çizelge 3.6** Geliştirme yem numunelerinin LC-MSMS sonuçları

| Geliştirme Yem Örnek No | Aflatoksin | | | | OTA | Fumonisin | | HT-2 | T-2 | ZEA | DON |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | G2 | G1 | B2 | B1 | | B1 | B2 | | | | |
| 13 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1,699 | - |
| 16 | - | - | - | 0,301 | 0,893 | 241,858 | 61,334 | 1,333 | 0,382 | 2,195 | - |
| 18 | - | - | - | - | 0,962 | 46,189 | 7,656 | 5,373 | 0,528 | 1,898 | - |
| 20 | - | - | - | - | 1,328 | 153,335 | 37,521 | 2,977 | 0,740 | 32,783 | - |
| 24 | - | - | - | 1,032 | 38,622 | 115,840 | 18,318 | 1,476 | 0,675 | 3,739 | - |

En fazla mikotoksin ile kontamine olan geliştirme yemi örneğimiz olan 16 numaralı örnek AFG2, AFG1, AFB2 ve DON mikotoksinleri ile bulaş yönünden temiz çıkmıştır. Bu yem örneğimiz AFB1 ve OTA ile Fusariumların ürettiği FB1, FB2, HT-2, T-2 ve ZAE mikotoksinleriyle kontamine oldukları görüldü (Çizelge 3.7).

18 ve 20 numaralı geliştirme yemi örneğimizin verileri incelendiğinde 16 numaralı örneğimizden farklı olarak AFB1 mikotoksini ile bulaş görülmemektedir. Diğer mikotoksin çeşitleri ile örnek 16 da olduğu gibi kontamine olma gördük (Çizelge 3.7).

Geliştirme yemi örneklerimizden sonuncusu olan 24 numaralı örneğimiz incelendiğinde mikotoksin miktarları farklı olsa da örnek 16 da görülen mikotoksin çeşitleri görülmüştür.

24 numaralı örneğimiz AFG2, AFG1, AFB2 ve DON mikotoksinleri yönünden temiz iken OTA, FB1, FB2, HT-2, T-2, ve ZAE mikotoksinleri ile kontamine oldukları görüldü (Çizelge 3.6).

Geliştirme yemi örneklerimizden 13 numaralı yem örneğimiz en az çeşit mikotoksinle kontamine olurken diğer geliştirme yemi örneklerimizin en az 5 çeşit mikotoksin ile bulaş gösterdiği görüldü (Çizelge 3.7). Yayınlanan Tebliğden belirtilen miktarların altında görülen mikotoksin çeşitlerinin birden fazla olması bu yem ile beslenen canlıları ve besin zincirinde bu canlının yer aldığı diğer canlıları olumsuz etkilemektedir. Yapılan Araştırmalarda elde edilen veriler bu sonucu desteklemektedir.

Örnek 13 dışında kalan geliştirme yem örneklerimizin hayvanlar tarafından tüketilmesi sağlık yönünden sorunlar yaratabileceği düşünülmektedir. 13 numaralı örnek ile diğer örneklerle beslenen hayvanlarda süreç içerisinde biriken toksin miktarının farklı olacağı düşünülmektedir (Çizelge 3.7).

5 farklı geliştirme yemi örneğimizin hepsinde ZAE ile kontamine olma durumu tespit edilmiştir. Bu yemlerimizin birden fazla mikotoksin ile kontamine olmasına taşıma, depolama ve saklama koşulları sebep olabilmektedir (Çizelge 3.6).

**Çizelge 3.7** Geliştirme yem örneklerinde saptanan mikotoksin sayısı

| **Geliştirme Yem Örnekleri** | **Saptanan Mikotoksin Sayısı** |
|---|---|
| ÖRNEK 13 | 1 |
| ÖRNEK 16 | 7 |
| ÖRNEK 18 | 6 |
| ÖRNEK 20 | 6 |
| ÖRNEK 24 | 7 |

Büyütme yem çeşitlerinden olan buzağı büyütme yemi buzağılara 3. Ayın başlangıcından itibaren 6. ayın sonuna kadar verilemektedir. Büyütme yemlerinin içeriği incelendiğinde protein bakımından zengin olduğu görülmekte, hayvan tarafından sindirilebilirliği yüksek düzeydedir. Büyütme yemleri hayvanların vücut direncini arttırmak ve dayanıklılığını geliştirmek amaçlı kullanılmaktadır.

Bu yem örneklerimiz 3 adettir. Yem örneklerimizin analizi sonucunda Aflatoksin grubu mikotoksine rastlanmamıştır. Okratoksin grubu ise 2 yem örneğimizde (7,15 nolu) teşhis limit değerinin üstünde (0,54) tespit edilmiştir. Fumonisin B1, 3 örnekte de çıkmış olsada limit değerini (70ppm) yalnızca 7 numaralı örnek 104.272 ppm ile aşmıştır (Çizelge 3.8). Fumonisin B2 ise 3 örnektede bulunmasına rağmen limit değerini (30ppm) aşmamıştır. HT2 ve T2 ise limit değerleri altında tespit edilmiştir. Zearalenone ise sadece limit değeri (11ppm) 7 numaralı örnekte 78,040ppm olarak çıkmıştır. Deoxynivalenol sadece bir örnekte limit değerinin (24) çok üstü bir değerde (164,541) saptanmıştır (Çizelge 3.8).

**Çizelge 3.8** Büyütme yem numunelerinin LC-MSMS sonuçları

| Büyütme Yemi Örnek No | Aflatoksin | | | | OTA | Fumonisin | | HT-2 | T-2 | ZEA | DON |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | G2 | G1 | B2 | B1 | | B1 | B2 | | | | |
| 7 | - | - | - | - | 1,349 | 104,272 | 12,398 | 2,679 | 2,009 | 78,040 | - |
| 15 | - | - | - | - | 1,670 | 34,029 | 8,138 | - | 0,977 | 8,009 | 164,541 |
| 28 | - | - | - | - | - | 31,707 | 8,084 | - | 0,455 | 2,764 | - |

Cihazın teşhis limitlerinin çok üstünde değer tespit edilen yem örneklerimizin Hayvan yemlerinde istenmeyen maddeler tebliği incelendiğinde orada belirtilen limitlerin altında olduğu görülmektedir.

32 yem örneğimizin içerisinde yer alan 3 farklı büyütme yemimizin mikotoksinler yönünden analizleri incelendiğinde 2 tanesinin 6 ve bir yem örneğimizin ise 4 farklı mikotoksin çeşidi ile kontamine olduğu görüldü (Çizelge 3.9). 7 numaralı örneğimiz Aspergillus cinsi mantarların oluşturduğu Aflatoksin grubu mikotoksinler (AFG2, AFB1, AFG1, AFB2) yönünden incelendiğinde bulaş olmadığı görüldü. Bu örneğimizde Aspergillusun neden olduğu OTA, Fusarium cinsi mantarların ürettiği FB1, FB2, HT-2, T-2 ve ZAE mikotoksinleriyle kontamine olduğu tespit edildi. DON ile bulaş durumuna bakıldığında ise örneğimizin temiz olduğu görüldü (Çizelge 3.8).

15 numaralı büyütme yemi örneğimizde 6 farklı mikotoksin çeşidi ile kontamine olduğu görüldü (Çizelge 3.9). 32 farklı yem örneğimiz içerisinde DON ile kontamine olan tek yem örneğimizdir. Diğer yem örneklerinde DON a rastlanmezken bu yemimizde tespit edilmesinin ayrıca araştırılaması gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca bu yem örneğimiz Aflatoksin grubu mikotoksinler (AFG2, AFB1, AFG1, AFB2) yönünden temiz iken OTA, FB1, FB2, HT-2, T-2 ve ZAE ile kontamine oldukları görüldü (Çizelge 3.8).

Son büyütme yemi örneğimiz olan 28 numaralı örneğimiz diğer iki yem örneğimizden daha az çeşit mikotoksin ile kontamine durumdadır (Çizelge 3.9). Bu örneğimizde FB1, FB2, T-2 ve ZAE ile bulaş olduğu görülmektedir. Bu yem örneğimizde diğer iki büyütme yeminde görülen OTA mikotoksini görülmemiştir. AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2 mikotoksinleri ile bulaş yeminden örneğimizin temiz olduğu görüldü.

Büyütme yemlerimizde tespit edilen mikotoksin miktarları üst limitlerin altında olmasına rağmen diğer farklı amaç için kullanılan yemlerimizde olduğu gibi birden fazla mikotoksin çeşidi ile kontamine oldukları görülmektedir. Bu yemlerin taşınma, depolama ve saklama koşulları araştırmamızı yaptığımız bölgede sorunlara sebep olduğunu göstermektedir.

**Çizelge 3.9** Büyütme yem örneklerinde saptanan mikotoksin sayısı

| **Büyütme Yem Örnekleri** | **Saptanan Mikotoksin Sayısı** |
|---|---|
| ÖRNEK 7 | 6 |
| ÖRNEK 15 | 6 |
| ÖRNEK 28 | 4 |

3 adet karma yem örneklerinden sadece 31 nolu örnekte HT2 toksini 23,874 ppm ve T2 toksinide 8.474 ile limit değeri (10 ve 6ppm) aşmıştır. Yemlerden 32 numaralı olanda herhangi bir mikotoksine rastlanmamıştır (Çizelge 3.10).

**Çizelge 3.10** Karma yem numunelerinin LC-MSMS sonuçları

| Karma yem numune No | Aflatoksin | | | | OTA | Fumonisin | | HT-2 | T-2 | ZEA | DON |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | G2 | G1 | B2 | B1 | | B1 | B2 | | | | |
| 30 | - | - | - | - | - | - | - | 1,884 | - | - | - |
| 31 | - | 0,483 | - | 0,313 | - | - | - | 23,874 | 8,474 | - | - |
| 32 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Karma yem örneklerimiz çiftçilerimiz tarafından kendilerine ait arpa ve yulaflar kullanılarak hazırlanan paketli olmayan yemlerdir. Bu yemlerimizin analizi sonucunu incelediğimizde yem örneklerimiz arasında en düşük oranlarda kontamine olma durumunun karma yemlerde olduğu görüldü. Bu yemlerin içeriğinin arpa ve yulaftan olması ve çiftçiler tarafından belirli aralıkla taze olarak bu yem karışımlarının yapılması mikotoksinlerle kontamine olma durumlarının düşük olmasını düşündürmektedir (Çizelge 3.11).

30 numaralı örneğimiz olan ve çiftçilerimiz tarafından hazırlanan arpa ezmesi örneğimizin verilerini incelediğimizde Fusarium mantarlarının ürettiği HT-2 ile kontamine olduğu görülmektedir. Mikotoksin miktarı tebliğde belirtilen miktar ile karşılaştırıldığında üst limitin altında kalmaktadır. Bu yem örneğimiz üzerinde analizini yaptırdığımız Aflatoksin Grubu mikotoksinleri (AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2), Fusariumun ürettiği FB1, FB2, T-2, ZAE ve DON ile bulaş yönünden temiz oldukları görülmektedir. (Çizelge 3.10).

31 numaralı yem örneğimiz diğer iki yem örneğimizden farklı olarak onlara göre daha fazla mikotoksin çeşidi ile kontamine durumdadır. AFG1 ve AFB1 ile bulaş tespit edilmiştir. 32 yem örneğimiz içerisinde AFG1 ile bulaş gösteren 2 örneğimizden biri bu yem örneğimizdir. Ayrıca çiftçilerimiz tarafından kendi ürünleri ile hazırlanan bu arpa-yulaf kırması yem örneğimiz HT-2 ve T-2 ile kontamine durumdadırlar. AFG2, AFB1 ile OTA ve fumunosinlerin ürettiği FB1, FB2, ZAE ve DON yönünden örneğimiz temiz durumdadır.

Çiftçilerimiz tarafından kendi yetiştirdikleri arpa ile hazırladıkları son örneğimiz olan 32 numaralı örneğimizin sonuçları incelendiğinde temiz bir yem örneği olduğu ve 11 farklı mikotoksinin hiçbiriyle bulaş göstermediği görülmektedir.

Karma yem örneklerimizde tespit edilen mikotoksin miktarları üst limitin altında kalmaktadır. Karma yemlerimizin geriye kalan diğer örneklerimiz ile karşılaştırıldığında az çeşit mikotoksin ile kontamine durumda olduğu görülmektedir. Çiftçilerimiz tarafından hazırlanan bu yem örneklerimizde kullanılan arpa ve yulafın hasat öncesi ve hasat sonrası taşıma, depolama, saklama koşulları sebebiyle mikotoksinler ile kontamine olmasına sebep olmaktadır (Çizelge 3.11).

**Çizelge 3.11** Karma yem örneklerinde saptanan mikotoksin sayısı

| **Karma Yem Örnekleri** | **Saptanan Mikotoksin Sayısı** |
|---|---|
| ÖRNEK 30 | 1 |
| ÖRNEK 31 | 4 |
| ÖRNEK 32 | 0 |

AFG2 mikotoksini ile bulaş gösteren yem örneğimiz bulunmamaktadır. Analiz cihazımızın limit teşhisleri ile uygunluk gösteren yem örneği yoktur. İncelediğimiz yem örneklerimiz AFG2 yönünden temizdir (Çizelge 3.12)

AFG1 ile kontamine olan yem örnek sayımız ikidir. 23 numaralı ve 31 numaralı yem örneklerimizde Aflatoksin G1 mikotoksini gözlemlenmiştir (Çizelge 3.12). Gözlemlenen mikotoksin miktarı yemlerde istenmeyen maddeler tebliğinde belirtilen üst sınırın altındadır.

AFB2 ile pozitif bulaş gösteren yem örnek sayımız ikidir. Aflatoksin B2 yönünden değer ölçülen 9 numaralı ve 19 numaralı örneklerimizdir (Çizelge 3.12). Ölçülen mikotoksin miktarı tebliğde belirtilen sınırların altındadır (Çizelge 2.1).

AFB1 mikotoksini ile kontamine olan yem örnek sayımız onikidir (Çizelge 3.12). 9 numaralı ve 19 numaralı örneklerimizde tespit edilen mikotoksin miktarı yemlerde istenmeyen maddeler tebliğinde belirlenen sınırın üstündedir (Çizelge 2.1). Bu iki yem örneğimiz belirlenen kritelerin dışında kalarak sorunlu yem örneği teşkil etmektedirler.

Yem örneklerimizden 26 tanesinde OTA mikotoksini tespit edilmiştir (Çizelge 3.12). Tespit edilen miktarlar tebliğ incelendiğinde sınırın altında kalmıştır (Çizelge 2.1).

27 yem örneğimiz fuminosin B1-B2 ile kontamine olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 3.12). Fuminosin B1-B2 miktarları tebliğde belirtilen sınırların çok altında kalmaktadır. Yemlerde görülen Fuminosin B1-B2 miktarı toplandığında tebliğde belirtilen yüksek üst limitin yanında düşük seviyelerde kalmıştır (Çizelge 2.1).

Yem örneklerimiz üzerinde yapılan analiz sonucunda 23 örneğimizde HT-2 ile kontamine olma durumu gözlemlenmiştir (Çizelge 3.12). Yemler üzerinde görülen miktarlar için tebliğde HT-2 mikotoksini için belirtilen limit olmaması sebebiyle karşılaştırma yapılamamaktadır (Çizelge 2.1).

26 yem örneğimizde T-2 mikotoksini ile bulaş olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.12). Yemlerde istenmeyen maddeler tebliği incelendiğinde bu mikotoksin için limit belirlenmesi yapılmamıştır (Çizelge 2.1). Bölgemizden topladığımız yemlerin büyük kısmında bu mikotoksinin görülmesi daha detaylı araştırmaların yapılmasını gerekmektedir (Çizelge 3.12).

Zearalenone ile ilgili tebliğ incelendiğinde kontamine olmuş 28 yem örneğimizden 10 numaralı yem örneğinde tespit edilen miktarın limitin üstünde olduğu görülmüştür (Çizelge 2.1). Yem örneklerimizden en fazla sayıda bu mikotoksin ile bulaş görülmektedir (Çizelge 3.12). Zearalenone mikotoksini yem örneklerimizde fazla görülmesi bu konuda daha detaylı çalışmalar gerektirmektedir.

Çankırı ili Kızılırmak ilçesinde büyükbaş hayvancılık ile uğraşan çiftçilerimizden hayvanlarına vermiş oldukları yemlerin analiz sonuçlarını incelediğimizde genel olarak yem türlerinin en az bir ve daha fazla mikotoksin ile kontamine olduğunu tespit ettik (Çizelge 3.12). Sadece bir yem örneğimizde mikotoksin bulaşı görülmemiştir. Analizi yapılan yem örneklerimizin birden fazla mikotoksin ile bulaş oranı yüksektir. Yine bir yem örneğimiz dışında kalan diğer yem örneklerimiz aynı anda birden fazla mikotoksin ile kontamine olmuştur.

32 Yem örneğimiz üzerinde yaptırmış olduğumuz 11 farklı mikotoksin analizinde 3 farklı yemde gözlemlenen bulaş miktarının Yemler üzerinde İstenmeyen maddeler tebliğinde belirtilen miktardan fazla olduğu tespit edilmiştir. Tebliğde analizimizde incelediğimiz her mikotoksin için üst limit belirlenmemiştir. (Çizelge 2.1). HT-2 ve T-2 için tebliğde karşılaştırma yapabileceğimiz üst limitler belirtilmemiştir. Bölgemiz yemlerinin bu 2 farklı mikotoksin ile kontamine olma oranları yüksektir.

**Çizelge 3.12** Yem örneklerimizin mikotoksinler ile kontamine olma sayıları

| **Mikotoksin Türü** | **Kontamine Olan Örnek Sayısı** |
|---|---|
| AFG2 | 0 |
| AFG1 | 2 |
| AFB2 | 2 |
| AFB1 | 12 |
| OTA | 26 |
| FB1 | 27 |
| FB2 | 27 |
| HT2 | 23 |
| T2 | 26 |
| ZAE | 28 |
| DON | 1 |

Not: Toplam 32 yem örneklerimizde hangi mikotoksin türü ile kaç örneğin kontamine olduğunu gösterir tablodur.

Yemlerimizin bulaş oranları tebliğde belirtilen sınırların altında kalmış olmasına rağmen bir yem örneğimizin birden fazla mikotoksin ile kontamine olması sürece yayıldığında olumsuz sonuçlar oluşturacaktır. Mikotoksinlerle kontamine olan yem örneklerimiz uzun

süreler kullanıldığında beslenen hayvanlarda ve ürünlerinde mikotoksin kalıntıları oluşacaktır. Bölgemizde kullanılan yemlerin analizinde tespit edilen mikotoksin oranlarının fazla olmasının sebeplerinin hasattan kaynaklı veya taşıma, saklama ve depolama kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Yem örneklerimizde mikotoksin ile bulaş durumunun yüksek olması ve bu durumun hayvan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler oluşturacağı bilindiğinden bulaşın sebeplerinin araştırılması gerekmektedir.

Yem örneklerimizden bazı örneklerimizin aflatoksin gruplarından olan AFB1, AFB2, AFG2 ve AFG1 türleri ile kontamine olduğunu tespit ettik. Özkaya ve Temiz'in (2003) yapmış oldukları çalışmada bizim elde ettiğimiz verilere benzer olarak pirinç ve mısırda aflatoksin bulunduğu saptandığı belirtilmiştir. Bakırcı'nın (2014) Tahıl Ürünlerinin Mikotoksinler (Aflatoksin, Okratoksin, Zearalenon) Yönünden İncelenmesi çalışmasında 381 tane tahıl ve tahıl ürünü üzerinde yaptığı analizlerin sonucunda 24 örneğin analiz sonuçlarında aflatoksin miktarlarının ölçüm limitlerinin altında kaldığı ve tahıl ürünlerinde aflatoksin türleri ile kontamine olduğunu söylemiştir. Çalışmamızda 2 örneğimiz AFG1, 2 örneğimiz AFB2 ve 12 örneğimiz AFB1 ile bulaş göstermiştir.

Yem örneklerinde aflatoksin gruplarından (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2) aynı anda birden fazla kontamine olan örneklerimiz bulunmaktadır. Yaroğlu ve Gül (2007) yapmış oldukları Yavru alabalık yemleri üzerinde AFB1 varlığının araştırılması çalışmasında Erzurum yöresinde alabalık yemlerinde aflatoksin düzeylerini tespit ettiği dörder defa topladıkları 24 tane granül 2 ve 3 yavru alabalık yemlerinin AFB1 düzeylerinin ortalama olarak Ekim ve Aralık aylarında düşük, Ağustos ayında yüksek çıktığını, elde ettiği verilere göre yavru alabalık yemleri üzerinde aflatoksin seviyesinin nem oranıyla bağlantılı olarak arttığını ve bu artışın kabul edilebilir düzeyde kaldığından ve yemlerde aflatoksinin varlığından söz etmiştir. Yem örneklerimizde aflatoksine rastlanmasında iklim koşullarının etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Dasti et al. (2009) Kuveyt'te tüketilen süt ve peynirde aflatoksin M1 seviyeleri ve yerli ve ithal hayvan yemlerinde toplam aflatoksin oluşumu adlı çalışmasında 84 yem numunesi üzerinde toplam aflatoksin analizi yapıldığından ve yem numunelerinin %79,8

kontaminasyon gösterdiğinden bahsetmiştir. Çalışmamız da yem örneklerimizden 2 tanesinde AFB1 düzeyi yasal sınırın üzerinde çıkmıştır.

Makau et al. (2016) Nakuru, Kenya'da süt yemlerinde Aflatoksin B1 ve Deoksinivalenol kontaminasyonu ve küçük işletme süt sistemlerinden gelen sütlerde Aflatoxin M1 kontaminasyonunun varlığı adlı çalışmasında 74 hayvan yem örneğinin 41 tanesinde aflatoksin B1 kontaminasyon seviyesinin 0 ile 147.86 µg/kg arasında değiştiğinden bahsetmiştir. Bizim çalımamızda B1 ile kontaminasyon seviyesi 0 ile 14,99 ppb arasında değişmektedir.

32 Farklı yem örneğimizi incelediğimizde en az bir adetin de olsa dahi Aflatoksin grubu mikotoksinler ile bulaş durumu gözlenmiştir. İpçak ve Alçiçek (2013) Yemler üzerinde Aflatoksin Gelişimi ve Aflatoksinin Süte Geçme Durumunu incelediği çalışmalarında Ankara ilinde topladığı süt örneklerinin %33'ünün, Antalya ilinden topladığı örneklerin %40'ı, Kayseri'de örneklerin %17'si, Van'da %38'inin, Sarıkamış örneklerinin %90'ı, Bursa'da toplanan örneklerin %60'ının, Burdur'da ise %80'ininde aflatoksin tespit edildiğinden ve bu aflatoksin miktarlarının Türkiye'de belirli limitlerle kısıtlandığını belirtmiştir. Biz çalışmamızda Aflatoksin tespit ettiğimiz yem örneklerinde Yemlerde İstenmeyen Maddeler Tebliğinde belirtilen üst limitlere dikkat ettik. 2 yem örneğimizde Örnek 9 ve Örnek 19 da üst limiti aşan miktarda mikotoksin olduğu görülmüştür. Bu yemlerle beslenen hayvanlardan elde edilen et ve sütün incelenmesi gerektiği düşünülmektedir. Uzun süre bu yemle beslenen hayvanın vücudunda zamanla toksin birikimi gerçekleşecektir.

Mahmoudi and Norian (2016) İran'da inek yemlerinde ve sütünde aflatoksin B1 ve M1 kontaminasyonu adlı çalışmalarında ELISA yöntemi ile çiğ süt numunesinde AFM1 ve hayvan yemlerinde Aflatoksin B1 kontaminasyonunun aynı zamanda yapıldığından ve kış aylarında hayvan yemindeki AFB1 kontaminasyon seviyesinin (2,27 ± 1,76) yaz aylarına göre (0,83 ± 0,60) daha yüksekti olduğundan bahsetmiştir. 12 farklı yem örneğimizde AFB1 miktarları birbirlerinden farklı çıkmıştır. Çalışmamızda yem örnekleri tek seferde aynı mevsimde toplanmıştır.

Basmacıoğlu ve Ergül (2003) Yemler Üzerinde Bulunan Toksinler ve bu toksinlerin kontrol yollarını araştırdığı çalışmalarında yemlerde bulunan aflatoksinlerden ve hangi tür yemlerde görülebileceğinden bahsetmiştir. Bu çalışmada verilen bilgiler yaptırmış olduğumuz yem analiz sonuçları destekler niteliktedir. Yemlerimiz de mikotoksin ile bulaş görülmesinin nedenleri arasında saklama koşulları, çiftçinin uygun ortamı sağlayamaması ya da yemlerin üretim aşamasında bulaşın gerçekleşmesi sayılabilir.

Kaya ve Uyarlar (2018) yaptıkları çalışmalarında süt sığırı işletmelerinden kullanılan yemleri inceleyerek aflatoksin varlığından bahsedilmiştir. Çalışmada yapılan analiz sonucunda AFB1 ve toplam AF (B1+B2+G1+G2) düzeyleri sırasıyla mısır silajı numunelerinde 0.05-36.09, 0.06-44.01, ppb; kuru yonca numunelerinde 0.14-22.53, 0.16-27.66, ppb; konsantre yem numunelerinde 0.12-15.32, 0.15-18.57, ppb seviyeleri arasında tespit edildiğinden bahsetmiştir. Yapılan çalışmada aflatoksin varlığının görülmesi bizim yapmış olduğumuz analiz sonucunda da hayvan yemi örneklerinin bazılarında Aflatoksin grubu ile kontamine tespit edilmesi hayvan yemlerinin farklı koşullar sebebiyle mikotoksinlerle kontamine olduğunu göstermektedir. Örneğin tamamlayıcı yem örneklerimizden 3,8,9,19,22 ve 23 numaralı örneklerimiz sırasıyla 0,18, 0,62,13,53,14,99,0,89 ve 0,68 ppb düzeyinde aflatoksin B1 ile kontamine olmuştur.

Kök (2006) araştırmasında hayvanlara yemler aracılığıyla geçen aflatoksinlerde ve bunların canlı sağlığı üzerindeki etkilerinden bahsetmiştir. Yapmış olduğumuz analizlerde yem örneklerimizde aflatoksin varlığının görülmesi çalışmada bahsedildiği gibi uzun süreli maruz kalındığında olumsuz sağlık sorunlara sebep olabilmektedir. İşletme şeklinde çalışan çiftçilerimizin hayvanlarının sütlerinin analizi yapılarak toksinin süte geçme durumunun incelenmesi gerekmektedir.

Sert (1983) yapmış olduğu Gıda ve Yem maddelerinde aflatoksinler çalışmalarında hayvan yemleri üzerinden kontamine olan aflatoksinlerden ve bunların toksisitesinden bahsetmektedir. Ayrıca Sert (1983) çalışmasında geçmiş dönemlerde yapılmış olan aflatoksin varlığı çalışmalarına değinmiştir. Geçmiş dönemde yapılan çalışmalarda bizim yapmış olduğumuz çalışmaların sonuçlarını destekler niteliktedir.

Yentür ve Er (2012) Gıdalarda aflatoksin varlığının değerlendirilmesi çalışmalarında bizim elde ettiğimiz verilerle doğrultulu olarak *Aspergillus flavus'un* inokule edildiği bitkiler iki gün sonra incelendiğinde 0,3–2 ppb, dört gün sonra incelendiğinde 950–2.800 ppb ve yedi gün sonra incelendiğinde ise 3.600–4.500 ppb miktarlarında bitkiler de aflatoksin varlığına görüldüğü hakkında bilgiler verilmiştir. Hayvan yemlerinde aflatoksin varlığından analiz sonucumuzda çıkan sonuçlara dayanarak söz edebiliriz.

Streit et al. (2012) Hayvan Yeminde Mikotoksin Kontaminasyonu ve Birlikte Oluşmasının Mevcut Durumu - Avrupa'ya Odaklanmak çalışmasında Hayvan yemi ile ilgili olarak, beş mikotoksin (aflatoksinler, deoksinivalenol, zearalenon, fumonisinler ve okratoksin A) ile ilgili olarak, Fusarium toksinleri tarafından düşük seviyeli kontaminasyon çok yaygın olduğundan (örneğin, deoksinivalenol (DON) tipik olarak numunelerin %50'sinden fazlasında bulunur) ve çoklu mikotoksin çalışmalarında, örneklerin %75-100' ünün, hali hazırda düşük dozlarda hayvan sağlığını etkileyebilecek birden fazla mikotoksin içerdiğini bildirdirmiştir. Çalışmamızda aynı mikotoksin türlerini analiz ettiğimiz ve yem örneklerimizin çoğunda mikotoksin ile bulaş görülmüş olması çalışmalarımızın tutarlı olduğunu göstermektedir. Yem örneklerimizin büyük çoğunluğu aynı anda bir ve daha fazla mikotoksin ile kontamine olmuştur (Çizelge 3.12)

EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (2011) Gıda ve yemlerde T-2 ve HT-2 toksininin varlığı ile ilgili hayvan ve halk sağlığı risklerine ilişkin yayınlanan Bilimsel Görüşte 2005–2010 yıllarında 22 Avrupa ülkesinden toplanan gıda, yem ve işlenmemiş tahıllardaki T-2 ve HT-2 toksinlerinin toplamı için toplam 20.519 sonuç kullanıldı. T-2 ve HT-2 toksinlerinin toplamı için en yüksek ortalama konsantrasyonlar, tahıllarda ve tahıl öğütme ürünlerinde, özellikle yulaf ve yulaf ürünlerinde gözlendiği bildirdi. Çalışmamızda yem örneklerimizden 23 tanesi HT-2 ile kontamine olurken 26 farklı yem örneğimiz T-2 ile bulaş göstermektedir (Çizelge 3.12).

Julaıfı ve Al-Falıh (2001) Suudi Arabistan'da 1997-2000 Yılları Arasında Hayvan Yemlerinde ve Gıda Maddelerinde Trichothecenes Tespiti çalışmasında 1997 ile 2000 yılları arasında Suudi Arabistan Krallığı'nın her yerinden toplam 843 ticari hayvan yemi ve gıda maddesi numunesi (465 tarım ürünü ve 378 hayvan yemi) toplanmış ve tip A ve

tip B trikotesenler için yapılan analiz sonucunda HT-2 toksini ve T-2 toksini 2 ila 4,000 µg/kg arasında tespit edilmiş ve çalışma, insan sağlığına yönelik potansiyel tehlikeleri en aza indirmek için tarımsal ürünlerin rutin gözetimine duyulan ihtiyacı belirtmiştir. Çalışmamızda HT-2 mikotoksini ile bulaş görülen yem örneklerin de 1,3-23,8 ppb düzeyinde toksin görülmüştür.

Yaptığımız çalışmamızda yem örneklerimiz de HT-2 ve T-2 mikotoksinleri ile kontamine olma durumlarının yüksek olması ve bu mikotoksinler için üst limit belirlenmemiş olması hayvan ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler oluşturabilir. Bu sebeple T.C Tarım ve Orman Bakanlığından: Yemlerde İstenmeyen Maddeler Hakkında Tebliğinde (Tebliğ No: 2014/11) HT-2 ve T-2 mikotoksinleri için limit belirlenmesi gerektiği düşünülmektedir.

32 yem örneğimizin analizi sonucunda hiçbir örneğimizde AFG2 ye rastlamazken AFG1 ve AFB1 mikotoksini ile kontamine olan 2 şer farklı örneğimiz bulunurken AFB1 ile 12 yem örneğimizde bulaş pozitiflik görülmüştür. T.C Tarım ve Orman Bakanlığından: Yemlerde İstenmeyen Maddeler Hakkında Tebliği (Tebliğ No: 2014/11) göre belirtilen limitlere göre 9 numaralı ve 19 numaralı örneklerimizde AFB1 miktarı limitin üzerinde çıkmıştır (Çizelge 3.2)

Limitin üzerine çıkan yem örneklerimizin farklı mikotoksinlerle de kontamine olduğu göz önüne alındığında o yemlerle beslenen hayvanların ve hayvansal ürünleri tüketen insanların sağlıklarının olumsuz yönde etkileneceği düşünülmektedir. Bu iki yem örneğimizde limit aşımına sebep olan bulaş durumunun ne zaman gerçekleştiğinin tespit edilmesi gerekmektedir. Bu yem örneklerimiz çiftçimize ulaşmadan önce firmanın kötü depolama ve saklama koşullarından kaynaklı olarak mikotoksin ile kontamine olmuş olabilir. Basmacıoğlu ve Ergül (2003) çalışmasında yemlerin hasat sürecinden başlayıp karma yemin üretim süreçlerine kadar olan tüm işlem basamaklarında mikrobiyal bulaşma ve ürün üzerinde toksin oluşumundan bahsetmiştir.

Farklı büyükbaş hayvancılığı yapan çiftçilerimizden topladığımız 32 farklı yem analizi sonucunda 26 tane yem örneğimizin Okratoksin A bulaş yönünden pozitif olduğu görüldü (Çizelge 3.12). Girgin vd. (2001) yaptıkları çalışmalarında tahıl ve tahıl ürünlerinin yanı

sıra baklagiller ve yemişlerin, kahve tohumu ve baharatlar üzerinde OTA bulunduğunu ve işlenmemiş bulaş gösteren tarım ürünlerinin yem olarak tüketildiğinde geviş getiren yetişkin hayvanlarda sorun yaşanamadığını fakat geviş getirmeyen hayvanlarda kontamine ettiğinden bahsetmişlerdir. Hayvan yemi olarak kullanılan ürünlerden bahsetmiş olmaları yem örneklerimizin Okratoksin A ile kontamine olmasını anlamı hale getirmektedir.

Büyüker (2019) Ekmek ve bazı tahıl ürünleri üzerinde yaptığı okratoksin A bulunurluğu ve toksik etkileri çalışmasında, 100 adet gıda örneğinin (buğday, mısır unu, yulaf gevreği,unu ve ezmesi) 4'ünde 0.27-9.84 ppb düzeyinde OTA tespit edildiğinden, Cengiz vd. (2007) yılında farklı ekmek türlerinde ve unlarda OTA varlığını araştırdıklarından ve sonucunda bu ürünlerde okratoksin A varlığından bahsetmişlerdir. Hayvan yemlerimiz üzerine yaptırdığımız analiz sonuçlarının çoğunda okratoksin A'nın 0,2-38,6 ppb düzeyleri arasında görülmesi geçmiş dönemlerde yapılan çalışmalar ile uyum göstermektedir.

Yılmaz ve Elmalı (2016) Sivas İlinde Sığır Besi Yemleri üzerinde Okratoksin-A Düzeylerinin Belirlenmesi çalışmasında 39 farklı karma yem ve 32 farklı arpa örnekleri üzerinde aralıklı yaptıkları ölçümlerde okratoksin A düzeylerini belirlediklerinden bahsetmişlerdir. Bizim analiz ettirdiğimiz yem örnekleri içerisinde 3 örneğimiz arpa karışımdan oluşan yemlerdir. Analiz sonuçlarımıza göre bu üç örneğimiz üzerinde Okratoksin-A tespit edilmemiştir. Bu yönü ile Yılmaz ve Elmalı'nın (2016) çalışması ile uyum göstermemektedir. Uyum olmamasının sebebi olarak farklı aralıklarla ölçüm yapmamış olmamız ve yeteri kadar örnek sayımızın olmaması düşünülmektedir. Çalışmada yemlerin saklama koşullarının uygun ve iyi olmasından bahseden Yılmaz ve Elmalı'nın (2016) belirttiği gibi bizim yem örneklerimiz düzgün depolandığı için Okratoksin-A ile kontamine durumu gerçekleşmemiş olabilmektedir.

Güngör vd. (2016) çalışmalarında karma yem hammaddeleri üzerinde üretim, hasat ve depolama süreçleri içerisinde okratoksin A'nın kolayca oluşabildiğinden, dünya ve ülkemizde yem ve yem hammaddelerinde bulunuş seviyeleri itibariyle tehlike oluşturduğundan bahsetmektedirler. 32 yem örneğimizin 26 örneğin de Okratoksin A

tespit edilmesi çalışmada verilen bilgi doğrultusunda sonuçların doğru olduğunu düşündürmektedir. Aynı çalışmada Güngör vd. (2016) Türkiye genelinde 1986 ile 1989 seneleri arasında farklı 25 yem üreticisinden toplanan 302 adet karma yem, yem hammaddesi ve gıda numunelerinin %18,2'sinde Okratoksin A'nın varlığından bahsetmişlerdir.

Kaya vd. (1990) yaptıkları araştırmada ise 9 soya fasülyesi ve 11 pamuk tohumu küspesinde Okratoksin A' rastlamamış, mısırda incelenen 20 örneğin 1 tanesinde ve 11 ayçiçeği tohumu küspesinin ise 6 adetinde Okratoksin A varlığından bahsetmişlerdir. Bununla birlikte iklimin sıcak ve nemli geçtiği bölgelerinde mantar oluşumunu engelleyici çevre koşullarını (uygun sıcaklık ve düşük nem) oluşturmanın zor olduğundan bahsetmişlerdir. (Nguyen et al. 2007; Shar et al. 2015; Sherazi et al. 2015). Çalışmamızda OTA ile kontamine olan 26 yem örneğimizde tespit edilen toksin miktarları birbirlerinden farklı düzeylerdedir.

Karagözlü ve Karapınar (2000) Tahıl ve ürünleri üzerinde Okratoksin A ve Fungal Kontaminasyonu inceledikleri çalışmalarında Okratoksin A dağılımını araştırmak için 39 örnek aşurelik buğday, 22 örnek mısır, 20 örnek mısır unu, 6 örnek yulaf ezmesi, 3 örnek yulaf unu, 1 örnek yulaf gevreği ve 9 örnek yulaf müsli olmak üzere 100 adet örnek üzerinde çalıştıklarından ve bunların sonucunda 100 örneğinden dört tanesinde 0.27-9.84 ppb düzeyleri arasında değişen Okratoksin A'nın varlığından bahsetmişlerdir. Bu çalışma ile kendi çalışmamızı karşılaştırdığımızda bizde yemlerin OTA ile kontemine oranları çok yüksek çıkmıştır (26 örnek). Yemlerimizde OTA düzeyi 0,2-38,6 ppb düzeyleri arasında değişmektedir. Bunun sebebi Karagözlü ve Karapınar'ın (2000) çalışmalarında kullandıkları örneklerin uygun şartlarda saklanması sonucu Okratoksin oluşmamasından kaynaklanabilir. Farklı hayvan yetiştiricilerinden topladığımız yem örneklerinin kontamine olmalarına uygun olmayan saklama koşullarının neden olabileceği düşünülmektedir.

Şengül vd. (2015) Okratoksin A ve Etkileri adlı çalışmalarında Okratoksin A bitki kökenli ürünlerden özellikle tahıllar (mısır, buğday, arpa, sorgum, yulaf), baklagiller, yer fıstığı ve karışık yemlerde bulunan görülen en önemli mikotoksin çeşitlerinden biri olarak kabul

edildiği içim ve hayvan yemlerinin, özellikle uygun olmayan koşullarda saklanıldığı durumlarda Okratoksin-A düzeylerinin yüksek seviyelere ulaştığından bahsetmiştir. Hayvan yemi örnek analizlerimizde yüksek oranında kontamine olma durumu gözlemlenmesi iki çalışmanın sonuçlarının ortak olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda yem örneklerimizin Okratoksin- A limitleri tebliğde belirtilen limitlerin altında olsa da oran olarak yüksek çıkması çiftçilerimizin kullandıkları yemlerin üretim ve tüketim süreci arasında kalan zamanlarda uygun koşullarda saklamadıklarına işaret etmektedir.

Jaimez et al. (2004) İspanyol yemi ve hammaddelerinde mantar kontaminasyonu ve okratoksin A ve zearalenon varlığına dair bir araştırmada İspanya'da hayvan beslemede kullanılan 91 yem incelendiğinde OTA ve ZEA ile kontamine olduğu (sırasıyla %33,3 ve %26,4 insidans) belirtilmiştir. Çalışmamızda analizini yaptırdığımız 32 farklı yemin 28 tanesi ZEA ile kontamine olmuştur (Çizelge 3.12)

Şahin vd. (2015) çalışmalarında Okratoksin-A nın yem maddelerinde rastlanan mikotoksinlerden biri olduğundan ve yemler aracılığıyla alınan Okratoksin-A nın kolayca emilerek bütün vücuda yayıldığında bahsetmiştir. Hayvan yemlerimizde miktar olarak Okratoksin- A düşük olarak görülse de yem sayısı olarak 26 yem örneğimizde tespit edilmesi hayvan ve o hayvanın ürünlerini tüketen canlıların sağlığı açısından düşündürücü olmaktadır.

32 yem örneğimizin analizinde fumunosinlerin oluşturduğu mikotoksinlerden FB1 ve FB2 ile 27 örneğimizin kontamine olduklarını tespit ettik. Yayınlanan tebliğde üst limit (FB1+FB2) olarak hesaplanmaktadır. Yem örneklerimizde tespit edilen limitlerin üst limitleri geçmemektedir.

Yang et al. (2020) Mikotoksin bulaşmış yemlerin çiftlik hayvanları üzerindeki etkileri çalışmasında Yem mikotoksinlerini analiz eden çalışmalar dünya çapında yürütüldüğünü ve yem numunelerinin büyük bir kısmında aflatoksin, okratoksin A, fumonisin, zearalenon ve deoksinivalenol dahil biyolojik aktiviteye sahip mikotoksinlerin varlığını doğruladığını söylemiştir. Yapmış olduğumuz çalışmamızda elde ettiğimiz verilerde bu

söylemi destekler niteliktedir. Çalışmamızda 15 numaralı yem örneğimiz deoksinivalenol ile kontamine gösteren tek örnektir (Çizelge 3.8)

Çevik (2006) çalışmasında 80 farklı yem örneğini 4 farklı dönemde 20 şer örnek olarak depoladı ve fumonisin yönünden analizlerini yaptığını belirtti. Yapılan analiz sonuçlarında farklı dönemlerde farklı Fumonisin miktarları tespit ettiğini ve toplamda 80 örneğin 53'ünde (%66) da fumonisin ile kontamine olduğunu belirtmiştir. Bizim çalışmamızda 32 örnek tek seferde analiz edilmiş ve 27 örneğimizin FB1 ve FB2 ile kontamine oldukları gözlemlenmiştir (Çizelge 3.12)

Kabak ve Var (2005) çalışmalarında Fumonisin grupları arasında doğal yollarla en çok üretilen bileşiğin Fumonisin B1 olması sebebiyle toksikolojik çalışmaların genellikle bu toksinin üstüne yoğunlaştığından bahsetmişlerdir. Yem örneklerimizde yüksek oranda FB1 ve FB2 ile kontamine olma durumu görüldüğünde bu mikotoksin çeşitlerinin incelenmesinin doğru olduğu görüldü. Çalışmamızda 32 farklı yem örneğimizin 5 tanesi dışında kalan örnekler FB1 ve FB2 ile bulaş göstermiştir.

Girgin vd. (2001) çalışmalarında Fumonisinler toksik etkilerini göstermek için metabolik reaksiyona ihtiyaç duymadıklarından bahsetmişlerdir. Öne sürdükleri tezleri Fumonisin B1 ve Fumonisin B2 tüketimi gerçekleştiren sıçan türlerinin idrarlarında, safra, kan ve hepatositleri üzerinde metabolitin görülmemesiyle doğrulanmıştır. Bu çalışmada belirtilen sağlık sorunları göz önüne alındığında FB1 ve FB2 ile kontamine olmuş yem örnek sayımızın yüksek olması bu yemler ile beslenen hayvanların sağlıklarını olumsuz etkileyeceği sonucunu düşündürmektedir. Uygun saklama koşullarına sağlayarak mümkün olduğunca yemlerin kontamine olmaları engellenmelidir. Çalışmamızda kullandığımız yem örneklerinin Fumonisin toksikleri ile kontamine olma durumları üzerinde yemlerin süreç içerisinde uygun olmayan koşullarda saklanılmasının etkili olduğu düşünülmektedir.

Fusarium mantarların oluşturduğu mikotoksinler yönünden yem örneklerimizi analiz ettiğimizde HT-2 ile 23 örneğin, Zearalenon ile 28 örneğin, T-2 ile 26 yem örneğinin ve deoksinivalenol (DON) ile 1 yem örneğimizin kontamine olduğu görüldü.

Vulic et al. (2011) Hırvatistan'da Emtia ve Yemlerde T-2 ve HT-2 Toksinlerinin Belirlenmesi çalışmasında, analiz edilen 50 yem ve emtia numunesi, sığır yemi (67.68 ng/g) ve yulaf numunelerinde (32.94 ng/g) en yüksek konsantrasyonları verdiğini bildirmiştir. Çalışmamızda yem örneklerimizde tespit edilen en yüksek T-2 toksini 8,47 ppb düzeyindedir.

Topçu ve Tayfur (1999) çalışmalarında 1994 ve öncesi yıllarda Fusarium mantarlarının sebep olduğu mikotoksinler üzerinde yapılan çalışmalara değinmişlerdir. O çalışmaların yöntemleri incelendiğinde bizim kullanığımız yöntemin kullanılmadığı görülmektedir.

Şahindokuyucu ve Mor (2011) çalışmalarında yemlerde bulunan ve süt sığırları için tehlike oluşturan başlıca mikotoksin türlerinin; aflatoksinler, DON, T2, ZEA, fumonisin ve OTA olduğuna değinmişlerdir. Yem örneklerimizin Fusarium mantarlarının ürettiği mikotoksinlerle fazla kontamine olduğu düşünüldüğünde bu hayvanlar için ve bu hayvanların sütlerini tüketen bireyler için tehlike oluşturacağı düşünülmektedir. Çalışmamız da analizi yapılan yem örneklerinden hepsi en az bir farkı mikotoksin türü ile kontamine olmuştur.

Aynı çalışmada Şahindokuyucu ve Mor, deoksinivalenolun mısır ve buğday başta olmak üzere sorgum, yulaf, pirinç, çavdar ve arpada bulunduğundan bahseder ve özellikle nemli, yağışlı ve ılık havalarda sentezlendiği bilgisini verir. Yem örneklerimizden sadece 15 numaralı örneğimizde DON mikotoksinine rastlanmıştır. Yemlerimizde uygun koşullar oluşmadığı için DON mikotoksinleri ile bulaş görülmemiştir.

Şahindokuyucu ve Mor aynı çalışmalarında T-2 toksinin Mısır ve mısır silajlarında, tahıllarda (arpa, buğday, darı) ve karma yemlerde bulunduğuna değinmişlerdir. Bizim çalışmamızda T-2 ile kontamine olan örnek sayımız 26 örnekdir. Yem örneklerimizde ölçülen T-2 toksin düzeyi 0,2-8,4 ppb seviyelerindedir.

Edwards et al. (2009) Avrupa tahıl üretiminde ortaya çıkan HT-2 ve T-2 toksinleri sorunları çalışmasında HT-2 ve T-2 mikotoksinlerinin, yulaf, arpa ve buğday üzerinde

daha yüksek insidans ve konsantrasyonlara sahip olduğunu fakat bu durumun ülkeler arasında değişebileceğini İskandinav ülkelerinden alınan anket verileri (bazı örneklerde >1000 µg/kg HT-2+T-2) ve Fransa'da maltlık arpada ve özellikle ilkbaharda ekilen çeşitlerde HT-2 ve T-2 de tespit edilmesini karşılaştırarak söylemiştir. Çalışmamızda HT-2 ve T-2 mikotoksinleri ile kontamine olan örnek sayımız toplam örnek sayımıza oranla yüksek düzeydedir.

Şahindokuyucu vd. (2010) çalışmalarında 60 mısır silajı numunesini üzerinde toplam mikotoksin çeşitlerinin (aflatoksin, okratoksin A, T-2 toksin, deoksinivalenol, zearalenon ve fumonisin) analizlerinin yapılması amacıyla kış aylarında ve ilkbahar aylarında topladığından belirtmişlerdir. ELISA yöntemini kullanarak analiz ettikleri Mısır silaj örneklerinin toplam aflatoksin, OTA, T2, DON, ZEA ve fumonisin ile bulaş görülme oranlarının sırasıyla, %30, %13,3, %35, %38,3, %38,3, %1,7 bulunduğunu dile getirmişlerdir. Silaj örneklerinde bulaşın en fazla DON ve ZEA mikotoksinleri ile gerçekleştiğini tespit etmişler ve mikotoksin düzeylerinin düşük olması sebebiyle tehlike oluşturmadığını kanısına varmışlardır. Yapmış olduğumuz çalışmada toksin türleri ile bulaşı oranlayacak olursak sırasıyla %43,75, %81,25, %81,25, %3,12, %87,5, %84,37 dir.

Bizim çalışmamızda aynı mikotoksin türler incelenmiş olup 3 örnek dışında limitlerin üzerinde kalan yem örneğimiz bulunmamaktadır. Atıfta bulunduğumuz çalışmaların genelinde mikotoksinlerin toksisiteleri ve canlılar üzerinde etkileri hakkında bilgiler verilmiştir. Tüm bu bilgiler harmanlandığında analizini yaptırmış olduğumuz yem örneklerinin 25 tanesi en az 6 farklı mikotoksin ile kontamine olmuştur. Süreç içerisinde bu yemleri tüketen hayvanların ve bu hayvanların ürünlerini kullanan canlıların sağlıklarının uzun süreli maruz kalmaları durumunda tehlikeye düşüleceği kanısına varılmıştır.

T.C Tarım ve Orman Bakanlığından: Yemlerde İstenmeyen Maddeler Hakkında Tebliği (Tebliğ No: 2014/11) de mikotoksinler için belirlenen üst limitler incelendiğinde HT-2 ve T-2 mikotoksinleri için üst limit belirtilmemiştir. Çalışmamızda yem örneklerimizin

büyük bir kısmının HT-2 ve T-2 mikotoksinleri ile pozitif bulaş göstermiş olmaları bizi yemlerde HT-2 ve T-2 mikotoksinlerinin de denetlenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

# 4 SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada yem örneklerimizin (32 adet) farklı mantar türleri tarafından oluşturulan mikotoksinler ile kontamine olma durumlarını inceledik. Elde ettiğimiz verilerden yem örneklerimizin büyük çoğunluğunda farklı mikotoksin türleri ile kontamine olma durumları görüldü.

Analizi yapılan yemlerimiz içerisinde 2 yem örneğimizde mikotoksinlerle bulaş görülmezken 3 farklı yem örneğimizde ise mikotoksin oranı Hayvan yemlerinde istenmeyen maddeler tebliğinde belirtilen limitlerin üzerinde çıkmıştır.

Örnek 9 ve Örnek 19 AFB1 yönünden örnek 10 ise ZAE yönünden limitin üzerinde sonuç vermiştir. Bu yemlerin yasal olarak kullanılmaması gerekmektedir. Bu yem örneklerimizin hasat, üretim, taşıma ve depolama süreçlerinin ayrı ayrı incelenmesi gerekmektedir. Bu yem örneklerimizde bulaş üretim aşamasında gerçekleşmiş olma ihtimalinin yanında tüm aşamalarda temiz kalıp örneği aldığımız çiftçimizin olumsuz saklama koşullarından da kaynaklanabilir. Tüm yem örneklerimizi yöntemimizde belirttiğimiz gibi kapalı torbaları açtırarak topladık. Bu üç yem örneğimizi farklı kullanıcılardan aynı yöntemle toplayarak daha detaylı incelemeler sonucunda mikotoksin ile bulaşın hangi süreçte gerçekleştiğini öğrenmemiz mümkün olabilir. Ayrıca bu yemler ile beslenen hayvanların sağlıklarının düzenli olarak kontrol edilmesi ve bu hayvanlardan elde edilen ürünlerin analizi yapılarak toksin maddelerin süt ile geçiş miktarı tespit edilebilir.

27 yem örneğimizde bir ve birden fazla mikotoksin ile bulaş görüldüğü yapmış olduğumuz analiz sonucunda tespit edilmiştir. Daha önce yapılan araştırmalar ve çalışmalar bize yemler üzerinde toksin oranının arttıkça hayvan sağlığını etkilediğini ve bunun da dolaylı olarak insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri olacağını göstermektedir. Yayınlanan tebliğde bazı mikotoksin türler için limit belirlenmemiştir (HT-2, T-2). Analiz sonuçlarımız bize incelemiş olduğumuz çoğu yem örneğinin HT-2 ve T-2 türüyle kontamine olduğunu göstermektedir.

Aspergillus, Fusarium ve Penicillium türü mantarların oluşturduğu mikotoksin türleri araştırma yaptığımız bölgede kullanılmakta olan hayvan yemlerinde görülmektedir. Hayvan yemleri üzerinde oluşan bu toksinlerin hangi süreçte bulaştığı konusunun araştırılması gerekmektedir. Toplamış olduğumuz yem örneklerini doğrudan çiftçimizden aldığımız için hayvan yemlerinin hangi süreçte bulaş gösterdiği tahmin edilememektedir. Fakat yem örneklerini aldığımız çoğu çiftçinin profesyonel bir depolama ve saklama alanı bulunmamaktadır.

Daha önce yapılan çalışmalar yemlerin birden fazla toksik madde ile kontamine olduğunda hayvan sağlığı için olumsuz sonuçlar doğurduğu göstermektedir. 32 Farklı yem örneğimizin birden fazla mikotoksin ile bulaş gösterdiği tespit edilmiştir. Mikotoksin oranları tebliğde belirtilen miktarların altında olmasına rağmen aynı yem örneği üzerinde 1 ve üzeri mikotoksini tespit edilmesi yemlerin çok sağlıklı olmadığını düşündürmektedir. Ayrıca tebliğde bazı mikotoksin türleri için limit belirtilmemiş olması hayvan sağlığının ve o hayvanın ürünleriyle beslenecek olan canlıların sağlıkları açısından olumsuz sonuçlar doğuracağı düşünülmektedir.

Yapmış olduğumuz çalışmamızda Çankırı ili Merkez ve Kızılırmak ilçelerimizde kullanılan yemlerin hayvan yemlerinde istenmeyen maddeler tebliğine göre sadece 3 örneğimizin sorunlu olduğu geriye kalan 29 örneğimizin yasal olarak bir sorun teşkil etmediği görülmektedir. Yem örneklerimizin hasat öncesi, hasat esnası ve hasat sonrasında birden fazla mikotoksin ile bulaş göstermiş olduğu düşünülmektedir. Bölgemizde üretilen süt ve süt ürünlerinin araştırılması önerilmektedir. Hayvan yemlerinin birden fazla mikotoksin ile kontamine olduğunun tespit edilmesi bölgemiz hayvan sağlığı için olumsuz sonuçlar doğurabilmektedir.

Yemlerimizde birden fazla mikotoksin ile kontamine olmanın önüne geçebilmek için üretimden tüketime kadar geçen sürenin her aşamasında denetim yapılması gerektiği ve uygun koşulların her zaman sağlanılması gerektiği önerilmektedir. Ayrıca HT-2 ve T-2 mikotoksinleri ile birden fazla yem örneğimizin kontamine olduğunun tespit edilmesi bu mikotoksin türleri için de limit belirlenmesinin gerekliliğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR


Al- Julaifi, M.Z, Al-Falih, A.2001. Detection of trichothecenes in animal feeds and foodstuffs during the years 1997 to 2000 in Saudi Arabia, J Food Prot.

Altunatmaz, S., Issa, G., Aydin, A., 2012. Detectıon of Airborne Psychrotrophıc bacterıa and Fungı ın Food Storage Refrıgerators, Brazilian Journal of Microbiology 1436-1443.

Anon 2000. Mikotoksinler ve Toksin Bağlayıcılar. Kanatlı Ar-Ge Yayınları no 1. Bey Ofset, Ankara, 107 s.

Arda, M., 1980 Mikoloji. A.Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları Basımevi, No:366, Ankara.

Ayaz, A., Yurttagül, M., Besinlerdeki Toksik Öğeler. Hacettepe Üniversitesi- Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Sağlık Bakanlığı 2008; Yayın No: 727

Bakırcı, G., 2014. Tahıl ve Tahıl Ürünlerinin Aflatoksin, Okratoksin A, Zearalenon, Fumonisin ve Deoksinivalenol Mikotoksinleri Yönünden İncelenmesi, Akademik Gıda 12(2) 46-56

Basmacıoğlu, H., Ergül, M., 2003. Yemlerde Bulunan Toksinler ve Kontrol Yolları. Hayvansal Üretim Dergisi, 44(1): 9-17.

Bendele, A.M., Carlton, W.W., Krogh, P., Lillehoj, E.B., 1985. Ochratoxin A carcinogenesis in the J Natl Cancer Inst., 75(4): 733-742

Beyoğlu, D., Omurtag, G., 2003.Hububat ve bakliyat örneklerinde deoksinivalenol (vomitoksin)'in yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi ile araştırılması. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu (Ed: Heperkan, D., Dalkılıç, G., Şenyuva, H.), 18-19 Eylül 2003, İstanbul.

Bhat, R., Rai, V., Karim A., 2010 Mycotoxins in Food and Feed: Present Status and Future Concerns Vol.

Bondy, G.S., Suziki, C.A., Fernie, S.M., Armstrong, C.L., Lierlihy, S.L., Savard, M.E., Barker, M.G., 1997. Toxicity of fumonisin B1. Food Chem. Toxicol. 35 :981 – 989.

Bondy, G.S., Armstrong, C.L., 1998. Cytotoxicity of nephrotoxic fungal toxins to kidney Carcinogenesis 19(7): 1313- 1318.

Bullerman, L.B., 1979. Significance of Mycotoxins to Food Safety and Human Health: Journal of Food Protection, 42 (1): 65–86.

Bullerman, L.B., 1986. Mycotoxins and Food Safety: Food Techonology. A Scientific Status Summary by The Institute of Food Technologists' Expert Panel on Food Safety & Nutrition, 59-66.

Büyüker, M., 2019. Ekmek ve Bazı Tahıl Ürünlerinde Okratoksin A Bulunurluğu ve Toksik Etkileri, Akademik Gıda 17(2) 300-305.

Chelule, P.K., Gqaleni, N., Dutton, M.F., Chuturgoon, A.A., 2001. Exposure of rural and urban populations in Kwazulu Natal, South Africa, to fumonisin B (1) inmaize. Environ Health Perspect. 2001 Mar;109(3):253-6.

Creppy, E. E., 2002. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. Toxicology Letters, 127, 19-28.

Çon, H., Nizamloğlu, M., 2010. Gıda ve Yemlerde Önemli Mikotoksinler: Sitrinin, Sitreoviridin ve Sterigmatosistin, Akademik Gıda 8(5) 29-36

Dashti, B., Al-Hamli, S., Alomirah, H., Al-Zenki, S., Abbas, A., Sawaya, W., 2009. Levels of aflatoxin M1 in milk, cheese consumed in Kuwait and occurrence of total aflatoxin in local and imported animal feed, Food Control 20 (7).

Deshpande, S. S., 2002. Handbook of Food Toxicology, pp: 387-457,

Marcel, Dekker., D'Mello, J. P. F., Mcdonald, A. M. C., 1997. Mycotoxins. Animal Feed Science Technology, 69, 155-166.

Dragacci, S., Grosso, F., Bire, R., Fremy, J.M., Coulon, S., 1999. A French monitoring programme for determining ochratoxin A occurrence in pig kidneys. Nat Toxins., 7, 167-173.

Edwards, S. G., Guillot, B.B., Clansen, P.E., Hietanemi, V., 2009 Emerging issues of HT2 and T-2 toxins in European cereal production World Mycotoxin Journal 2(2):173-179.

El Khoury, AE., Atoui, A., 2010. Ochratoxin a: General overview and actual molecular status. Toxins, 4: 461-493.

Elling, F., Nelsen, J.P., Lillehoj, E.B., Thomassen, M.S., Stormer, F.C, 1985. Ochratoxin A induced porcine nephropathy: Enzyme and ultrastructural changes after short-term exposure. Toxicon., 23, 247–254.

Frisvad, J.C., Smedsgaard, J., Larsen, T.O., Samson, R.A., 2004. Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in Penicillium subgenus Penicillium. Studies in Mycology, 49, 201-242.

Galvano, F., Galofaro, V., Ritieni, A., Bognanno, M., De Angelis, A., Galvano, G., 2001.Survey of the occurrence of afl atoxin M1 in dairy products marketed in Italy: second year of observation. Food Addit. Contam., 18: 644-646.

Gelderblom, W.C., Jaskiewicz, K., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Horak, R.M., Vleggaar R., Kriek, N.P.J. 1988. Fumonisins-novel mycotoxins with cancaer-promoting activity produced by fusarium moniliforme. Appl. Environ.Microbiol. 54: 1806-1811.

Gelderblom, W.C., Kriek, N.P., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., 1991. Toxicity and carcinogenicity of the Fusarium moniliforme metabolite, fumonisin B1 in rats. Carcinogenesis. 12 :1247 – 1251.

Girgin, G., Başaran, N., Şahin, G., 2001. Dünyada ve Türkiye'de İnsan Sağlığını Tehdit Eden Mikotoksinler Cilt 58, No 3, S: 97-118 Türk Hij Den Biyol Derg

Groopman, J.D. and Kensler, T.W., 1988. Aflatoxin Exposure in Human Populations: Measurements and Relationship to Cancer, CRC Critical Review in Toxicology, 19(2), 113-145.

Gürsoy, N., Biçiçi, M., 2003. Çukurova'da buğday ve mısır ürünlerinde saptanan fungal infeksiyonlar ve sonuçlanan bazı mikotoksinler. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu (Ed: Heperkan, D., Dalkılıç, G., Şenyuva, H.), 18-19 Eylül, İstanbul.

Hald, B., 1991. Porcine nephropathy in Europe. IARC Sci Publ., 115, 49-56.

Halkman, Kadir., 1988, Funguslar ve Mikotoksinler Gıda Mühendisliği Bölümü GDM310 Gıda Mikrobiyolojisi II Ders notu 17.

Hamilton, P.B., Huff, W.E., Harris, J.R., Wyatt, R.D., 1982. Natural occurrences of ochratoxicosis in poultry. Poult Sci., 51, 1832.

Han, Z., Tangni, E.K., Mavugnu, J.D., Vanhaecke, L., Saeger, S., Wu, A., Callebaut, A. 2013. In vitro glucuronidation of ochratoxin a by rat liver microsomes. Toxins (Basel), 5(12), 2671-2685.

Harvey, R.B., Kubena, L.F., Phillips, T.D., Corrier, D.E., Elissalde, M.H., Huff, W.E.,1991. Diminution of aflatoxin toxicity to growing lambs by dietary

supplementation with hydrated sodium calcium aluminosilicate. Am J Vet Res 1991;52(1): 152-6

Harvey, R.B., Kubena, L.F., Phillips, T.D., Corrier, D.E., Elissalde, M.H., Huff, W.E.,1991. Diminution of aflatoxin toxicity to growing lambs by dietary supplementation with hydrated sodium calcium aluminosilicate. Am J Vet Res 1991;52(1): 152-6.

Hsieh, D.P.H., Wong, Z.A., Wong, J.J., Michos, C and Ruebner, B.H., 1977. Comparative Metabolism of Aflatoxin: Mycotoxins in Human and Animal Health. Rodricks, J.V., Hesseltine, C.W., Mehlman, M.A. (Eds.), Pathotox Publishers, Inc., Park Forest South, Illinois. pp. 37-50.

İpçak, H., Alçiçek, A., 2013. Yemlerde Aflatoksin Gelişimi ve Süte Geçme Durumu 8. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi Çanakkale- 2013

Jaimez, J., Fente, C, A., Franco, C, M., Cepeda, A., Vazquez, BI. 2004. A survey on the fungal contamination and presence of ochratoxin A and zearalenone on Spanish feed and raw materials. Journal of the Science and Food Agriculture, 84: 832-840

Kabak, B., Var, I., 2005, Fusarıum Toksinleri, Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi

Kap, P.S., 2002.Çekirdeksiz üzümlerde Okratoksin A üreticisi küflerin dağılımı üzerinde nem ve sıcaklığın etkilerinin araştırılması. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Kara, R., Uyarlar. C., 2018. ‘’Determination of Aflatoxin B1, Zearalenone and Deoxynivalenol in Feedstuffs and Aflatoxin M1 in Bulk-Tank Milk at Dairy Cattle Farms’’ Van Vet J, 2018, 29 (3) 179-183

Karabulut, Ö., Değirmencioğlu, T., 2002. Hayvan Yemi Olarak Kullanılan Buğday Danelerinde Toksin Oluşumuna Neden Olan Fungusların Sodyum Hidroksit Uygulamasıyla Engellenmesi Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg., 2002 16: 129-138

Karagözlü, N., Karapınar, M., 1998. Bazı Tahıl ve Ürünlerinde Okratoksin-A ve Fungal Kontaminasyon, Turk Biol 24 (2000) 561–57

Karagözlü, N., Karapınar, M.,2000. Bazı Tahıl Ürünlerinde Okratoksin-A ve Fungal Kontaminasyon. Turkish Journal Of Biology. 2000; 24: 561-572.

Kaya, S., Yarsan, E., 1995. Yem ve Yem Hammaddelerinden Küflenmenin Önlenmesi ve Mikotoksinlerle Kirletilmiş Bu Tür Yemlerin Değerlendirilmesine Yönelik Uygulamalar Ankara Üni" Vet Fak Derg 42 (2): 111-122, 1995

Kaya, S.,1989. Aflatoksinler ve diğer mikotoksinler. Türk. Vet. Hek. Dergisi 1989;(2):126.

Kaya, S., Yavuz, H., Akar, F.,1990. Bazı yağlı tohum küspelerinde mikotoksin kalıntıları, Ankara Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 37 (1): 173-180,

Kök, Z., 2006. Aydın İli ve Çevresinde Üretilen Süt ve Süt ürünlerinde Aflatoksin Varlığının Araştırılması. Adan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, AYDIN VFT-YL-2006- 001 Tezi

Kussak, A., Andersson, B., Andersson, K. 1995. Immunoaffinity column clean-up for the highperformance liquid chromatographic determination of aflatoxins B1, B2, G1, G2, M1 and Q1 in urine. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 672(2), 253-259.

Li, S., Zhang, Q. H., 2001. Advances in the development of functional foods from buckwheat. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 41 (6): 451–464

Mahmoudi, R., Norian, R., 2015. Aflatoxin B1 and M1 contamination in cow feeds and milk from Iran, Food and Agricultural Immunology, 26:1, 131-137

Makau, C., Matofari, W., Muliro, P., Bebe, B., 2016. Aflatoxin $B_1$ and Deoxynivalenol contamination of dairy feeds and presence of Aflatoxin $M_1$ contamination in milk from smallholder dairy systems in Nakuru, Kenya, International Journal of Food Contamination

Marasas, W.F.O, Kellerman, T. S., Gelderblom, W.C.A., Coetzer, J.A.W., Thiel, P. G., Vanderlugt J. J.,1988. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from Fusarium moniliforme. Onderstepoort J. Vet. Res. 55:197–203.

Marquardt, R.R., Frohlich, A.A., 1992. A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. Journal of Animal Science, 70(12): 3968-3988.

Mateo, J. J., Mateo, R., Hinojo, M. J., Lloreans, A., Jimenez, M., 2002. Liquid chrom atographic determination of toxigenic secondary metabolites produced by Fusarium strains. Journal of Chromatography A, 955, 245-256.

Meronuck, R., Xie, W.,1990. Mycotoxins in Feed. Feedstuffs; s.123-30.

Mor, F., Kılıc, M.A., Ozmen, O., Yılmaz, M., Eker, I., Uran, K., Haligur, M., Mantle, P.G., 2014. A Role for Testosterone in the Rat Gender Difference in Toxicological Response to Ochratoxin A. Exp Toxicol Pathol., 66, 267-275

Norred, W.P., Voss, K.A., Riley, R.T., Meredith, F.I., Bacon, C.W., Merrill, A.H.JR., 1998. Mycotoxins and health hazards: toxicological aspects and mechanism of action of fumonisins. Toxicological Sciences. 23: 160 –164.

O'Brien, E., Heussner, A.H., Dietrich, D.R., 2001. Species-, sex-, and cell type-specific effects of ochratoxin A and B. Toxicol Sci., 63, 256–264.

Oruç, H., 2006. Mikotoksinler ve Tanı Yöntemleri, Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med. 24 (2005), 1-2-3-4: 105-11

Özkaya, Ş., Temiz, A., 2003. Aflatoksinler: Kimyasal Yapıları, Toksisiteleri ve Detoksifikasyonları, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi Yıl: 2003 Cilt: 01 Sayı: 01 Sayfa: 1-21

Özkaya, Ş. 2001. Ülkemizde Aflatoksin Sorunu Yaşanan Bazı Gıdalarda AFB1'in Azaltılması veya Giderilmesinde Flavobacterium aurantiacum'un Etkinliğinin Araştırılması.

Özkaya, Ş., Aşkın, O., 1994. Mısırda Zearalenone Oluşumu Üzerine Araştırmalar.Gıda (19)5 339-344

Öztürk, M., 1995. P53 Mutations in Nonmalignant Human Liver: Fingerprints of Aflatoxins. Hepatology, 21 (2): 600-601.

Park, D.,2002. Mycotoxin control-regulations. In Int. Workshop on Mycotoxin. July, 22-26, 2002. FDA and JIFSAN, University of Maryland, USA.

Pitt, J.L., 2002.Biology and ecology of toxigenic Penicillium species, in: Mycotoxins and Food Safety. pp 29-41. J.W.Devries, M.W.Trucksess, and L.S.Jacson., eds. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 2002.

Placinta, C.M., D'Mello, J.P.F., Macdonald, A.M.C., 1999. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with Fusarium mycotoxins. Animal Feed Science and Technology 78: 21-37.

Pohland, A.E., 1993. Mycotoxins in Review. Food Addivites and Contaminants. 10 (1), 17-28.

Prange, A., Birzele, B., Kramer, J., Meier, A., Modrovv H., Köhler, P., 2005. Fusarium-inoculated wheat: deoxynivalenol contents and baking quality in relatioıı to infection time. Food Control, 16, 739-745.

Proctor, R.H., 2000. Fusarium Toxins: Trichothecenes and Fumonisis. In, Microbial Foodborne Diseases; Mechanism of Pathogenesis and Toxin Synthesis. Eds. JW

Cary, J: Linz, D. Bhatnagar. Technomic Publishing Co Inc, Pennsylvania, USA, 550 pp.

Ringot, D., Lerzy, B., Bonhoure, J., Auclair, E., Oriol, E., Larondelle, Y., 2005. Effect of temperature on in vitro Ochratoxin A biosorbtion onto yeast cell wall derivatives. Process Biochemistry, 40, 3008-3016.

Sabuncuoğlu, S.A,2008. Mikotoksinler: Toksik Etkileri, Degredasyonları, Oluşumlarının Önlenmesi ve Zararlı Etkilerinin Azaltılması, Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi 2008;28(1):63-92.

Salem, H., 2003. Issues in chemical and biological terrorism. International Journal of Toxicology, 22, 465-471.

Saraçoğlu, A., Ergun, B., 2003. Fumonisinler: Toksisite ve Etki Mekanizmları Üzerine AÜ Bilim ve Teknoloji Dergisi Cillt/Vol.: 4- Sayı/No: 2: 235-246 (2003)

Schollenberger, M., Jara, H. T., Suchy, S., Drochner, W., Müller, H.M., 2002. Fusarium toxins in vvheat flour collected in an area in southvvest Germany. International Journal of Food Microbiology, 72, 85-89.

Smith, J.E., 1997. Aflatoxins: Handbook of Plant and Fungal Toxicant. J.P. Felix D'mello (Ed.). CRC Press. pp. 269-285.

Sorensen, L.K., Elbaesk, T.H., 2005. Determination of mycotoxins in bovine milk by liquid chromatography tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. B 2005; 820:183-196.

Steyn, P.S., Stander, M.A., 1999. Mycotoxins with special reference to the carcinogenic mycotoxins fumonisins. In: Ballantyne, B., Marrs, TC., Syversen, TLM., eds. General And Applied Toxicology. 2nd ed, United Kingdom: Macmillan Reference Ltd.: 2145-2176.

Streit, E., Schatzmayr, G., Tassis, P., Tzika, E., Marin, D., Taranu, I., Tabuc, C., Nicolau. A.,2012. Current Situation of Mycotoxin Contamination and Co-occurrence in Animal Feed—Focus on Europe, *Toxins* 2012, *4*(10), 788-809

Svveeney, M. J., Dobson, A. D. W., 1999. Molecular biology of mycotoxin biosynthesis. FEMS Microbiology Letters, 175,149-163.

Şahin, T., Şehu, A., 2015. Yemlerde Mikotoksinler ve Toksinleri Azaltma Yolları Turkiye Klinikleri J Anim Nutr&Nutr Dis-Special Topics 2015;1(1):54-65

Şahindokuyucu, F., Mor, F., Oğuz, M., Oğuz, F., 2010. Burdur İl'inde Toplanan Silajlarda Mikotoksin Varlığının ve Düzeylerinin Araştırılması, Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med. 29 1: 49-54

Şanlı, Y., 1995. Mikotoksinler. In: Kaya S, ed. Veteriner Klinik Toksikoloji. 2. Baskı, Medisan Yayınevi No: 21; 1995. p.283-328.

Şengül, Ö., Şahindokuyucu, F., Özmen, Ö., Mor, F. 2015. Okratoksin A ve Etkileri, Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med. 34 1,2: 71-76

Taylor, D.R.,199. Mycotoxin binders. Feedstuffs 18:41-5.

Topçu, A., Tayfur, M.,1999. F-2 FES ve Zearalenon, Gıda (1999)24 (5)

Tunail, N.,2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını, Sim matbaası, Ankara

Uçkun, Z., Yıldız, M., 2003. Hububatta Fusarium spp'nin neden olduğu sorunlar; buğdayda başak yanıklığı mısırda koçan çürüklüğü. Mikotoksinler Biyoteknolojisi; Sorunlar ve Çözümler Çalıştayı (Ed: Eltem, R., Aksoy, U., Meyvacı, K. B.), 17-20 Haziran, Bornova, İzmir

Ueno, Y., 1985. The Toxicology of Mycotoxins, CRC Critical Review in Toxicology, 14(2), 99-132.

Visconti, A., Pascale. M., 1998. Determination of zearalenone in corn by means of immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. Journal of Chromatography A, 8 15 ,133-140.

Vulic, A., Pleadin, J., Persi, N.,2011 Determination of T-2 and HT-2 Toxins in Commodities and Feed in Croatia, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 86(3):294-7

Wilson, B.J., 1978, Hazards of Mycotoxins to Public Health, Journal of Food Protection, 41(5), 375-384.

Yang, C., Song, G., Lim, W.,2020. Effects of mycotoxin-contaminated feed on farm animals, 2020

Yaroğlu, T., Gül, M., 2007. Erzurum İli Piyasasında Tüketime Sunulan Yavru Alabalık Yemlerinde Aflatoksin B1 Varlığının Araştırılması YYÜ Vet Fak Derg 18(2):51-58

Yentür, G., Er, B., 2012. Gıdalarda aflatoksin varlığının değerlendirilmesi. Turk Hij Den Biyol Derg, 2012; 69(1): 41-52

Yıldız, G.,2009. Türkiye'de çeşitli hayvancılık işletmelerinde kullanılan karma yemlerin ve yem hammaddelerinin okratoksin A kirliliği yönünden incelenmesi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2009; 56:131-5

Yılmaz, K., Elmalı, D.,2016. Sivas İlinde Bazı Hayvancılık İşletmelerinde Kullanılan Sığır Besi Yemlerinde Okratoksin-A Düzeylerinin Belirlenmesi, Kocatepe Vet J 9(3):179-184

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Elvan Emir GÜLDEN

### Eğitim

| | | |
|---|---|---|
| Yüksek Lisans | Çankırı Karatekin Üniversitesi<br>Fen Bilimleri Enstitüsü<br>Biyoloji Anabilim Dalı | 2018-Halen |
| Lisans | Hacettepe Üniversitesi<br>Eğitim Fakültesi<br>Fen Bilgisi Öğretmenliği | 2010-2014 |

### İş Deneyimi

| **Yıl** | **Kurum** | **Görev** |
|---|---|---|
| 2015-Halen | MEB | Öğretmen |