

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**HATAY İLİ SÜT İNEĞİ İŞLETMELERİNDE KULLANILAN
YEMLERİN AFLATOKSİN DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ VE
BU YEMLERİN KAN PARAMETRELERİ İLE SÜTTEKİ
AFLATOKSİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ
Ferhat POLAT

Danışman
Prof. Dr. Taylan AKSU

HATAY – 2013

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**HATAY İLİ SÜT İNEĞİ İŞLETMELERİNDE KULLANILAN
YEMLERİN AFLATOKSİN DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ VE
BU YEMLERİN KAN PARAMETRELERİ İLE SÜTTEKİ
AFLATOKSİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ
Ferhat POLAT

Danışman
Prof. Dr. Taylan AKSU

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
1001 D 0101 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY - 2013

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**HATAY İLİ SÜT İNEĞİ İŞLETMELERİNDE KULLANILAN
YEMLERİN AFLATOKSİN DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ VE
BU YEMLERİN KAN PARAMETRELERİ İLE SÜTTEKİ
AFLATOKSİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Doktora Tezi
Ferhat POLAT

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 26/03/2013 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oy çokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri Başkanı: Prof. Dr. Taylan AKSU

Üye: Prof. Dr. Zeynep ERDOĞAN

Üye: Doç. Dr. Mehmet GÜL

Üye: Yrd. Doç. Dr. Devrim SARIPINAR AKSU

Üye: Yrd. Doç. Dr. Bülent ÖZSOY

Bu tez, Enstitümüz Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

.../.../2013

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca ve tez çalışmalarımın her aşamasında her türlü desteği ve yardımı esirgemeyen, yönlendirmeleri ve tecrübeleriyle rehberlik eden çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Taylan AKSU'ya en içte dileklerle teşekkür ederim.

Tez İzleme Komitemde yer alan ve bana desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Devrim SARIPINAR AKSU ve Yrd. Doç. Dr. Bülent ÖZSOY ile Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ile doktora öğrencisi Ercüment ÖNEL'e, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Fatih SAKİN'e ve saha çalışmasında bana destek olan Recep YAZAR ve Hilal YAZAR'a teşekkür ederim.

Analizlerimin başından sonuna kadar her aşamada yanımda olan değerli arkadaşım Yüksek Kimyager Abdo ÖZKAN başta olmak üzere Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi çalışanlarına ve analizlerimin çeşitli aşamalarına katkı sağlayan Kimya Bölümü öğrencilerine içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmaları sırasında araştırma materyallerimin korunması için MKÜ Ziraat Fakültesi Hayvan Besleme Laboratuvarının kapılarını açan ve her aşamada lojistik destek sağlayan Yrd. Doç. Dr. Metin DURU'ya ve analizlerle ilgili her konuda yönlendirmelerde bulunan Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde görevli Dr. Murat Reis AKKAYA'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sekreteri Zeynep MELEK ile enstitü çalışanlarına ve tez projesine maddi destek sağlayan Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkürlerimi sunuyorum.

Bütün bu süreçte manevi desteğini esirgemeyen eşime ve biricik kızıma ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Kabul ve Onay	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
ÖZET	XII
ABSTRACT	XIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mantarlar	3
2.2. Mikotoksinler	7
2.3. Mikotoksikozlar	10
2.4. Mikotoksin Yaygınlığı	12
2.5. Aflatoksinler	18
2.5.1. Genel Bilgiler	18
2.5.1.1. Aflatoksin Çeşitleri	20
2.5.1.2. Etki şekli	24
2.5.1.3. Atılım	29
2.5.2. Aflatoksikozis	30
2.5.2.1. Tanı	35
2.5.3. Aflatoksin Limitleri	39
2.5.4. Sütte AFM ₁ Oluşumu ve Geçiş Düzeyini Etkileyen Faktörler	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM	45
3.1. Gereç	45
3.1.1. Hayvan Gereci	45
3.1.1.1. İşletmelerin Seçimi	45

3.1.1.2.	Hayvanların Seçimi	45
3.1.2.	Yem, Süt ve Kan Gereci	45
3.1.2.1.	Yem Numuneleri	46
3.1.2.2.	Konsantre yemler	46
3.1.2.3.	Kaba Yemler	46
3.1.2.4.	Süt Örnekleri	47
3.1.2.5.	Kan Örnekleri	47
3.2.	Yöntem	48
3.2.1.	Örneklerin Analizi	48
3.2.1.1.	Kullanılan Malzemeler	48
3.2.1.2.	Yem Örneklerinin Analizi	49
3.2.1.3.	Süt Örneklerini Analizi	51
3.2.1.4.	Kan Örneklerinin Analizi	53
3.2.2.	Sonuçların Değerlendirilmesi	53
4.	BULGULAR	54
4.1.	Yem Analiz Sonuçları	54
4.1.1	Konsantre Yemler	55
4.1.2	Kaba Yemler	57
4.2.	Süt Örneklerinde Aflatoksin M ₁ (AFM ₁) Düzeyleri	58
4.3.	Biyokimyasal Parametreler	61
4.3.1.	Serum AST Aktivitesi	61
4.3.2.	Serum ALT Aktivitesi	61
4.3.3.	Serum ALP Aktivitesi	61
4.3.4.	Serum GGT Aktivitesi	63
4.3.5.	Kan Lipitleri	63
4.3.6.	Kan Üre Nitrojen (BUN)	64
4.3.7.	Kreatinin	64
4.3.8.	Total Protein	64
5.	TARTIŞMA	65
6.	SONUÇ	76
7.	KAYNAKLAR	79
	ÖZGEÇMİŞ	89

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1: Mikotoksikozların insan ve hayvanlara geçiş yolları	11
Şekil 2.2: Dünya mikotoksin haritası	13
Şekil 2.3: Test edilen örneklerle negatif ve pozitif örneklerin kıyaslaması	14
Şekil 2.4: Aflatoksin B ₁ 'in doğal sentez mekanizması	19
Şekil 2.5: Aflatoksinler	21
Şekil 2.6: Aflatoksin B ₁ 'in karaciğerdeki metabolizması	23
Şekil 2.7: Aflatoksinlerin immunoaffinite kolonu ile elüsyonu	37
Şekil 2.8: Maskeli mikotoksinlerin bitkilerdeki biyotransformasyon mekanizması	38
Şekil 2.9: Toksinlerin diffüzyon mekanizması	42
Şekil 4.1: Konsantre yemlerde tespit edilen AFB ₁ düzeylerinin işletmelere göre dağılımı.	55
Şekil 4.2: Kaba yemlerde tespit edilen AFB ₁ düzeylerinin işletmelere göre dağılımı	57
Şekil 4.3: Ticari karma yemlerde AFB ₁ düzeyleri	58
Şekil 4.4. Sütteki AFM ₁ düzeylerinin işletmelere göre % dağılımı	59
Şekil 4.5: Yemle alınan toplam aflatoksin düzeyleriyle kan parametrelerinin korelasyonu	63

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 1.1: Gıda ve yemlerde görülen başlıca mikotoksin üreticileri ve ürettikleri mikotoksinler	2
Çizelge 2.1: Bazı mantarlar için uygun su aktivitesi (aW) değerleri	4
Çizelge 2.2: Bazı mantar türlerinin gelişimleri ve mikotoksin üretimleri için ısı (°C) değerleri	4
Çizelge 2.3: Bazı tarım ürünlerinde sık karşılaşılan mikotoksinler	6
Çizelge 2.4: Başlıca tarımsal ürünlerin depolanabilmesi için öngörülen nem oranları ve dayanma süreleri	7
Çizelge 2.5: Bazı mantarlar ve ürettikleri toksinler	8
Çizelge 2.6: Mikotoksinler ve toksik etkileri	9
Çizelge 2.7: Hayvanlarda mikotoksikozis şekilleri	10
Çizelge 2.8: Bazı yem ve gıda maddelerinde Türkiye ithalat rejimi	16
Çizelge 2.9: Bazı yem ve gıda maddelerinde Türkiye ihracat rejimi	17
Çizelge 2.10: Aflatoksinlerin karaciğer üzerindeki etkileri	27
Çizelge 2.11: Aflatoksinler ve etkilenen sistemler	28
Çizelge 2.12; Aflatoksin B ₁ 'in kronik toksisitesi (aflatoksin B ₁ yedirilerek yapılmış denemelerde alınan sonuçlar)	33
Çizelge 2.13: Türkiye'de yem maddelerinde aflatoksin B ₁ limitleri	40
Çizelge 2.14: Türkiye gıdalar için belirlenmiş aflatoksin limitleri	40
Çizelge 2.14: Türkiye gıdalar için belirlenmiş aflatoksin limitleri (devam...)	41
Çizelge 2.15: Süt sığırlarında taşınma oranının hesaplanması (vaka analizi – uyarılama)	43
Çizelge 3.1: Yem örnekleri için kalibrasyon standartları	50
Çizelge 3.2: Yem Analizi için HPLC'ye girilen kalibrasyon değerleri	51
Çizelge 3.3: Süt örnekleri için kalibrasyon standartları	52

Çizelge 3.4: Süt analizi için HPLC'ye girilen kalibrasyon değerleri (ng/ml).	52
Çizelge 4.1: İşletmelerde tüketilen yemler	54
Çizelge 4.2: İşletmelerdeki yem örneklerinde tespit edilen AFB ₁ ve toplam aflatoksin düzeyleri	56
Çizelge 4.3: İşletmelerde mevcut hayvanlara ait genel profil ve AFB ₁ 'in süte AFM ₁ olarak geçiş düzeyi	60
Çizelge 4.4: Tespit edilen bazı kan parametreleri	62

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

€	Avro
ACN	Asetonitril
AFB ₁	Aflatoksin B ₁
AFB ₂	Aflatoksin B ₂
AFB _{2a}	Aflatoksin B _{2a}
AFB ₃	Aflatoksin B ₃
AFG ₁	Aflatoksin G ₁
AFG ₂	Aflatoksin G ₂
AFG _{2a}	Aflatoksin G _{2a}
AFL	Aflatoksikol
AFLA	Aflatoksin
AFM ₁	Aflatoksin M ₁
AFM ₂	Aflatoksin M ₂
AFP ₁	Aflatoksin P ₁
AFQ ₁	Aflatoksin Q ₁
ALP	Alkalin Fosfataz
ALT	Alanin Amino Transferaz
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists (Resmi Zirai Kimyasallar Kuruluşu)
AST	Aspartat Amino Transferaz
ATA	Allimenter Toxic Aleukia
aW	Su Aktivitesi
BUN	Kan Üre Azotu
CMT	Kaliforniya Mastitis Testi
CO	Carry-Over (Taşınma)
CO ₂	Karbondioksit
D3G	Deoksinivalenol-3-β-d-glukozid
DAS	Diasetoksiskirpenol
DNA	Deoksiribonükleik asit
DON	Deoksinivalenol
DS	Dilüe Standart
EC	Europe Commission (Avrupa Komisyonu)
EFSA	European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
ELEM	Equine löykoensefalomalazinin
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (Enzim Bağımlı İmmünolojik Ölçüm)
ERGOT	Ergotamin
FAO	Food and Agriculture Organization (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu)
FPIA	Fluorescence Polarization Immunoassay

GC	Gaz Kromatografisi
GGT	Gama Glutamil Transferaz
GSH	Glutasyon
HNO ₃	Nitrik Asit
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Likit Kromatografi)
IAK	İmmunoaffinite Kolonu
IARC	International Agency For Research On Cancer (Uluslar arası Kanser Araştırmaları Ajansı)
IgG	İmmunoglobulin G
KBr	Potasyum Bromür
KRE	Kreatinin
LD ₅₀	Ortalama Öldürücü Doz
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
M	Molar
MeOH	Metanol
µg	Mikrogram
mg/dl	Miligram/Desilitre
MS	Mass Spectrophotometry
NaCl	Sodyum Klorür
ng	Nanogram
NIV	Nivalenol
OTA	Okratoksin A
PAT	Patulin
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
Ppb	parts per bilion (milyarda bir)
Ppm	parts per milion (milyonda bir)
Ppt	parts per thousand (binde bir) ya da parts per trilion (trilyonda bir)
PR	PR Toksin
PTK	Pamuk Tohumu Küşpesi
RNA	Ribonükleik Asit
ROQ	Roquefortin
SİTR	Sitrinin
T	Tespit Edilemeyen Düzey
TC	Total Kolesterol
TENUA	Tenuazoik asit
TG	Trigliserit
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
TP	Total Protein
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
u/l	Ünite/Litre

UNICEF	Birleşmiş Milletler Çocuklara Yardım Fonu
UV	Ultraviyole
v/v	Hacim/Hacim ölçüsü
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
ZEA, ZON	Zearalenon

ÖZET

Hatay İli Süt İneği İşletmelerinde Kullanılan Yemlerin Aflatoksin Düzeylerinin Belirlenmesi ve Bu Yemlerin Kan Parametreleri ile Sütteki Aflatoksin Düzeyleri Üzerine Etkisi

Araştırmada, Hatay ilinde faaliyet gösteren 20 süt sığırı işletmesinde kullanılan kaba ve konsantre yemlerde AFB₁ ve total aflatoksin düzeyleri tespit edilerek, bu yemleri tüketen hayvanların sütlerinde AFM₁ oluşumu, yemle tüketilen AFB₁'in süte taşınma oranı ve total aflatoksin (AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂) düzeylerinin kan parametreleri üzerine etkisi incelendi. Her işletme bir grup olarak değerlendirildi. İşletmelerin % 45'inde konsantre yemlerdeki AFB₁ düzeyi 5 ppb (maksimum 7.503 ppb) düzeyin üzerinde yer alırken kaba yem örneklerinin hiç birinde AFB₁ miktarı 5 ppb düzeyi aşmadı. Tüm örneklerde, konsantre ve kaba yemlerdeki ortalama AFB₁ düzeyi ile ortalama AFB₁ tüketimi sırasıyla 4.496 ppb, 1.282 ppb ve 15.987 µg/gün olarak tespit edildi. Her işletmeden 5 süt sığırı olmak üzere toplam 100 hayvandan süt örnekleri alındı. İncelenen 100 süt örneğinin %2'sinde AFM₁ miktarı Türkiye için yasal limit olan 0.05 ppb düzeyi aşarken 20 işletmenin tamamında ortalama AFM₁ düzeyi yasal limitin altında yer aldı. İşletmelerin ortalama AFM₁ düzeyi ise 0.0214 ppb olarak tespit edildi. Yemle tüketilen toplam AFB₁ düzeyleri ile süt AFM₁ düzeyleri arasında pozitif korelasyon (r²: 0.940) belirlendi (P<0.01). İşletmelerin ortalama süte AFM₁ taşınma oranı % 2.66 olarak belirlendi (min. % 1.56, max. % 3.26). Yemle alınan total aflatoksin miktarları ile serum AST, ALP, ALT ve GGT aktiviteleri ile kolesterol, trigliserit, total protein, kreatinin ve kan üre nitrojen düzeyleri arasında korelasyon tespit edilmedi.

Sonuç olarak, mevcut araştırmada, (1) başta konsantre yemler olmak üzere yem hammaddelerinin depolanması ve idaresinde eksiklikler olduğu; (2) sütle AFM₁ atılımının süt verimi ve yem tüketimi ile bağlantılı olduğu belirlendi, (3) sütte yasal AFM₁ düzeyinin aşılması için sütçü ineklerde günlük 37.3 µg'ın altında AFB₁ tüketilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: AFB₁, AFM₁, Total Aflatoksin, HPLC, Kan Parametreleri

ABSTRACT

Determination of Aflatoxin Levels of Feeds Used in Dairy Cow Farms in Hatay Province and Their Effects on Blood Parameters and Milk Aflatoxin Levels

In the study, AFB₁ and total aflatoxin levels of roughages and concentrates from twenty dairy cow farms in Hatay province were determined, and AFM₁ formation in milk, carry over rate and, the possible effect of total aflatoxin levels (AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂) on blood parameters of the animals fed these feeds were investigated. Each farm was served as experimental unit. The AFB₁ levels in concentrates of 45% of farms were found to be above 5 ppb (max. 7.503 ppb) while no roughages samples did not exceed 5 ppb level. In all samples, average AFB₁ levels of concentrates and roughages, and average AFB₁ intake were 4.496 ppb, 1.282 ppb and, 15.987 µg/day, respectively. A total of one hundred milk samples were collected from each farms including five dairy cows. AFM₁ level in 2% of the milk samples were found to be exceeded the level of 0.05 ppb that was the statutory limit in Turkey but average AFM₁ levels were below throughout the farms. Average AFM₁ level of the farms was found to be 0.0214 ppb. A positive correlation was observed between total AFB₁ intake and milk AFM₁ level (r^2 : 0.940, $P < 0.01$). Average carry over rate of farms was found to be 2.66% (min. 1.56%, max. 3.26%). No correlation was observed between total aflatoxin intake and the activities of serum AST, ALT, ALP, GGT and, the level of cholesterol, triglyceride, total protein, creatinine and blood urea nitrogen.

Finally, in the current study, (1) some failures in storage and managements of feeds in the farms, especially concentrates; (2) AFM₁ excretion considerably associated with milk yield and feed intake were determined and (3) it was concluded that dairy cows should be consumed daily maximum 37.3 µg of AFB₁ not to exceed statutory limit for AFM₁ in milk.

Keywords: AFB₁, AFM₁, Total Aflatoxin, HPLC, Blood Parameters

1. GİRİŞ

İnsanoğlu bitkileri ekip biçmeye başladığı günden bu yana tarımsal ürünleri kirleten majör bitki patojenleri olan mantarlarla karşı karşıya kalmıştır. Tıbbi açıdan önemli olanlarının sayısı nispeten az olmakla birlikte (Bennet ve Klich 2003, Pitt ve Hocking 2009) toksijenik mantarlar çevrede yaygın olarak bulunur ve gıda kaynakları ile güçlü ekolojik bağlantılar kurarlar. Bitkilerde mantar büyümesi tarlada, depolarda ya da yemliklerde gerçekleşebilir. Gıda üretiminde doğal olarak yerleşik mantar florasında *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* türlerine daha sık rastlanır (DiCostanzo ve Murphy 1994, Pitt 2000, Pettersson 2004, Murphy ve ark. 2006). Gıda ve yemlerde görölen başlıca mikotoksin üreticileri ve ürettikleri mikotoksinler izelge 1.1’de gösterilmiştir.

Mikotoksinler çeşitli mantar türleri tarafından sentezlenen ve alındıkları zaman insan ve hayvanlarda latent, akut, subakut veya kronik karakterli toksikasyonlara neden olmakla birlikte mantarın normal üreme ve gelişme metabolizmasında etkileri olmayan sekonder metabolitlerdir. Bu toksik maddeler mantarın içerisinde veya üzerinde ürediği substratlara yayılırlar (Arda ve ark. 1997, Pitt 2000, Hussein ve Brasel 2001). Mikotoksin terimi Yunanca “*mykes*” (mantar) ve Latince “*toxicum*” (zehir) kelimelerinin birleşiminden oluşmuştur. Test edilen binlerce mantar türünden 350 civarında türün mikotoksin oluşturduğu ve bunlardan 20’den fazlasının insan ve hayvanlar için yüksek toksisiteye sahip olduğu ortaya konmuştur (Pohland 1993, Arda ve ark. 1997, Tunail 2000, Aydın 2007). Bununla birlikte bir mantar türü tarafından farklı mikotoksinler üretilebildiği gibi, bir mikotoksin farklı ailelere ait mantarlar tarafından üretilebilir (şener ve Yıldırım 2000, Hussein ve Brasel 2001, Bertin ve ark. 2009). Mikotoksinlerin ekonomik etkisi artan sağlık masrafları, azalan verim, kontamine yemlerin ayrılmak zorunda kalması, mikotoksin probleminin önlenmesi için yapılacak çalışmalara ayrılacak bütçeler ve hepsinden önemlisi insan ve hayvan hayatını tehdit etmesi ile ilişkilidir (Hussein ve Brasel 2001).

Mikotoksin probleminin önlenmesi veya etkilerinin azaltılması adına tarlada mantar kontaminasyonun önlenmesinden mikotoksinle bulaşık ürünlere detoksifikasyon yöntemlerine kadar birçok aşamada çok sayıda çalışma yapılmıştır (Adegoek ve ark. 1991, Samarajeewa ve ark. 1991, Magan ve ark. 2002, Aquino ve ark. 2005, Raila ve ark. 2006, Dixit ve Singh 2011). Bazı çalışmalarda ise saha taramalarıyla yemlerde aflatoksin varlığı

ve bunların süte geçiş durumları araştırılmıştır (Bingöl ve ark. 2007, Ayar ve ark. 2007, Sugiyama ve ark. 2008, Çeçen 2009, Karakaya ve Atasever 2010, Polat 2012).

Çizelge 1.1: Gıda ve yemlerde görülen başlıca mikotoksin üreticileri ve ürettikleri mikotoksinler (Tunail 2000).

<i>Aspergillus</i> toksinleri	<i>Penicillium</i> toksinleri	<i>Fusarium</i> toksinleri	<i>Alternaria</i> Toksinleri
Aflatoksinler	Sitrinin	Zearalenon (F-2	Alternariol
AFB ₁	Okratoksin A	toksin)	Alternariolmono-
AFB ₂	Sitreoviridin	Trikotesenler	metil-eter
AFG ₁	Rubratoksin A	Deoksinivalenol	Altartoksin
AFG ₂	Rubratoksin B	Nivalenol	Tenuazonikasit
AFM ₁	Patulin	Diasetoksiskirpenol	
AFM ₂	Penisilikasit	T-2 toksin	
AFB _{2a}	P-R (Pen. requeforti)-	HT-2 toksin	
AFG _{2a}	toksin	Tremortin	
AFB ₃	Luteosikrin	Fusarin-C	
Aspertoksin	İzlanditoksin	Fumonisin B ₁	
Sitrinin	Ksantosilin-X	Moniliformin	
Sterigmatosistin	Siklopiazonikasit		
Okratoksin A	Sitromisetin		
Patulin	Rugulosin		
Penisilikasit	Ksantomegnin		
	Rugulovasin A		
	Rugulovasin B		
	Verrukulotoksin		
	Emodin		

Mevcut araştırmada Hatay ilinde süt ineği işletmelerinde kullanılan yemlerde ve bu yemleri tüketen hayvanların sütlerinde aflatoksin varlığı ve yaygınlığı incelenmiştir. Özellikle süt ürünlerinden yapılan geleneksel gıda tüketiminin yoğun olduğu Hatay ilinde sadece hayvan sağlığını değil aynı zamanda insan sağlığını da etkileyebilecek olan aflatoksinlerin yaygınlığının tespiti önem taşımaktadır. Araştırma kapsamında gerçekleştirilen saha taraması Hatay ilinin güney ve orta kesimlerinde yer alan Antakya, Yayladağı ve Samandağ ilçelerini kapsayan alanda yapılmıştır. Aflatoksinlerin hayvan sağlığını ve dolayısıyla insan sağlığını olumsuz etkilediği düşünüldüğünde bu çalışma başta aflatoksin olmak üzere mikotoksinlerden kaynaklanan tehditlerin önüne geçilmesine yönelik çalışmalara katkı sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mantarlar

Mantarlar birçok doğal habitatı işgal edebilen ökaryotik organizmalardır. Bitkilerde kolonize olabilen yaklaşık 100.000 mantar türü bilinmektedir (Knogge 1996). Mantarlar, taksonomide Mycobiota (funguslar âlemi) içinde Zygomycota, Ascomycota, Deuteromycota ve Basidiomycota bölümleri altında yer alırlar (Tunail 2000, Pitt ve Hocking 2009). Yayılmaları sporları aracılığıyla olur. Uygun koşullarda mantar sporları hızla gelişebileceği gibi uygunsuz koşullarda ise yıllarca canlı kalabilir. Bir mantar sporundan gelişecek spor sayısı trilyonlarla ifade edilir ki bu durum mantarın oldukça geniş alanlarda ve büyük miktarlarda yiyecek maddelerini kirletebilmesini açıklar (Şanlı 2002).

Mantarların toksin oluşturma özellikleri bir genetik karakter olmakla beraber bunun için bazı şartların oluşması gerekmektedir (Arda ve ark. 1997). Bu kapsamda depolanacak ürünün özellikleri ve hasar durumu, ortamın rutubet miktarı, ortam ısısı ve havalandırma gibi faktörler mantar gelişimi ve toksin üretimini etkiler. Bunun yanında invaziv mantar türleri ile ortamda bulunması muhtemel başka türden mantarlar da önemlidir. Aynı şekilde mikotoksin sentezi, mantarın türü yanında sayısı, gelişme düzeyi ve çoğalma etkinliğini yönlendiren mikrokolojik koşullara göre de önemli değişiklikler gösterir (Şanlı 2002, Şener ve Yıldırım 2000).

Mantarlar için önemli çevresel koşulların başında rutubet gelir. Genellikle % 50-60'ın üstünde bulunan rölatif rutubet üreme için uygun koşullar sunar (Aydın 2007). Oransal rutubet miktarının diğer bir ifade biçimi ise su aktivitesi (aW) değeridir ve genel olarak relatif rutubetin ondalık değerle (aW: 1/100 relatif ortam rutubeti) ifade edilen halidir (Yıldırım 1980, Pitt ve Hocking 2009). Bazı mantar türleri için aW değerleri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1: Bazı mantarlar için uygun su aktivitesi (aW) değerleri (Anonim 2012b).

Mantar Türü	Uygun Su Aktivitesi Değeri (aW)
<i>Aspergillus flavus</i>	0.95-0.99
<i>Aspergillus parasiticus</i>	0.95-0.99
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0.95-0.99
<i>Penicillium verrucosum</i>	0.95
<i>Fusarium culmorum</i>	0.98-0.995
<i>Fusarium tricinctum</i>	0.98-0.995

Uygun üreme ısısı mantar türüne göre değişiklik gösterir ve türe bağlı olmakla birlikte mantarların 0-60 °C arasında üreme yeteneğine sahip oldukları söylenebilir. Bununla birlikte genel olarak 15 °C'nin üstündeki ısılar uygun üreme ısısı olarak kabul edilir (Aydın 2007). Trenk ve Hartman (1970) *Aspergillus flavus*'un 25-35 °C arası sıcaklıklarda mikroflorada dominant hale geldiğini ve toksin üretimine de bu sıcaklık düzeylerinde başladığını bildirmiştir. *Fusarium* türleri ise soğuğa daha dirençlidir (Şanlı 2002). Bazı türleri ise termofilik etki gösterirler. Bu termofilik türlerden *Thermoascus aurantiacus* için 46-51 °C ve *Sporotrichium thermophile* 36-43 °C uygun üreme ısılarıdır (Romanelli ve ark. 1975).

Çizelge 2.2: Bazı mantar türlerinin gelişimleri ve mikotoksin üretimleri için ısı (°C) değerleri (Anonim 2012b).

Mantar Türü	En Düşük Isı	Uygun Isı	Tolere edilebilen En Yüksek Isı	Mikotoksin üretebildikleri uygun ısı
<i>Aspergillus flavus</i>	10-12	25-35	42-43	30-33
<i>Aspergillus parasiticus</i>	10-12	32-35	42-43	33
<i>Aspergillus ochraceus</i>	8	24-37	37	25-31
<i>Penicillium verrucosum</i>	0	20	31-35	20-25
<i>Fusarium culmorum</i>	0-10	20-25	31-35	29-30
<i>Fusarium tricinctum</i>	5-10	20-25	35	-
<i>Fusarium graminearum</i>	-	24-26	-	29-30
<i>Fusarium proliferatum</i>	4	30	37	15-30

Mantarların gelişebilmek için daha fazla asit ortamları tercih ettikleri, bununla beraber pH 1.5 – 8.5 arasında gelişebildikleri bilinmektedir (Tunail 2000). Buchanan ve Ayres (1975), aflatoksin üretiminin en fazla pH 5-7 aralığına gözlendiğini pH 6'nın altındaki pH derecelerinde daha çok B toksinleri üretilirken üstündeki pH derecelerinde G toksininin üretildiğini belirtmiştir. Düşük pH derecelerinde ise fungal üreme ve spor şekillenmesi inhibisyona uğrar (Şanlı 2002).

Mantarlar aerob organizmalardır ve ortamdaki karbondioksit (CO₂) derişimi % 10'un üstüne çıktığında mantar florası hızla inhibisyona uğrar (Şanlı 2002). Bununla birlikte, oksijen yokluğunda alkolik fermentasyon yaparak gelişmelerini sürdürebilirler (Tunail 2000). Giorni ve ark. (2008), agar medyumunda ve depolanmış mısırlara *A. flavus* sporlarının inokülasyonu ile yaptıkları çalışmada % 75 CO₂ içeren ortamda *A. flavus* gelişiminin inhibisyona uğradığını gözlemlemişlerdir.

Mantar türleri gelişip çoğalma yönünden aşırı bir substrat bağımlılığı gösterir. Substratın çeşidi ve fiziksel durumu da mantar gelişimi ve mikotoksin sentezi üzerinde etkilidir (Şanlı 2002). Sıvı substratlar anaerobik ortamın hızlı bir şekilde oluşmasına ve fermentasyonun hızlıca gelişmesine uygundur. Bu nedenle mantarlar daha katı ve oksijen geçişi olan substratları tercih etmektedirler. Ayrıca kullanılabilir karbonhidrat miktarının durumu da mantarlardan kaynaklı bozulmalar için önemli bir etkidir (Pitt ve Hocking 2009). Örneğin, kullanılabilir karbonhidrat miktarı düşük olan salam ve sosis gibi ürünlerde bol miktarda mantar üremesine karşın mikotoksin sentezi gerçekleşmez. Hasar görmüş veya fiziki bütünlüğünü yitirmiş substratlar ise mantar invazyonuna daha duyarlıdır (Şanlı 2002).

Mikotoksin üreten mantarlar oldukça değişik nitelikli çevresel koşullarda kolaylıkla tarımsal ürünler; bitkiler ve hayvansal besinleri kirletebilirler. Fitoparazit olarak bitkilere yerleşen ve tarla küfleri olarak belirtilen bu mantarların dominant türleri; *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Helminthosporium*, *Fusarium*, *Claviceps*, *Rhizopus*, *Pullularia*, *Stemphylium* ve *Verticillium* cinsleridir (Şanlı 2002, Pitt 2000, Tunail 2000).

Çizelge 2.3: Bazı tarım ürünlerinde sık karşılaşılan mikotoksinler (Pettersson 2004).

Tarımsal Ürün	Mikotoksin Kirliliği	
	Tarlada	Depoda
Arpa	DON, NIV, ZEA, HT-2, T2	OTA, AFLA, SİTR
Mısır	DON, FUM, ZEA	ZEA, AFLA
Buğday	DON, NIV, ZEA, ERGOT	OTA, AFLA, SİTR
Sorgum		AFLA
Çavdar	ERGOT	OTA
Yulaf	DON, NIV, HT-2, T2	OTA, SİTR
Pamuk Tohumu (Küspesi)	AFLA, TENUA	AFLA
Yerfıstığı (Küspesi)	AFLA, ZEA	AFLA, OTA, SİTR
Soya Küspesi		AFLA
Çayır otu	ZEA, DON, ERGOT	
Mısır Silajı	AFLA	ROQ, PAT, ZEA, PR
Saman		ZEA, SAT

AFLA: Aflatoksin, DON: Deoksinivalenol, NIV: Nivalenol, ERGOT; Ergotamin, T-2 ve HT-2: T-2 ve HT-2 toksinleri, ZEA: Zearalenon, OTA: Okratoksin A, SİTR: Sitrinin, TENUA: Tenuazoik asit, PR: PR Toksin, ROQ: Roquefortin, PAT: Patulin.

Depolama aşamasına geçişte öncelikle *Epicoccum*, *Chatemium*, *Nigrospora*, *Rhizopus*, *Papullaria*, *Fusarium nivale*, *Trichothecium roseum* mantarlarından oluşan bir ara flora ve takiben de *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* türlerinin yoğun olduğu ambar mantar florası oluşur. *Fusarium*lar hem hasat öncesi hem de geçiş ve ambar mantar floralarında toksin üretebilirken, *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri bu aşamalardan daha çok depolama sürecinde etkinlik gösterirler.

Ambar florasında ilerleyen süreçte *Aspergillus* ve *Fusarium*ların yanında *Chaetomium*, *Papulaspora* ve *Sordaria* türleride etkin hale gelir (Tunail 2000, Şanlı 2002). Amadi ve Adeniyi (2009), depolanmış mısır, darı ve pirinç üzerinde yaptıkları çalışmalarında *Aspergillus terreus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Penicillium italicum*, *Penicillium spinulosum*, *Rhizopus stolonifer* ve *Fusarium* türlerinin varlığını tespit etmişlerdir.

Çizelge 2.4: Başlıca tarımsal ürünlerin depolanabilmesi için öngörülen nem oranları ve dayanma süreleri (Şanlı 2002).

Tarım Ürünü Çeşidi	Güvenle depolanabilmesi için öngörülen en yüksek rutubet oranı (% olarak)	
	1 Yıl Süre ile	5 Yıl Süre ile
Buğday ürünleri	13-14	11-12
Arpa, Mısır, Yulaf	13	11
Darı	11'den az	-
Soya Fasülyesi ve Ürünleri	11	10 ve daha az
Pamuk Tohumları ve Ürünleri	10-11	
Yer fıstığı, unu ve küspesi	7	
Ayçiçeği Küspesi	11	

2.2. Mikotoksinler

Mikotoksinler insan ve hayvanlara olumsuz etkileri olan uygun fiziki, kimyasal biyolojik faktörlerin varlığında mantarlar tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir. aflatoksin, okratoksin, zearalenon, fumonisin, tremorjenik toksin ve ergot alkaloidleri agro-ekonomik açıdan en önemli mikotoksinlerdir (Agag 2004, Zain 2011). Bununla birlikte günümüzde mikotoksin üreticisi 350 mantar tarafından 400 civarında mikotoksin sentezlendiği bilinmektedir (Pohland 1993, Tunail 2000).

Aynı mikotoksinler farklı mantarlar tarafından sentezlenebilmekteyken, bir mantar farklı mikotoksinleri sentezleyebilir. Örneğin, aflatoksinler; *A. flavus*, *A. parasiticus* ve diğer *Aspergillus* türleri tarafından sentezlenebilirken, Okratoksin A tropikal bölgelerde *A. ochraceus* ve ılıman iklim kuşağında *P. verrucosum* tarafından sentezlenebilmektedir. Bunun yanında *A. clavatus* hem Okratoksin A hem de Patulin sentezleyebilir (Bertin ve ark. 2009, Zain 2011).

Çizelge 2.5: Bazı mantarlar ve ürettikleri toksinler (Yiannikouris ve Jouany 2002).

Mantar	Mikotoksin
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. Nomius</i>	Aflatoksin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂
<i>Penicillium verrucosum</i> , <i>Aspergillus clavatus</i>	Okratoksin A
<i>Penicillium expansum</i> , <i>P. urticae</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Byssochlamys nivea</i>	Patulin
<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F. Acuminatum</i>	Trikotesenler (Deoksinivalenol)
<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. Proliferatum</i>	Fumonisinler B ₁ , B ₂ , B ₃
<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. crookwellense</i>	Zearalenon

Mikotoksinleri tanımlamak zor olduğu kadar sınıflandırma da oldukça zordur. Farklı kimyasal yapıları, biyosentetik orijinleri, çok sayıdaki biyolojik etkileri ve farklı mikotoksinler tarafından salgılanmaları sınıflandırılmalarını daha da zorlaştırmaktadır. Bununla birlikte mantarlar,

- Organik kimya yönünden kimyasal yapılarına göre (laktonlar, kumarinler vs.),
- Biyokimya yönünden biyosentetik orijinlerine göre (poliketitler, aminoasit derivatları vs.),
- Hekimlik yönünden neden oldukları hastalıklara göre (St. Anthony Ateşi, Stakibotriyotoksikoz vs.),
- Mikolojik yönden ise üreten mantar türüne göre (*Aspergillus* toksinleri, *Fusarium* toksinleri) sınıflandırılabilirler.

Ancak yukarıda da bahsedilen birçok etken nedeniyle bu sınıflandırma türleri mikotoksinlerin doğru sınıflandırılmasını ifade edememektedir (Bennett ve Klich 2003). Bu nedenlerle mikotoksinler en sık vücutta affinite gösterdikleri organlara ve bu organlarda gösterdikleri etkilerine göre (hepatotoksik, nefrotoksik, dermatotoksik vs.) sınıflandırılırlar (Arda ve ark. 1997). Mantarların toksik etkilerine göre sınıflandırılması Çizelge 2.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 2.6: Mikotoksinler ve toksik etkileri (Arda ve ark. 1997, Pitt 2000, Şener ve Yıldırım 2000, Sklan ve ark. 2001, Şanlı 2002, Verma 2004, Bertin ve ark. 2009, Korosteleva ve ark. 2007, Aydın 2007, Nizamlioğlu ve Çon 2010).

Toksik Etki	Mikotoksin
Karsinojen Etkili Mikotoksinler	Aflatoksin, Okratoksin, Sterigmatosistin, Fumonisin, Luteoskirin, Patulin, Streptozotosin, Elaiomycin
Hepatotoksik Etkili Mikotoksinler	Aflatoksin, Sterigmatosistin, Sitrinin, Sporidesmin, Okratoksin, Rubratoksin, Luteoskirin, Sikloklorotin, Rubratoksin
Nefrotoksik Etkili Mikotoksinler	Okratoksin, Sitrinin
Dermatotoksik Etkili Mikotoksinler	Stakibotritoksin, Trikotesenler, Verrucarın, Furanokumarin
Solunum Sistemi Toksinleri	Stakibotritoksin
Hemapoietik Sistem Toksinleri	Trikotesenler
İmmunotoksik Etkili Mikotoksinler	Aflatoksin, Okratoksin, Trikotesen, Fusarium Toksinleri
Nörotoksik Etkili Mikotoksinler	Ergot Alkoloidleri, Fumonisin, Sitreoviridin, Penitrem
Tremorjenik Etkili Mikotoksinler	Trikotesen
Östrojenik Etkili Mikotoksinler	Zearalenon
Kardiyotoksik Etkili Mikotoksinler	Sitreoviridin, Penisilik Asit
Alimenter Kanala Etkili Mikotoksinler	Trikotesenler, Stakibotritoksin
Diyabetojenik Etkili Mikotoksinler	Terrik Asit
Teratojenik Etkili Mikotoksinler	Aflatoksin, Okratoksin, Sitokalsin

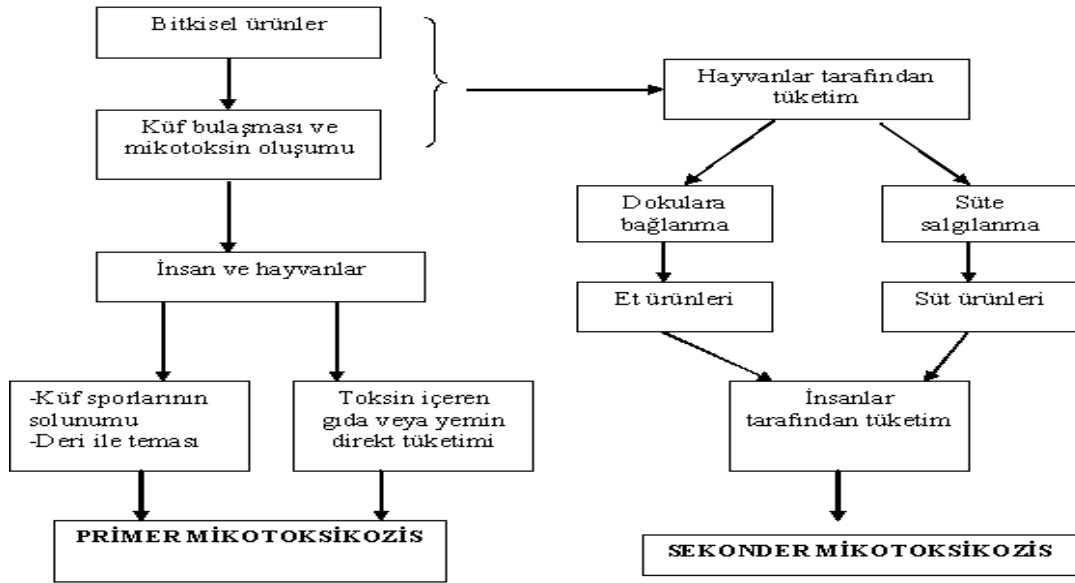
2.3. Mikotoksikozlar

Mantarların hayvanlar üzerindeki etkileri ya direk oluşturdukları mikozlar ya da kendileri tarafından üretilen doğal ürünler sonucu meydana gelen mikotoksikozlar şeklindedir. Mikotoksikoz semptomları mikotoksinin tipi, miktarı ve maruziyet süresi, canlının yaşı, genetiği, gıda rejimi ve sağlık durumu gibi etkenlere bağlı olarak değişkenlik gösterir (DiCostanzo ve Murphy 1994, Bennett ve Klich 2003, Basmacıoğlu ve Ergül 2003). Bu nedenle mikotoksikoz bulguları zorlukla tanılanır (Pettersson 2004). Mikotoksinlere maruziyet çoğunlukla sindirim kanalı yolu ile olur. Bununla birlikte az oranda inhalasyon ya da dermal yolla toksin alınabilir. Mikotoksinler insan ve hayvanlarda akut veya kronik etkilere yol açabilirler (Çizelge 2.7). Ruminantlar gibi bazı hayvan türleri mikotoksinlere daha dirençli iken özellikle tek mideliler daha hassastır (Zain 2011). Bu durum rumen florasının mikotoksinleri yıkımlaması ve inaktif hale dönüştürmesinden kaynaklanır. Ancak, bir kısım mikotoksinler rumende yıkımlanmaya karşı dayanıklıdır ve ayrıca ruminantlar kompleks yapıdaki rasyonları nedeniyle çok sayıda toksik etkene maruz kalabilir. Bununla birlikte özellikle geçiş dönemindeki sütçü sığırların var olan negatif enerji dengesi nedeniyle mikotoksinlere karşı daha duyarlı olduğu da söylenebilir (Fink-Gremmels 2008).

Çizelge 2.7: Hayvanlarda mikotoksikozis şekilleri (Aydın 2007).

Akut primer Mikotoksikozis	Kronik primer Mikotoksikozis	Sekonder mikotoksin bozuklukları
<ul style="list-style-type: none">• Hepatit• Hemoraji• Nefrit• Ağız ve barsak epiteline nekroz• Ölüm	<ul style="list-style-type: none">• Büyüme hızında yavaşlama• Reprodüktif etkinlikte azalma• Et, süt ve yumurta veriminde azalma	<ul style="list-style-type: none">• İmmunogenezis ve doğal direnç mekanizması bozukluğu• İnfeksiyonlara karşı duyarlılık• Hücrel immun yanıt sisteminin baskılanması• Fagositoz ve komplement aktivitesinin baskılanması• Teratojenik etki

Mikotoksinlerin insan ve hayvanlarda yol açtıkları hastalıklara milattan önceki yıllar da dâhil birçok dönemde rastlanmıştır (Özer 2008). Bertin ve ark. (2009) dünyada tanımlanan ilk mikotoksikozun *Claviceps purpurea* toksinlerinin neden olduğu ve orta çağda “*Saint Antony Ateşi*” olarak bilinen ergotizm olduğunu belirtmişlerdir. Yakın tarihte gözlenen mikotoksikozlara 1930’larda binlerce atın ölümüne neden olan Stakiyobotriyotoksikoz vakası örnek olarak verilebilir. Bir başka bilinen önemli mikotoksikoz vakası ise insan ve hayvanlarda epidemilere yol açan ve 1940’larda Sovyetler Birliğinde binlerce insanın ölümüne neden olan bir ergotizm vakası, ATA (Alimenter Toksik Aleukia) hastalığıdır (Pitt 1989). Ancak, bu konuda dönüm noktası 1960 yılıdır. Bu yılda İngiltere’de 100 binden fazla hindi palazının ve Amerika Birleşik Devletlerinde bir milyon genç alabalığın ölümüne sebep olan “Turkey X” hastalığına “aflatoksin” içeren yemlerin sebep olduğunun tespit edilmesi mikotoksinlere önemli bir ilgi oluşturmuş, o tarihten günümüze mikotoksinler üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır (Pitt 1989, Özkaya ve Temiz 2003, Aydın 2007, Özer 2008, Bertin ve ark. 2009, Pitt ve Hocking 2009).



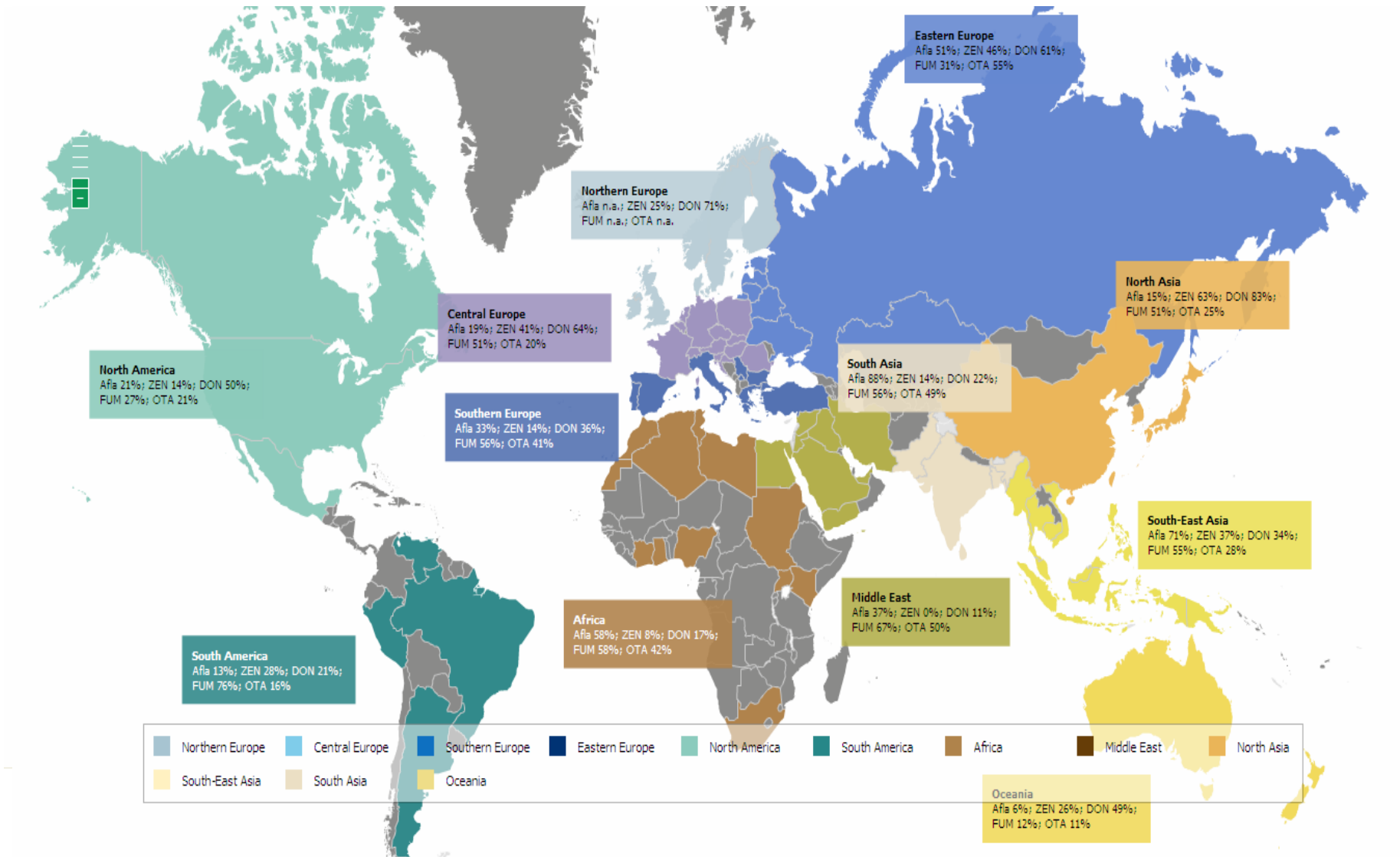
Şekil 2.1: Mikotoksikozların insan ve hayvanlara geçiş yolları (Özer 2008).

Bu araştırmalar geçmiş tarihlerde görülen Balkan Nefropatisi, Doğu Avrupa’da görülen Saman Hastalığı, Yüz ekzeması ve Rusya Orenburg’da görülen ve binlerce insanın ölümüne neden olan lösemi vakalarının da mikotoksin kökenli olduğunu ortaya koymuştur

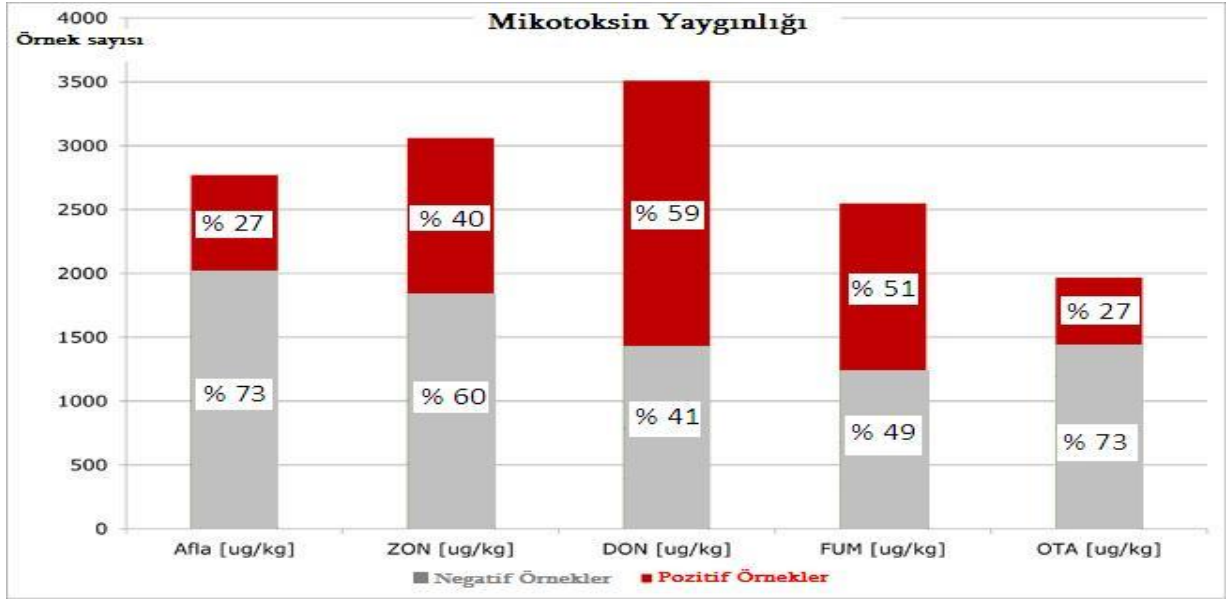
(Özer 2008). Hayvanlarda 5 mikotoksin türü karsinojenik olarak nitelendirilirken, Uluslar arası Kanser Araştırmaları Merkezi (IARC) tarafından insanlar için sadece aflatoksin karsinojenik olarak sınıflandırılmaktadır (Bertin ve ark. 2009). Mikotoksikozlar akut, kronik veya latent karakterli olabilir. Akut karakterde hayvanlar yemle yüksek dozda toksini kısa sürede alırlar ve hastalık genel olarak ölümlü sonuçlanır. Bununla birlikte kronik ve latent toksikozlara daha sık rastlanır ve uzun süreli olarak düşük dozlarda toksin içerikli yemlerle beslenen hayvanlarda gözlenir. Akut toksisitenin aksine genellikle küçük vakalar halinde ortaya çıkar ve nadiren ölüme sebep olurlar (Yiannikouris ve Jouany 2002, Basmacıoğlu ve Ergül 2003).

2.4. Mikotoksin Yaygınlığı

Mantarların verdikleri ekonomik zararlar, tarım ürünlerindeki kayıplar dikkate alındığında azımsanamayacak düzeydedir. Tüm dünyadaki tarımsal ürünlerin % 25'inin fungal olaylardan etkilendiği tahmin edilmektedir. Bu durum gıda üretim masraflarına önemli bir etki yapmaktadır (Bryden 2007). Ürün kayıpları, soya fasulyesi ve mısırdaki % 3 iken pirinçte % 5, yağlı tohumlarda ise % 12'ye ulaşmaktadır. Bunun yanında, üzerinde buldukları substrata salgıladıkları toksik metabolitlerin insan ve hayvan sağlığını tehdit etmesi ekonomik boyutun ötesinde önem taşımaktadır (Tunail 2000). Modern tarım uygulamaları ile birlikte gıda işleme ve pazarlama sistemindeki yasal düzenlemeler mikotoksine maruz kalmayı önemli ölçüde azaltmış olsa da tarımsal ürünlerin mikotoksin kontaminasyonu gelişmiş ülkelerde de hala önemli bir sorundur. Küresel iklim değişikliği ve farklı coğrafi kökenden yemlerin uluslararası ticaretinin yoğun bir şekilde artması gibi faktörler de mikotoksin kontaminasyonuna önemli etki yapmaktadır. Sadece buğdayın yıllık 100 milyon tondan fazlası uluslar arası pazarda işlem görmektedir (Aksu ve Baytok 2011). Dünya çapında 2011 yılında yapılan bir araştırmada yem ve yem maddeleri analiz edilerek bir mikotoksin haritası oluşturulmuştur (Biomin 2011). Oniki aylık araştırma sonucunda 4327 örnek aflatoksin, zearalenon, deoksinivalenol, okratoksin A ve fumonisin gibi önemli mikotoksinler yönünden analiz edilmiştir. Araştırma sonuçları Kuzey ve Güney Amerika, Güneydoğu, Güney ve Kuzey Asya, Afrika, Batı, Doğu, Güney ve Merkezi Avrupa, Okyanusya ve Afrika olarak genellenmiş ve bir dünya mikotoksin haritası oluşturulmuştur (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Dünya mikotoksin haritası(Biomin 2011).



Şekil 2.3: Test edilen örneklerle negatif ve pozitif örneklerin kıyaslaması (Biomin 2011).

Dünya genelinde pozitif örnek sayısı aflatoksin (2769 örnek) ve okratoksin (1965 örnek) bakımından % 27 düzeyindeyken, zearalenonda % 40, fumonisinde % 51 ve deoksinivalenolde % 59 olmuştur. Aynı kuruluş tarafından 2010 yılında yapılan çalışma sonuçlarıyla kıyaslandığında 2011 yılında mikotoksinlerin düzeylerinde % 1-4 aralığında azalma olduğu gözlenmektedir. Ancak, bu azalma oranı çok düşük düzeydedir ve mikotoksin problemi dünya genelinde önemli bir sorun teşkil etmeye devam etmektedir. Araştırma sonuçlarına göre Avrupa ülkelerine bakıldığında deoksinivalenol (% 62) ve fumonisin (% 50) daha ön planda bir sorun olduğu görülmektedir. Bununla birlikte test edilen örneklerde aflatoksin, zearalenon ve okratoksin düzeyleri % 35-40 aralığında seyretmektedir. Kuzey Amerika'da deoksinivalenol (% 50), Güney Amerika Ülkelerinde ise fumonisin (% 76) öncelikli mikotoksin problemleri olarak gözlenmektedir. Analiz edilen ürünlerde diğer mikotoksinlerin ortalama düzeyleri % 13-28 aralığında değişmektedir. Ortadoğu'da kirlilik oluşturan mikotoksinler sırasıyla fumonisin (% 67), okratoksin (% 50) ve aflatoksinden (% 37) oluşmaktayken, Uzak (Diğer) Asya ülkelerinde deoksinivalenol (% 66), zearalenon (% 53) ve fumonisin (% 52) yaygın mikotoksinler olarak ortaya çıkmaktadır. Bunun yanında aflatoksin (% 36) ve okratoksin (% 28) düzeyleri de dikkate değerdir. Okyanusya ülkelerinde ise deoksinivalenol (% 49) en yaygın mikotoksin olarak tespit edilmiştir. Afrika ülkelerinde ise aflatoksin ve fumonisin önemli kirlilik sebebi durumundadır (Biomin 2011).

Bitkisel yem ve gıda maddelerinin dünya genelindeki yoğun trafiği göz önüne alındığında yem ve gıda ithalatçısı konumundaki ülkemizin dünya genelinde mikotoksin desenini ve yoğunluğunu takip etmesi başta değişen iklim şartları, artan çevre kirliliği ve çoğu gelişmekte olan ülkelerin geleneksel ve yetersiz tarım uygulamaları nedeniyle oldukça önem taşımaktadır (Aksu ve Baytok 2011). Çizelge 2.8 ve Çizelge 2.9'da ülkemizin çeşitli gıda ve yem maddelerinde ithalat ve ihracat rejimi gösterilmektedir.

2011 yılında ülkemizin yağlı tohum ve meyveler, sanayi bitkileri, saman, hayvan yemi faslında en yoğun ithalatı Avrupa ülkeleriyle gerçekleştirmiştir. Bu rakam 600 milyon Avro'yu bulmaktadır. Bu fasılda diğer önemli ithalat partnerimiz Güney ve Kuzey Amerika ülkeleri olup, Güney Amerika ile 317 milyon Avro ve Kuzey Amerika ile de 134 milyon Avro tutarında ithalat gerçekleşmiştir. Gıda sanayi kalıntı ve döküntüleri, hazır hayvan gıdaları faslında 2011 yılı toplam ithalatı 615 milyon Avro'dur. Bu rakam içerisinde 404 milyon Avro ile Avrupa ilk sırada yer almaktadır. Bunu Güney Amerika 85 milyon ve Kuzey Amerika 54 milyon Avro ile takip etmektedir. Uzak Asya ülkelerinin payı ise 47 milyon Avro'dur. Değirmencilik ürünleri, malt, nişasta, inülin, buğday gluteni faslında ülkemizin toplam ithalatı 48.3 milyon Avro'dur. Bu fasılda Avrupa ülkeleriyle ithalat payı 38.2 milyon Avro'ya ulaşmaktadır. Bu kalemden diğer önemli ithalat partnerleri uzak Asya ülkeleri olmuştur (9.1 milyon Avro). Hububatta 1.380.000 Avro değerindeki toplam ithalatta 820 milyon Avro ile Avrupa ilk sırada, 323 milyon Avro Kuzey Amerika ve 144 milyon Avro ile Güney Amerika ülkeleri 2. ve 3. sırada yer almaktadır. Uzak Asya ülkelerinin hububat ithalatındaki payı ise 92 milyon Avroya ulaşmaktadır. Yenilen sebzeler ve bazı kök ve yumrular faslında 2011 yılı ithalat toplamı 265 milyon Avro civarındadır. Bu rakam içerisinde 146 milyon Avro ile Kuzey Amerika ülkeleri ilk sırada yer almaktadır. Kuzey Amerikayı 52.3 milyon Avro ile Uzak Asya ülkeleri ve 39.1 milyon avro ile Avrupa ülkeleri izlemektedir. Yenilen meyveler, kabuklu yemişler, turunçgil ve kavun kabuğu faslında 283 milyon Avro olarak gerçekleşen ithalatın 88,5 milyon Avro ile Kuzey ve 87.5 milyon Avro ile Güney Amerika ülkeleri izlemektedir. Avrupa ülkelerinin payı 39.5, Uzak Asya ülkelerini payı ise 30,5 milyon Avro'dur (TÜİK 2011).

Çizelge 2.8: Bazı yem ve gıda maddelerinde Türkiye ithalat rejimi (TÜİK 2011)

T	İthalat Yapılan Ülke Grupları	Yağlı tohum ve meyveler, sanayi bitkileri, saman, hayvan yemi	Gıda sanayi kalıntı ve döküntüleri, hazır hayvan gıdaları	Değirmencilik ürünleri, malt, nişasta, inülin, buğday gluteni	Hububat	Süt ve süt mamulleri, kuş ve kümes hayvanı yumurtaları, bal vb	Meşrubat, alkollü içkiler ve sirke	Yenilen meyveler, kabuklu yemişler, turunçgil ve kavun kabuğu	Yenilen sebzeler ve bazı kök ve yumrular
	(2011)	(€)	(€)	(€)	(€)	(€)	(€)	(€)	(€)
	Avrupa Birliği (27)	247.040.788	187.710.530	33.465.037	231.003.557	21.267.882	85.795.095	19.152.620	22.532.280
	Diğer Avrupa Ülkeleri	352.993.215	216.443.402	3.752.491	589.413.273	21.320.854	14.722.475	20.448.697	16.619.522
	Kuzey Amerika	134.959.216	53.869.925	1.387.560	323.320.778	7.419.322	11.011.459	88.498.483	146.055.750
	Orta Amerika ve Karayipler	2.634.945	1.615.148		157.592		5.300.719	15.194.872	1.536.318
	Güney Amerika	317.261.968	84.514.774	358.366	144.113.972	8.632.427	1.567.569	87.580.882	9.438.656
	Yakın ve Ortadoğu	16.179.408	5.404.591	93.935	127.522	100.318	1.190.554	15.549.591	5.071.614
	Asya Diğer	58.926.441	47.132.725	9.098.908	91.670.949	824.660	32.024.795	30.543.483	52.360.258
	Kuzey Afrika	2.233.773	6.979.665	47.500	11.645	23.503	41.988	4.270.519	3.835.649
	Afrika Diğer	78.755.624	9.707.352	116	9.670		21.827	490.495	463.955
	Avustralya ve Yeni Zelanda	865.729	1.370.066	143.909	254.096	17.405.610	231.017	1.389.221	7.240.205
	Toplam	1.211.851.107	614.748.178	48.347.822	1.380.083.054	76.994.576	151.907.498	283.118.863	265.154.207

Çizelge 2.9: Bazı yem ve gıda maddelerinde Türkiye ihracat rejimi (TÜİK 2011).

İhracat Yapılan Ülke Grupları	Yağlı tohum ve meyveler, sanayi bitkileri, saman, hayvan yemi	Gıda sanayi kalıntı ve döküntüleri, hazır hayvan gıdaları	Değirmencilik ürünleri, malt, nişasta, inülin, buğday gluteni	Hububat	Süt ve süt mamulleri, kuş ve kümes hayvanı yumurtaları, bal vb.	Meşrubat, alkollü içkiler ve sirke	Yenilen meyveler, kabuklu yemişler, turunçgil ve kavun kabuğu	Yenilen sebzeler ve bazı kök ve yumrular
(2011)	(€)	(€)	(€)	(€)	(€)	(€)	(€)	(€)
Avrupa Birliği (27)	57.371.689	1.642.473	25.977.411	15.730.222	1.889.995	60.255.725	1.411.915.569	241.075.051
Diğer Avrupa Ülkeleri	34.091.866	6.521.819	5.268.070	4.755.608	7.258.983	27.188.566	685.407.678	293.013.865
Kuzey Amerika	867.505		1.673.664	215.399	2.042.648	3.645.341	131.008.703	22.802.685
Orta Amerika ve Karayipler	194.850		5.153.507		4.476	343.346	2.019.920	33.756
Güney Amerika	488.522	452.419	433.762	31.171		405.504	27.903.054	2.613.093
Yakın ve Ortadoğu	20.522.739	20.871.475	413.805.826	28.423.107	302.798.437	52.619.099	409.010.738	134.539.064
Asya Diğer	47.640.231	1.698.062	156.228.954	1.214.441	23.235.396	7.294.228	33.494.537	7.283.310
Kuzey Afrika	1.160.061	5.458.762	80.512.312	28.908.233	9.377.475	9.009.065	52.700.498	28.128.410
Afrika Diğer	606.734	8.007	97.098.298	137.890	697.572	8.225.251	3.127.565	29.748.057
Avustralya ve Yeni Zelanda	155.664	0	660.353	13.999	3.140	703.026	62.337.199	7.206.225
Toplam	163.099.861	36.653.017	786.812.157	79.430.070	347.308.122	169.689.151	2.818.925.461	766.443.516

Süt ve süt mamulleri, kuş ve kümes hayvanı yumurtaları, bal gibi ürünler kapsamında ise 2011 yılı toplam ithalat düzeyi 77 milyon Avro olmakla birlikte 42.5 milyon Avro ile en yoğun ithalat Avrupa ile gerçekleştirilmiştir. Avrupa'yı 17.4 milyon Avro ile Okyanusya ülkeleri takip etmiştir. Meşrubat, alkollü içkiler ve sirke faslında 152 milyon Avro tutarındaki toplam ithalatın en büyük kısmını 100 milyon Avro ile Avrupa ülkeleri almaktadır. Avrupayı 32 milyon Avro ile Yakın ve Ortadoğu ülkeleri dışındaki Asya ülkeleri almaktadır. 3. sırada ise 11 milyon Avro ile Kuzey Amerika yer almaktadır (TÜİK 2011).

Bu rakamlar ışığında ülkemizin yem ve gıda maddelerindeki ithalat ve ihracat trafiğinin Avrupa ile Orta ve Yakın doğu ülkeleri arasında yoğun biçimde gerçekleştiği söylenebilir. Bunun yanında Kuzey ve Güney Amerika ülkeleri ile Uzak Asya ülkeleri de kimi ürünlerde önemli dış ticaret partnerleri olabilmektedirler.

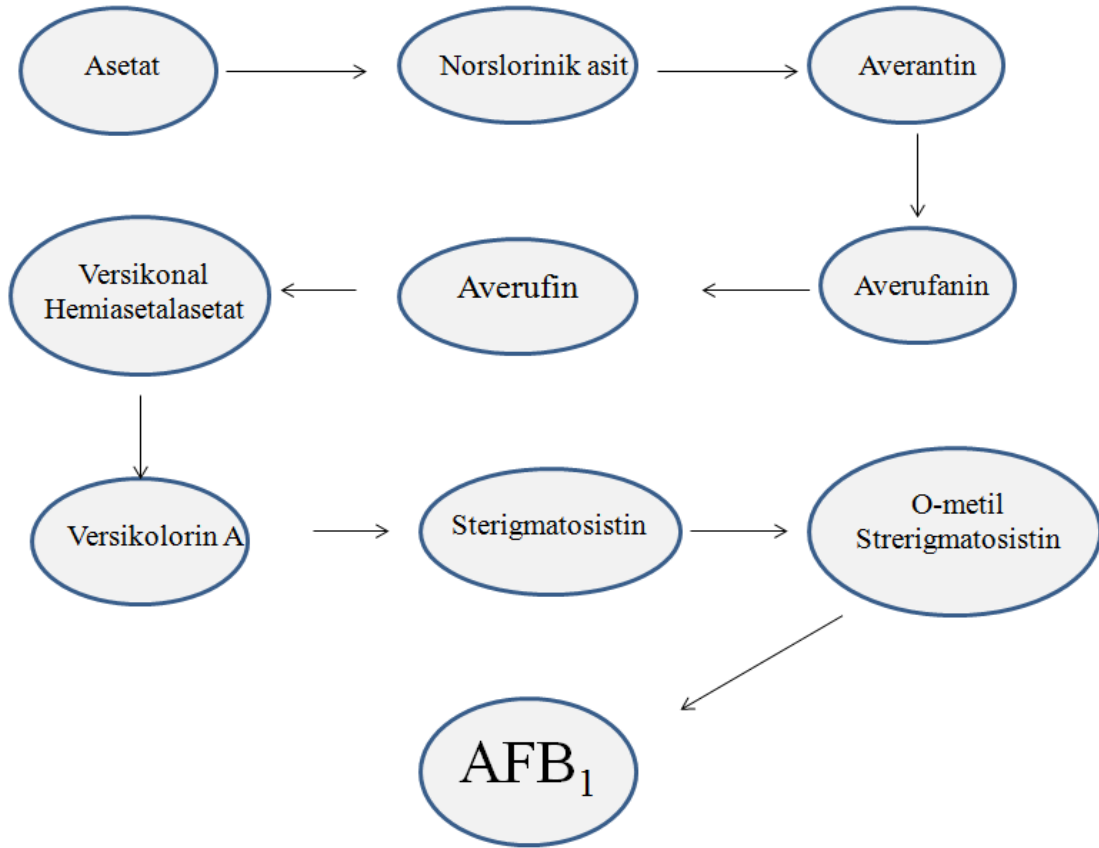
2.5. Aflatoksinler

2.5.1. Genel Bilgiler

İlk kez yer fıstığı ununda *Aspergillus flavus* kültürlerinden izole edilen flavokumarinik yapıdaki molekül, *Aspergillus flavus*'un adından esinlenilerek aflatoksin adıyla anılmıştır. Aflatoksin üretiminden sorumlu mantar sayısı azdır. Bunlar *Aspergillus* ailesine üye 3 tür olan *A. flavus*, *A. parasiticus* ve kısmen de *A. nominus* ile kimi *Penicilium* ve *Rhizopus* türleridir. *A. flavus* yalnızca aflatoksin B üretirken diğer türler hem aflatoksin B hem de G üretirler (Henry ve ark. 2001, Weidenbömer 2001, Şener ve Yıldırım 2000). Bunlar dışında *Petromyces* ve *Emiricella* türlerinin de aflatoksin üretiminden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Frisvad ve ark. 2005).

Aflatoksin üreten *Aspergillus* türleri ve aflatoksin kontaminasyonuna tüm dünyada özellikle sıcak ve nemli iklimlerde yaygın olarak rastlanır. Genellikle maruziyet kronik dozlardadır. Çeşitli periyotlarda gözlenen aflatoksin düzeylerindeki dalgalanma ve yükseliş oranları kuraklıkla bağlantılıdır (IARC 1993). Bununla birlikte her çeşit iklim koşulunda kolayca gelişip çoğalabilen aflatoksinler, özellikle çevre sıcaklığı 24-25 °C ve rutubet oranı % 9-14 veya daha yüksek olan ortamlarda tüm besinlerde ve tarımsal ürünlerde 3-4 gün gibi kısa

bir sürede ağır küflenmelere yol açarlar. Mısır, pamuk tohumu, ayçiçeği küspesi, soya fasülyesi unu, et- kemik unu gibi hammadde çeşitleri ve bunları içeren karma yemler daha sıklıkla küflenirler. Küflenmeler tarladan depolama aşamasına kadar bitkinin herhangi bir yaşam sürecinde gerçekleşebilir. Aflatoksin sentezi genellikle azalan ortam rutubeti, kullanılabilir besin kompozisyonu, aşırı sporlanma, küflenme süresi ve iklim koşullarına bağlı olarak sınırlanabilir. Aşırı biçimde küflenmiş olan tarımsal ürünlerde 0.01-15000 ppm arasında aflatoksin bulunabilirken dikkati çekmeyecek şekilde küflenmiş ürünlerde 1000 ppm'e kadar aflatoksin B₁ varlığına rastlanabilir (Şanlı 2002). Aflatoksin B₁'in doğal olarak sentez mekanizması şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 2.4: Aflatoksin B₁'in doğal sentez mekanizması (Bennett ve ark. 1983, Tunail 2000, Weidenbörner 2001)

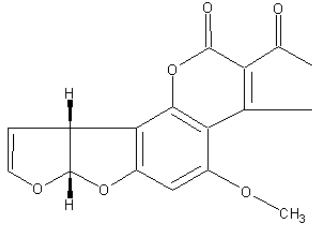
2.5.1.1. Aflatoksin Çeşitleri

Özellikle, *Aspergillus flavus* ve *A. parasiticus* olmak üzere, diğer bazı *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Rhizopus* türleri tarafından hazırlanan aflatoksinler yaklaşık 20 çeşit metaboliti kapsar. Ancak, bu toksik metabolitlerin aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂ olmak üzere altı çeşit ana bileşiği önem taşırken, bunlardan sadece aflatoksin B₁, B₂, G₁ ve G₂ doğal olarak oluşabilir (Weidenbörner 2001, Şanlı 2002, Bennett ve Klich 2003, Anonim 2012a).

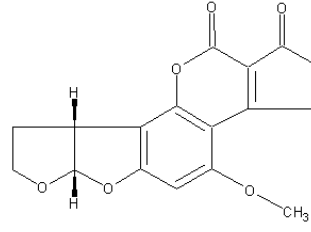
Aflatoksinler, normal çevre koşullarına ve 120 °C'nin üzerindeki ısılarla dayanıklı olmakla birlikte parçalanabilmeleri için 300 °C üzerinde ısıtılmaları gerekir. Kontamine buğdaydan yapılan ekmeklerde aflatoksin B₁ (AFB₁)'in % 14-26'sı aktif kalmaktadır. 230 °C'de 25 dakika pişirilen ekmek veya benzeri koşullar uygulanan karma yemlerde ise aflatoksin içeriği ancak % 60 civarında azalabilir (Arda ve ark. 1997, Weidenbörner 2001, Şanlı 2002).

Aspergilluslar tarafından sentezlenen dört temel aflatoksin bileşiği olan aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂'nin (Bennet ve Klich 2003) isimlendirmeleri aflatoksinlerin ultraviyole (UV) ışıkta gösterdikleri flüoresan özelliğe bağlı olarak yapılmaktadır. UV ışıkta mavi renk verenler B (Blue) ve yeşil renk verenler ise G (Green) şeklinde ifade edilmiştir. Buna ek olarak aflatoksin içeren yemleri tüketen hayvanların sütlerine geçen ve buradan izole edilen metabolitler ise M (Milk) olarak adlandırılmıştır. Kontamine bitki ya da yemlerde dört temel metabolitin (AF-B₁, B₂, G₁, G₂) hepsi birden bulunabileceği gibi çoğunlukla doğal olarak küflenmiş tarımsal ürünler, yem ve hazır besinlerde AFB₁'in düzeyi diğerlerine oranla daha yüksektir. AF- G₁ ve G₂ metabolitleri daha seyrek ve B₂ ise en az karşılaşılan aflatoksin çeşididir. AFB₁'in yokluğunda AFG₁ varlığı rapor edilmemiştir. AFG₂ ve AFB₂ ise B₁ ve G₁'nin dihidro derivatlarıdır ve tipik olarak daha düşük miktarlarda bulunurlar (IARC 1993, Pitt 2000, Şener ve Yıldırım 2000, Şanlı 2002). Ancak, genel olarak AFB₁ yem maddelerinde tek başına ya da diğer aflatoksinlerle birlikte bulunabilirken, AFB₁'in yokluğunda diğer aflatoksin türleri bulunmamaktadır (Henry ve ark 1998). Et, yağ doku ve kanda aflatoksin düzeyleri tespit edilebilir düzeylerin altındadır (Weidenbörner 2001). Keyl ve Booth (1971), 1000 ppb aflatoksinle beslenen sığırların etinde de aflatoksin varlığına rastlanmadığını bildirmiştir. Doğal olarak oluşan dört temel aflatoksinin toksisite sıralaması AF B₁>G₁>B₂>G₂ şeklindedir (Weidenbörner 2001).

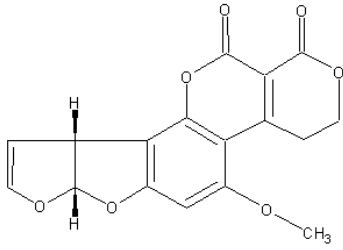
Aflatoksin B₁



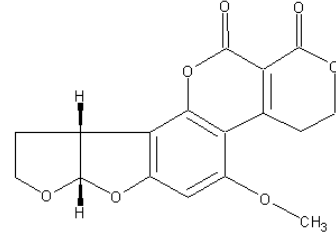
Aflatoksin B₂



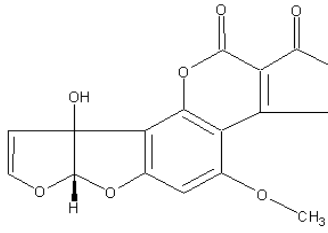
Aflatoksin G₁



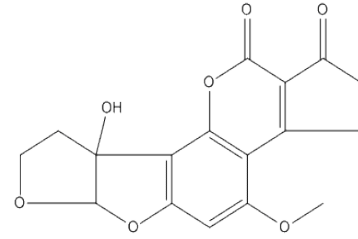
Aflatoksin G₂



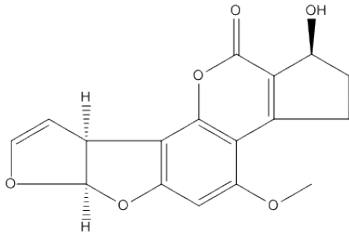
Aflatoksin M₁



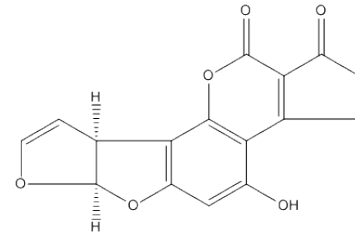
Aflatoksin M₂



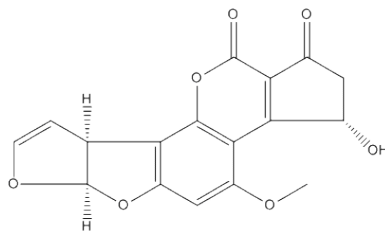
Aflatoksikol



Aflatoksin P1



Aflatoksin Q₁



Şekil 2.5: Aflatoksinler (Anonim 2012c)

Bazı mısır çeşitlerinde B₁ ve B₂ yanında M₁ metabolitinin varlığına da rastlanmakla birlikte genel olarak M₁ ve M₂ türevleri aflatoksin B₁ ve B₂'nin sağmal hayvanlarda metabolize edilmiş hidroksile türevleridir. AFM₁'e kıyasla AFM₂'nin toksisitesi daha düşüktür. Bu çeşitlere ek olarak *A. flavus* kültür ortamlarında aflatoksin G₁ ve G₂'nin hidroksi türevleri olan aflatoksin GM₁ ve GM₂ dihidroksi aflatoksin GM_{2a} ve GM_{2b} metabolitleri de izole edilmiştir. Benzer şekilde aynı mantarın kültür ortamında aflatoksin B_{2a} ve G_{2a} türevlerinin de bulunabileceği anlaşılmıştır. Bunlara ilave olarak gerek doğal kültür ortamında gerekse biyotransformasyonu sonucu şekillenen aflatoksin B₃ analogu ile aflatoksin B₁'in çeşitli mikroorganizmalarca ve metabolik etkinliklerle parçalanma ürünü olan aflatoksikol (aflatoksin R₀) çeşitlerinin varlığı da bilinmektedir. Ayrıca aflatoksin B₁'in farklı türden hayvanlarda metabolize olması ile oluşmuş aflatoksin P₁ ve Q₁ metabolitleri de mevcuttur. aflatoksin Q₁, AFB₁'den 18 kat daha az toksiktir (Weidenbörner 2001, Şanlı 2002, Anonim 2012a).

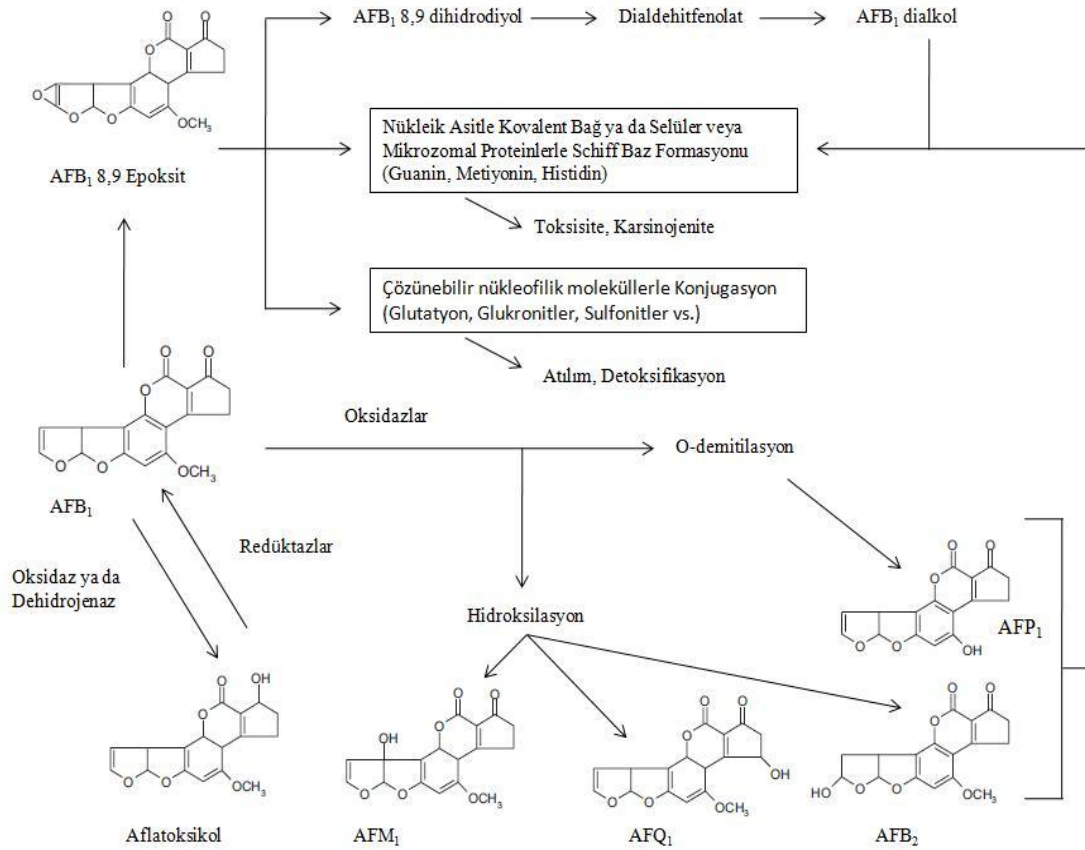
Aflatoksin B₁'in toksisitesinin potasyum siyanitten 10, arsenikten 68 ve melaminden 416 kat fazla olduğu bildirilmiştir (Li ve ark. 2011). Bununla birlikte karsinojenitesi dimetilnitrozaminden 70 ve benzen heksakloritten 10.000 kat fazladır. AFB₁'in karsinojenitesi ve toksisitesi toksinin bizzat kendinden ziyade Q₁, P₁, M₁ ve hücrel makromoleküllere kovalent olarak bağlanan elektrofilik 8,9 epoksiti tarafından oluşturulmaktadır (Nunez 1990, Arda ve ark. 1997). Aynı şekilde AFB₁'in genetik materyalle etkileşime geçebilmesi için 8,9 Epoksit formuna metabolize olması gerekir (Torres-Pacheco 2011). Lipofil yapıdaki aflatoksinler canlılarda iki fazlı bir tepkimeyle metabolize olurlar. I. faz biyotransformasyonlar AFB₁'in AFB₁-8,9-epoksit biyoaktivasyonuna ve diğer az reaktif metabolitlerin şekillenmesine olanak sağlarken, metabolitlerin oluşumu substratların oksidasyonu ve kısmen de redüksiyon şeklinde gerçekleşirler (Şener ve Yıldırım 2000). Bu tepkimeler sitokrom P-450 bağımlı karmaşık fonksiyonlu monooksijenaz enzim sistemi tarafından gerçekleştirilir (Swick 1984, McLean ve Dutton 1995). I. faz tepkimeler sonunda ortaya çıkan metabolitler, AFB₁-8,9 epoksit, aflatoksikol (AFL), AFM₁, AFQ₁, AFP₁, AFB_{2a} ve AFG_{2a}'dir (Şener ve Yıldırım 2000).

İkinci faz tepkimeler epoksidin glutatyonla birleşmesi yanında glukuron ve sulfo-konjuge metabolitlerin şekillenmesiyle sonuçlanır. Genel olarak II. Faz tepkimeler epoksitin glutatyonla birleşmesi şeklindedir ve aflatoksinlerin detoksifikasyon mekanizması olarak kabul edilebilir. Epoksitlerin glutatyonla (GSH) birleşmesi sonrası oluşan metabolitler AFB₁-

8,9-epoksidin hidrolizi sonucu oluşan AFB₁-8,9-dihidro-diol ile hepatositlerde aflatoksinlerin safra ve idrarla atılan glukurono- ve sulfokonjuge metabolitlerdir. I ve II. Faz tepkimelerle ilgili olarak genel olarak denilebilir ki epoksidin oluşumu aktivasyon, diğer yollar ise detoksifikasyon mekanizmasıdır (McLean ve Dutton 1995, Şener ve Yıldırım 2000).

Aflatoksinler hepatotoksik, hepatokarsinojenik, mutajenik ve genotoksik maddelerdir. Bu etkileri DNA, RNA ve proteinlere bağlanmalarından kaynaklanır. Bununla birlikte aflatoksinler, DNA üzerinde lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasara da sebep olarak karsinojenitede önemli rol oynar (Verma 2004).

Aflatoksinlerin toksisitesi canlı türlerindeki biotransformasyon etkinliğine göre değişkenlik gösterir. Biyoaktivasyonun az olduğu somon balığı ve kedi aflatoksinlere daha az duyarlı iken detoksifikasyon yolağından yoksun bildircin ve domuz gibi bazı türler şekillenen epoksitlere karşı oldukça duyarlıdır (Şener ve Yıldırım 2000).



Şekil 2.6: Aflatoksin B₁'in karaciğerdeki metabolizması (Yiannikouris ve Jouany 2002).

Ruminantlarda sitokrom P-448'in P-450'ye oranla daha baskın olması başta keçiler olmak üzere ruminantların aflatoksinlere daha dayanıklı olmalarına neden olduğu sanılmaktadır (Şanlı 2002). Bunun yanında açlık, protein eksikliği, A, C ve E vitaminlerinin varlığı, selenyum, çinko, bakır elementleri sebze ve meyveler gibi beslenmeye bağlı bazı faktörler ve aflatoksinlerin toksisitesini değiştirebilir (Şener ve Yıldırım 2000).

2.5.1.2. Etki şekli

Sindirim kanalında emilen aflatoksinler çoğunlukla serum albüminlere bağlanmış olarak taşınır. Başlıca karaciğer ve yumuşak dokulara dağılır (Şanlı 2002). Toksik dozda AFB₁ uygulamasından sonraki 1 saat içerisinde hücre çekirdeğinde değişimler başlar (Şener ve Yıldırım 2000). AFB₁ hücre içinde nükleer DNA'ya bağlanmak suretiyle öncelikle RNA ve daha sonra da enzim ve protein sentezini inhibe eder. Bu etkiler sonucunda genellikle toksine en çok maruz kalan organ olan karaciğerde nekroz ve tümoral oluşumlar meydana gelir. Sitokrom P-450 vasıtasıyla aflatoksinlerden sentezlenen toksisite ve karsinojeniteden mesul olan epoksitler geçici ara ürünlerdir ve karaciğerde GSH ile konjuge edilerek ya da epoksit hidrataz enziminin etkisiyle aflatoksikole (AFL) çevrilerek nispeten zararsız metabolitlere çevrilebilirler. Ancak, uzun süre veya yüksek dozlarda aflatoksine maruziyet durumlarında detoksifikasyon mekanizması yetersiz kalır ve toksisite riski artar (Şanlı 2002).

Aflatoksinlerin hepatotoksitesisi tam olarak aydınlatılamamakla birlikte reaktif oksijen üreterek peroksidatif hasar oluşturmaya bağlı olduğu düşünülmektedir (Eldin ve ark. 2008). Bununla birlikte etanol gibi sellüler oksidasyona neden olan moleküller de toksisiteyi artırır. Adedara ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada etanol ve aflatoksin B₁'in ayrı ayrı uygulamalarında GSH miktarının azaldığını, bununla birlikte ikisinin beraber uygulandığı durumlarda etkinin daha da arttığını tespit etmişlerdir.

Bütil Hidroksitoluen, Bütil Hidroksianisol, Etoksikuin gibi antioksidan ajanlar AFB₁'in DNA'ya bağlanmasını ve toksisitesini azaltırlar. Aynı şekilde Glutasyon düzeylerindeki kısmi azalma AFB₁'in DNA'ya bağlanmasında artışa, GSH ve prokürsörlerinin kullanımı ise azalmaya neden olur. Buna göre aflatoksinlerin prooksidan bir etkisi olabilir ki bu durum ratlarda kanıtlanmıştır (IARC 1993, Şener ve Yıldırım 2000).

Surai ve Dvorska (2005), oksidatif stresin bu prooksidan etki nedeniyle mikotoksinler tarafından oluşturulabileceğini belirtmişlerdir. Buna göre mikotoksinler bağırsaklarda yemlerin malabsorpsiyonuna neden olur. Bu durum dokularda vitamin E, C ve karotenoid

birikimini azaltır. Buarada mikotoksinler ve aktif metabolitleri bağırsaklardan absorbe edilir ve hedef organlarda birikir. Dokulara biriken mikotoksinler serbest radikal oluşumunu tetikler ve antioksidan korumasını azaltarak lipit peroksidasyonuna ve DNA, proteinler ve lipitleri içeren diğer biyolojik moleküllerde hasara sebep olur. Bu durum mikotoksinlerin apoptosis ve diğer sitotoksik etkilere yol açan antioksidan/prooksidan oranında dengesizliğe neden olarak oksidatif strese yol açar. Lipit peroksidasyonu birçok karsinojen maddenin toksik etkisinin sebebidir.

Shen ve ark. (1994) ratlarda AFB₁'in lipit peroksidasyonunu artırıcı etki yaptığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar oksidatif hasarın tümör gelişimine neden olan hücre ve DNA hasarının altında yatan birçok sebepten biri olabileceğini de belirtmişlerdir.

Dvorska ve Surai (2004), aflatoksin B₁'in pro-oksidan etkisini yaptıkları çalışmayla ortaya koymuşlardır. Çalışmada peroksidasyon indükleyicilerin varlığında veya yokluğunda AFB₁'in peroksidasyonu artırdığı ancak indükleyicilerin bulunduğu ortamda bu etkinin oldukça fazlaştığı gözlenmiştir. Ortama Vitamin E ilavesi peroksidasyonu azaltmakla birlikte AFB₁'in varlığında bu vitamin de oksidize olmuştur. Bununla birlikte selenyum, E vitamininden daha etkili olabilir ve aflatoksinlerin mutajen etkilerini azaltır. Selenyum katkısıyla prekanser odakları azaltılabilir ve eksikliğinde bu odaklarda artış görülür. Selenyum gibi bakır sülfat da benzer etkilerle epoksit oluşumu, DNA'ya bağlanma oranı ve aflatoksinlerin mutajen etkilerini azaltmaktadır (Şener ve Yıldırım 2000).

Kateşin, epigallokateşin, epigallokateşingalat ve epikateşingalat gibi flavanollerin AFB₁ üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada, bu maddelerin AFB₁'in sitotoksitesini % 30-50 azalttığı gözlenmiştir. Bu etkinin aflatoksinlerin reaktif oksijen türleri oluşturan etkilerini azaltmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Pratikte yapılan uygulamalar antioksidan/pro-oksidan dengesinin çok kırılgan olduğunu göstermiştir. Mikotoksinler de bu hassas dengede negatif rol oynamaktadır. Bu kapsamda rasyona ilave edilebilecek flavanoller gibi antioksidanlar aflatoksinlerin karsinojenitelerinde önemli rol oynadığı düşünülen sitotoksik etkilerini azaltarak bu dengeyi korumada yardımcı olacaktır (Braicu ve ark. 2010).

Aflatoksikozda lipit metabolizmasındaki bazı değişikliklerse hepatik steatoza (yağlı karaciğer) neden olabilir. Lipit metabolizmasındaki akut dengesizlik LDL'nin modifiye olmasına ve yüzey reseptörlerinin hücrelerce tanınamamasına neden olur. Geri dönen bu modifiye hücreler sinüzoidal hücrelere bağlanır. Karaciğerde yağ yükü artarken periferel hücrelerde lipid açlığı ortaya çıkar (Amaya-Farjan 1999).

Aflatoksinlerin yağ metabolizmasındaki bir başka etkisi ise safra salgısı üzerine olan etkilerinden kaynaklanabilir. Carrillo ve ark. (1982), AFB₁ uygulamasının safra salgısını azalttığını tespit etmişlerdir. Başta et tipi piliçler olmak üzere aflatoksinlerden etkilenmiş genç tavuklarda çok yönlü enzimatik etkinlikler ve safra salgısının inhibe olması hayvanlarda yağ sindirimi ve rasyonların yağ içeriğinden faydalanma etkinliği önemli derecede azalır. Böyle hayvanlarda enerji üretim metabolizması belli derece bozulur. Rasyonlarda yağ içeriği gereksinimi artar. Tüm bunlara bağlı olarak etkilenmiş hayvanlarda sağlıklı hayvanlara göre azot kullanımı, protein sentezi ve enerji üretimi önemli ölçüde azalır. Karaciğer yağ yükü artar protein sentezi bozulur. Ciddi koagulopati ve anemiler gelişir. Piliçlerde yaygın kanamalar, çürüme ve esmerleşme görülür (Şanlı 2002).

Bunun yanında safrayla yüksek derecede atılan toksin kolestatik etki oluşturur ve safra yolları permeabilitesi değişmediği halde safra salgısının inhibisyonuna sebep olabilir. Biliyer asitlere bağımlı safra sekresyonunu ve taşıyıcıların inhibisyonu hepatosit membranlarının yağ fraksiyonunda çözünmesiyle ilişkilidir. Muhtemelen hemoprotein metabolizması bozukluğundan kaynaklanan kolestaz mikrozomal enzim sistemlerinde değişikliğe ve plazma bilirubin düzeylerinde artışa neden olur (Şener ve Yıldırım 2000).

Aflatoksinler ve etkin metabolitleri yağda çözünen vitaminlerle de etkileşime girerek metabolik olaylarda kullanımlarını sınırlandırır. Özellikle, farklı yaş grubu tavuklarda karşılaşılan aflatoksikozlarda A vitamini içeriği gerektiğince değerlendirilemez ve karaciğerin A vitamini yükü azalır. Bu nedenlerle aflatoksinli yem kullanımı durumlarında A vitamini ihtiyacı artar. Aynı durum D ve K vitaminleri için de geçerlidir (Şanlı 2002). A vitamini ve prokürsörleri, mikrozomlarda AFB₁'in DNA'ya bağlanmasını azaltarak epoksit oluşumunu kısıtlayabilirler. Bu etki P-450 ile substrat arasında bir kompetisyonla sonuçlanabilir. Ratlarda A vitamini yönünden fakir rasyonlar kanser yüzdesini arttırmıştır (Şener ve Yıldırım 2000). Suphakarn ve ark. (1983) ratlarda A vitamini eksikliğinde aflatoksinlerden kaynaklı kolon kanseri insidansının arttığını gözlemlemişlerdir. Oral yolla verilen A vitamini ise AFB₁'in bağırsak epiteline bağlanma kapasitesini azaltmıştır. Çalışma sonuçları vitamin A'nın aflatoksinlerin hücrel makromoleküllere bağlanma kapasitesini azaltarak kanserojen etkisini modifiye etmede kullanılabileceğini göstermektedir.

Çizelge 2.10: Aflatoksinlerin karaciğer üzerindeki etkileri (Yunus ve ark. 2011).

Karaciğer Lezyonları							
	LD ₅₀ Dozu (mg/kg)	Nekroz ve Hemoraji	Fibro- zis	Nodül Rejene- rasyonu	Safra Kanalı Proliferasyonu ve Hiperplazisi	Vakuolizasyon ve Yağ İnfiltrasyonu	Hepatik Hücrelerde Büyüme
Tavşan	0.4	+	-	+	+	-	+
Ördek Yavrusu	2.8	+	-	+	+	+	+
Domuz	3.9	+	+	+	+	+	+
Köpek	6.3	+	+	+	+		+
Gine Domuzu	10.6	+	-	+	+	+	+
Fare	56.3	-	-	-	-	+	+
Tavuk	72.0	-	-	-	+	+	+
Sıçan	73.3	+	-	+	+	+	+

Aflatoksinlerin bir diğer önemli etkileri ise immunsupresif etkileridir. Bu etki büyük olasılıkla komplementler gibi non spesifik humoral maddelerin depresyonu ve immunojen maddelerin aflatoksinden etkilenmiş konakçı dokularıyla etkileşimlerinin engellenmesinden kaynaklanmaktadır. Oluşan reseptör hasarı nedeniyle çeşitli hücreler arasında iletişim bozukluklarına ve makrofajlar tarafından üretilen iletişim moleküllerinin de azalmasına yol açar (Şanlı 2002). Aflatoksinler bu immunsupresif özellikleri nedeniyle aşılama karşı iyi bir bağışıklık oluşumunu önlemenin yanında çeşitli enfeksiyonlara karşı duyarlılığı da artırır (Arda ve ark. 1997).

Tavuklarda sellüler immunité humoral immunitéye oranla daima daha çok etkilenir (Şener ve Yıldırım 2000). Bu hayvanlarda aflatoksinler antikor hazırlanması ve timus kaynaklı lenfosit üretimi üzerinde etkili olabilen non spesifik humoral maddelerin sentezini bozmaktadır. Böylece düşük dozlarda aflatoksin alımıyla birlikte immun sistem zayıflamakta; vücut antikor titresini düşmektedir (Şanlı 2002).

Çizelge 2.11: Aflatoksinler ve etkilenen sistemler (Anonim 2012f).

Etkilenen Sistem	Etkiler ve Belirtiler
Genler	Teratojenik etki – Yavrularda doğum defektleri
Genler	Karsinojenik etki – Maruz kalan hayvanlarda yüksek kanser oranı
Patolojik Değişiklikler	İç organlarda ağırlık değişimi, Burca fabricius ve Timus'ta redüksiyon, organlarda yapı ve renk değişimleri
Solunum sistemi	Hematopoietik etkiler (Hemorajiler, Anemi)
İmmün Sistem	İmmüsupresyon (Çevresel etkilere ve mikrobiyal stres faktörlere karşı direnç azalması ve hastalıklara yatkın hale gelme)
Sinir Sistemi	Nervöz Sendrom (Anormal davranışlar vs.)
Deri	Dermatoksik etkiler (Tüylene anormallikleri)
Üriner Sistem	Böbrek inflamasyonu
Sindirim Sistemi	Selüloz sindiriminde, proteolizde, uçucu yağ asitlerinde ve rumen motilitesinde azalmayla birlikte rumen fonksiyon bozukluğu, ishal
Reproduktif Sistem	Üreme etkinliğinde azalma (Küçük ve sağlıklı yavrular)

Thaxton ve ark. (1974) 10 µg/g doz aflatoksin içeren rasyonla beslemede bursa fabricius ve timusta sırasıyla % 35 ve % 55 oranında küçülme olduğunu tespit etmişlerdir. Bununla birlikte immüsupresif etki 0.625 µg/g dozda gözlenebilmektedir. Ratlarda yapılan bir çalışmada sellüler immünitinin aflatoksinler tarafından selektif olarak baskılandığı tespit edilmiştir (Raisuddin ve ark. 1993).

Reagor (1998), sığır rasyonlarında aflatoksin miktarının 200 ppb'yi aştığında ve 600-700 ppb dozda aflatoksinin devam eden alımlarında ciddi sağlık problemleri oluştuğunu belirtmiştir. Brown ve ark. (1981) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, oral yolla 12-14 gün süreyle verilen 0.3 mg/kg aflatoksinin sığırlarda meme enfeksiyonu üzerine immüsupresif etkisi incelenmiştir. Sığırlarda klinik olarak iştahsızlık, canlı ağırlık kaybı ve

süt veriminde azalma gözlenirken, aflatoksin tüketiminin akut klinik mastitisi şiddetlendirmedeğini ancak sütte bakteriyel populasyonu artırdığını tespit etmişlerdir. Kaliforniya Mastitis Testi (CMT) sonuçları ise son aflatoksin düzeyini müteakip oldukça yüksek bulunmuştur.

İnsanlarda ise Kupffer hücrelerinin fagositoz etkinliği azalır. Bununla birlikte mikrobisit ve makrofajların fagositer aktivitelerinde değişiklik için yüksek dozda AFB₁'e ihtiyaç vardır. Aflatoksinler T-hücre fonksiyonunu, antikor cevabını azaltır ve fagositik aktiviteyi baskılar. Mikotoksinlerin immunsupresif etkisi makrofajlarda transkripsiyon, lenfositlerde replikasyon inhibisyonunun sonucudur. Pıhtılaşma faktörünü oluşturan protein çeşitlerinin inhibe olması nedeniyle etkilenmiş hayvanlarda hemorajik lezyonlara da rastlanır (Şener ve Yıldırım 2000, Weidenbömer 2001, Şanlı 2002).

2.5.1.3. Atılım

Toksinin atılımı özellikle hepatik klerensle olur ve perifer kanda bulunan aflatoksinlerin büyük çoğunluğu karaciğerde tutulur. Bu nedenle aflatoksikozda sıklıkla hepatik lezyonlara rastlanır (Şener ve Yıldırım 2000). Bu organa geçen aflatoksinlerin bir bölümü hepatositler, DNA, endoplazmik steroidlerin bağlanma yüzeyleri ve çeşitli enzimler gibi makro moleküllere bağlanırken bir bölümü de türlere göre değişen çeşit ve oranda yağda ve suda çözünebilir metabolitlere dönüştürülür (Şanlı 2002). Ratlarda yapılan çalışmalarda alınan toksinin % 90'ından fazlasının 24 saat içerisinde başta gaita (% 75) ve idrar (% 15-20) olmak üzere ekskretlerle atıldığı tespit edilmiştir. Toksinin % 5-6'luk kısmı da karaciğerde tutulmaktadır (Arda ve ark. 1997).

Aflatoksinler, böbreklerde de metabolize edilirler. Çoğu hayvan türünde atılan miktarın % 50'si biliyer sekresyonla olurken, üriner eliminasyon toplam atılan miktarın % 15-25'i kadardır. Böbrekle atılım esnasında kanatlılarda tubuler ve glomeruler fonksiyonları değiştirirler. 0.1 mg/kg dozda AFB₁ ratta glomerul ve tübüllere etkiyerek, glomerular filtratı, glikoz geri emilimini ve tubuler elektrolit taşınmasını azaltır. Bu etkilere kromatin birikimi (margination), mitokondri sayısında azalma ve mikrovillosite yitimi eşlik eder. Farklı enzim aktivitelerinde azalma ve kalsiyum fosfor metabolizmasında da değişiklikler gözlenebilir. Bununla birlikte aflatoksinlerden böbreğin az etkilenmesi, bu yolla atılan metabolitlerin düşük toksisitesine bağlanmaktadır (Şener ve Yıldırım 2000).

Süt ile atılım da hızlıdır. Rezidü AFM₁ ve AFM₂ formundadır. Kontamine yemin alınmasından 3-18 saat sonra tamamlanır. Keçide atılım süresi 72-120 saattir (Şener ve Yıldırım 2000). Alınan aflatoksinin sığırlarda % 0.18'i, koyunlarda ise % 0.1'i süte geçmektedir. Tavuklarda aflatoksinin yumurtaya geçme oranı % 0.5'tir ve 100-200 ppb kirlilikte bir yemi tüketen tavukların yumurtalarında 0.2-3.3 ppb yoğunlukta kirlilik bulunabilir. Aflatoksinlerin belli dokularda birikme gibi özellikleri olmamakla beraber bir defada alınan toksinin tümüyle atılabilmesi için bir haftaya yakın bir süre geçmesi gerekir (Şanlı 2002). Battacone ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada laktasyonun erken döneminde bulunan 4 sütçü koyuna 2 mg AFB₁ yedirmişler ve sonraki 5 gün boyunca bu hayvanlardan örnek toplamışlardır. Toplanan örneklerde rasyona bir defalık AFB₁ verilmişinden 96 saat sonra AFM₁'e rastlanmamıştır (bu süre Weidenböner (2001)'in bildirdiği süre ile aynıdır). AFB₁'in süte AFM₁ olarak transfer oranı % 0.032 olarak tespit edilmiştir. İkinci denemede laktasyonun ortalarında bulunan 16 koyun dörderli 4 gruba bölünmüş ve bunlara 14 gün boyunca günlük 0 (Kontrol grubu), 32 (T1 grubu), 64 (T2 grubu) ve 128 (T3 grubu) µg/kg AFB₁ yedirilmiştir. İlk aflatoksin uygulamasından 12, 24, 36, 48, 72, 96, 144, 216 ve 312 saat sonrasında ve ayrıca yemden aflatoksinin çekilmesinden sonra 7 gün boyunca her 24 saatte bir süt örnekleri alınarak incelenmiştir. Buna göre AFB₁ uygulamasından 12 saat sonra AFB₁ uygulanan tüm hayvanların sütünde AFM₁'e rastlanmıştır. Uygulamanın yapıldığı 12-144 saatler arasında sütlerdeki AFM₁ konsantrasyonu artış göstermiştir. Stabil hale gelen AFM₁ konsantrasyonu 216. ve 312. saatlerde azalma göstermiştir. Son uygulamanın yapılmasından 72 saat sonra alınan süt örneklerinde AFM₁'e rastlanmamıştır.

2.5.2. Aflatoksikozis

Aflatoksikozis, genellikle aflatoksin B₁ tarafından oluşturulan akut, subakut veya kronik karakterli bir mikotoksikozdur (Arda ve ark. 1997). İngiltere'de 1960 yılında hindilerde, yüksek mortaliteyle seyreden ve Turkey X Disease olarak adlandırılan akut hepatit olgusu üzerinden yapılan araştırmalar hastalığın ithal edilen yüksek düzeyde aflatoksin içeren yer fıstığı yemlerinden kaynaklandığını ortaya koymuştur. Hastalık 100.000 hindi ve diğer kanatlı türlerinin ölümüne sebep olmuştur (Şener ve Yıldırım 2000, Weidenböner 2001, Aydın 2007, Anonim 2012a).

İnsanlar ve tüm hayvan türleri aflatoksikoze karşı duyarlıdır. Bu duyarlılık tür, yaş, cinsiyet, beslenme gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterir (Agag 2004). Bununla birlikte sürekli gün ışığına maruz kalma, B₁₂ vitamini, kolin, karoteni protein ve yağ içeriğince fakir rasyonlarla beslenme durumu aflatoksinlere duyarlılığı artırır (Şanlı 2002).

Aflatoksikozlarda akut vakalarda görülen ani ölümlerin yanında kronik vakalarda rastlanılan hepatoselüler karsinomlar başlıca toksik etkileridir (Kensler ve ark. 2011). 1974 yılında Kuzeybatı Hindistanda 397 kişinin etkilendiği ve 106 kişinin öldüğü aflatoksikozis vakasının 6250-15600 µg/kg aflatoksin içeren mısırların tüketilmesinden kaynaklandığı anlaşılmıştır (Krishnamachari ve ark. 1975, Weidenbörner 2001). Yakın tarihte insanlarda görülen bir başka aflatoksikoz vakası ise Nisan 2004'te Kenya'da ortaya çıkmış ve 125 kişi hayatını kaybetmiştir (Lewis ve ark. 2005). Kronik toksikoz şartları insan sağlığına daha büyük etki göstermektedir. (Bryden 2007). Asya, Afrika ve Latin Amerika aflatoksinlere kronik düzeyde daha yüksek oranda maruz kalmaktadır. Çin ve Afrika'da Sahraaltı bölgede yapılan çalışmalar sonucu IARC tarafından aflatoksinler insanlar için karsinojen olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte aflatoksikozlar insanlarda genellikle Hepatit B vakaları ile ilişkilidir (Wild ve Gong 2010, Kensler ve ark. 2011). Dünyada her yıl görülen 550.000-600.000 hepatoselüler karsinom vakalarının 25.200 ila 155.000 kadarı aflatoksin maruziyeti ile ilişkilidir ve tüm hepatoselüler karsinom vakalarında aflatoksinlerin rolünü % 4.6-28.2 civarındadır. Görülen vakaların çoğunluğu Sahraaltı Afrikasında, Çin ve Güneydoğu Asya'da gözlenmektedir. Hepatoselüler karsinom vakalarının gelişmemiş ülkelerde görülme sıklığı gelişmiş ülkelere nazaran 16-32 kat daha fazladır (Liu ve Wu 2010).

Aflatoksinler, tüm canlılar için zehirli olmakla birlikte özellikle, tavşan ve domuz aflatoksine çok duyarlı hayvan türleridir. Ruminantlar kendi aralarında farklı direnç düzeyine sahiptir. Sığırlar, koyun ve keçilere oranla aflatoksinlere daha duyarlıdırlar. Ayrıca, tektırnaklılar da sığırlara oranla daha dirençli hayvanlardır. Kanatlılarda ise aynı yemle beslendikleri halde hayvanlar arasında duyarlılık farklılıkları mevcuttur. Toksinin deriden difüzyonu minimum düzeydedir. Buna karşın oral ve intraperitoneal emilimi çok hızlıdır (Şener ve Yıldırım 2000).

Akut aflatoksin zehirlenmeleri kronik vakalara göre daha seyrek ve sporadik olarak karşılaşırlar. Genel olarak yağlı, solgun ve rengini kaybetmiş bir karaciğer, hemorajiler, gastrointestinal kanalda kan toplanması, böbrekte glomerular nefrit ve akciğerde konjesyonlar görülebilir (Weidenbörner 2001). Ani ölüm, iştahsızlık, anoreksi, depresyon, ataksi, solunum

güçlüğü, burun akıntısı, öksürük, kanlı ishal, konvülsiyonlar gibi belirtilerle karşılaşılır. Subakut olgularda hayvan nispeten daha uzun süre yaşayabilir. Genellikle sarılık, hipotrombinemi, hematom ve varfarin ile zehirlenmeleri andıran kanlı barsak yangısı gözlenir (Şanlı 2002).

Kronik vakalar akut vakalar oranla hayvan sağlığı açısından daha önemli bir sorun oluşturur. Akut zehirlenmelere kıyasla daha sık ve yaygın olarak görülür ve önemli ekonomik kayıplara yol açar. Klinik belirtiler genellikle gözden kaçtığından ve belirleyici nitelikte olmadığından tanımlanmaları da oldukça zordur. Genel olarak, yemden yararlanma etkinliği ve büyüme oranı düşer. Kıl örtüsü zayıflar, anemi, karın büyümesi, hafif dereceli sarılık, depresyon, iştahsızlık, immun yanıtların zayıflaması, stres koşullarına uyum yeteneğinin bozulması, hastalıklara karşı direncin azalması, hastalanma ve ölüm oranlarının artması gibi belirtilerle karşılaşılır. Reprodüktif etkinlik azalır. Sağmal hayvanlarda süt verimi düşer. Karaciğerde hemoraji ile birlikte konjesyonlar ve nekrotik odaklar mevcuttur. Karaciğer parenşim ve safra kanalı epitel hücrelerinde proliferasyon vardır. İmmüsupresyon aflatoksinlerin T hücreleri ile raksiyona girmesine bağlıdır. Vitamin K aktivitesi ve makrofajların fagositik aktiviteleri azalır. Bazen hemorajilerle birlikte böbrek konjesyonları görülür. Uzun süreli tüketim sonucu karaciğer kanseri gelişebilir. Tümör oluşumu doza bağımlıdır ve doz artışı tümör oluşum süresini kısaltır. Ratlarda Tavuk ve ördekte hepatoselüler karsinomlara ilaveten kolangiyosarkomlar da görülür. Bunların yanında aflatoksinler pulmoner adenom ve traheal karsinom, kolon ve ince barsak karsinomlarına da neden olabilir (Weidenböner 2001, Şanlı 2002, Anonim 2012f). Hayvanlarda kronik toksisite oluşturan dozlar Çizelge 2.12’de gösterilmiştir.

Ruminantlar genel olarak tek mideli hayvanlara kıyasla mikotoksikoz vakalarına daha dirençli hayvanlardır. Bunda rumen florasının mikotoksinleri yıkımlama kapasitesinin etkisi büyüktür. Yemle alınan aflatoksinin büyük bir kısmı rumende parçalansa da parçalanmayan küçük ama önemli miktarda aflatoksin süte AFM₁ olarak geçmektedir. (Hussein ve Brasel 2001, Pettersson 2004, Fink-Gremmels 2008).

Aflatoksinlerin kısmende olsa rumende yıkımlandıklarını belirten verilere karşıt olarak Kiessling ve ark. (1984) yaptıkları çalışmada sığır ve koyun rumen sıvılarına inkübe ettikleri 6 mikotoksinde AFB₁ ve deoksinivalenolün rumen sıvısından etkilenmediğini diğer mikotoksinlerin ise parçalandığını gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte Akkaya (2011) rumen ortamında aflatoksin yıkımlanmasını tespit ettiği bir çalışma gerçekleştirmiştir. Çalışmada

rumen sıvısına inkübasyonun başlangıcında 6 µg/L olan aflatoksin miktarı inkübasyonun 12. saatinde 1,68 µg/L'ye düşmüştür.

Çizelge 2.12: Aflatoksin B₁'in kronik toksisitesi (aflatoksin B₁ yedirilerek yapılmış denemelerde alınan sonuçlar, Şanlı 2002)

Hayvan Türü	Yemlerde Bulunan Yoğunluğu (ppb)	Maruziyet Süresi	Toksik etkileri
Süt İneği	1500	4 Hafta	Karaciğer Hasarı
	2400	7 gün	
Besi Sığırı	700	*	Canlı Ağırlık Kaybı
Boğa	500-700	20 Hafta	İlımlı Karaciğer Hasarı
Dana	160-200	*	
Buzağı	150-200	*	
	220-440	16 Hafta	Karaciğer Hasarı
	400-500	*	
Koyun	500 (ppm olarak)	*	Etkisiz
Keçi	400	*	Etkisiz
	700	8 Hafta	Öldürücü Etki
Köpek	360	10 Hafta	Karaciğer Hasarı
Tavuk (et tipi piliç)	500	2-4 Hafta	Beslenme Bozukluğu (Besinlerin Değerlendirilememesi)
	600	4-6 Hafta	Karkasta Esmerleşme ve Çürüme, Ölüm
	600-1000	2-3 Hafta	İmmünesupresif Etki
	1500-2000	2-3 Hafta	Canlı Ağırlık Kaybı ve Koagulopati
Yumurta Tavuğu	600	2 Hafta	Yumurta Veriminin Azalması
	600-1000	2-4 Hafta	Yumurta Verimi Azalması ve Bozuk Yumurta Oranında Artış
Civciv (Günlük)	75-250	2-7 Hafta	Büyüme Gerilemesi ve Yağlı Karaciğer Sendromu
	300-1000	2-4 Hafta	Karaciğer Nekrozu, Hemoraji ve Ölüm
Hindi (günlük)	250-300	4 Hafta	Karaciğer Hasarı, Büyümenin yavaşlaması
Ördek (1-7 günlük)	30	4 Hafta	Ağır Karaciğer Hasarı ve Ölüm
Ördek (10 Aylık)	300-600	1-2 Hafta	Ölümler

*Belirsiz süre

Sığırlarda, aflatoksikoz vakalarında genel olarak gelişme bozukluğu, süt veriminde düşme, yemden yararlanma oranında azalma, yaralanmalara karşı aşırı duyarlılık, kan tablosunda ve böbrek fonksiyonlarında bozukluklar görülür. İmmun sistem bozulmuş, infeksiyöz hastalıklara karşı duyarlılık mevcuttur. Hastalarda genel zafiyet, ürkeklik, depresyon, dispne, öksürük, burun akıntısı, anemi, epistaksis, kanlı gaita, konvülsiyon, ishal,

zayıflama, körlük, salivasyon, kaslarda krampları içeren bir klinik tablo ile karşılaşır. Bunun yanında kanın pıhtılaşma süresinde bozulma, plazmada enzim düzeyinde artma, karaciğerde A vitamini noksanlığı gibi biyokimyasal değişiklikler de mevcuttur (Arda ve ark. 1997, Aydın 2007).

Akut vakalarda mikotoksine maruz kalma sonrasında birden bire ve hızlı şekilde klinik belirtiler meydana gelir. Gözlenen belirtiler körlük, kendi etrafında dönme, yıkılma, dış gıcırıtması, şiddetli ıkınma hareketleri, rektum prolapsusudur. Belirtileri müteakip 1-2 gün içerisinde ölüm meydana gelebilir. Ölümcül olmayan zehirlenmelerde kondüsyon kaybı gözlenir (Şanlı 2002). Bu tarz aflatoksikozis olgularına danalar çok duyarlıdır. Taşipne, dispne, nazal akıntı ve kesintili diyare ile idrar güçlüğü görülen diğer semptomlardır (Şener ve Yıldırım 2000).

Kronik vakalarda karaciğer etkilenen organdır. Karaciğerde genel değişimler safra kanalı ve sentral vende proliferatif değişiklikler ve karaciğerde yağ birikimi şeklindedir (Lynch ve ark. 1970). Vaid ve ark. (1981), 110 µg/kg aflatoksin B₁ içeren yer fıstığı küspesi ile uzun süreli beslenme sonucunda sığırlarda kronik aflatoksikoz şekillendiğini ve besleme yapılan dört sığırdan üçünde karaciğer hasarı gözlemlediklerini belirtmişlerdir.

Helferisch ve ark. (1986), Hereford-Angus melezi (258-270 kg arası ağırlıkta) 40 danayı 4 gruba ayrılarak 0, 60, 300 ve 600 ppb aflatoksin içeren pamuk tohumu küspesi ile 155 gün ad libitum besleyerek gerçekleştirdikleri çalışmada 60 ve 300 ppb aflatoksinin kontrol grubundan belirgin derecede farklılık göstermediğini ancak 600 ppb dozda beslenen danalarda yem tüketimi ve ağırlık kazancında azalma olduğunu tespit etmişlerdir.

Lynch ve ark. (1970), danaların yemde 0.020 mg/kg AFB₁'i tamamiyle tükettiğini bunun üzerindeki dozlarda tüketimin azaldığını belirtmişlerdir.

Lynch ve ark. (1972), buzağılar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 0-1.0 mg/kg canlı ağırlık dozda tek uygulama sonrası buzağuların hayatta kaldığını, 1.2-1.6 mg/kg dozda üç buzağıdan ikisinin öldüğünü ve 1.8 mg/kg dozda ise uygulama yapılan 3 buzağının tamamının öldüğünü tespit etmişlerdir. Etçi melez danalarda 4.5 ay süre ile 300 ppb ve daha altında dozlarda beslemede herhangi bir toksik etki gözlenmemiştir.

Van Halderen ve ark. (1989), Güney Afrika Cumhuriyetinde buzağılarda görülen ölüm vakalarını incelemiş ve ölümlerin aflatoksinli mısır tüketiminden kaynaklandığını tespit etmişlerdir. Hayvanlarda vücut ağırlığında azalma, parlak tüyler, daire, rektal prolapsus

mevcuttur. Histopatolojik olarak karaciğerde portal fibroz, safra kanalı proliferasyonu gözlenmiştir.

Koyunlar aflatoksine karşı diğer hayvanlardan çok daha dirençlidirler. Toksikoz durumlarında hayvanlarda kanlı ishal, salivasyon, hızlı solunum, pireksia ve karaciğerde sentrilobular nekrozlar oluşabilir (Arda ve ark. 1997, Aydın 2007). Koyunlar için AFB₁'in oral yolla LD₅₀ dozu 2 mg/kg'dır (Şener ve Yıldırım 2000).

Fernandez ve ark. (2000), 37 gün boyunca 2 ppm dozda besledikleri kuzularda vücut ağırlığında belirgin bir azalma tespit edememelerine rağmen günlük canlı ağırlık kazanımında belirgin bir azalma gözlemişlerdir. Aynı çalışmada intoksikasyon periyodunda nötrofillerin fagositik aktivitelerinde ve immunoglobulin G (IgG) düzeyinde artış da görülmüştür.

Battacon ve ark. (2005), 32, 64 ve 128 µg/gün dozda besledikleri koyunlarda aflatoksin düzeylerinin süt verimine ve hayvanın sağlığına bir etkisinin bulunmadığını gözlemişlerdir.

2.5.2.1. Tanı

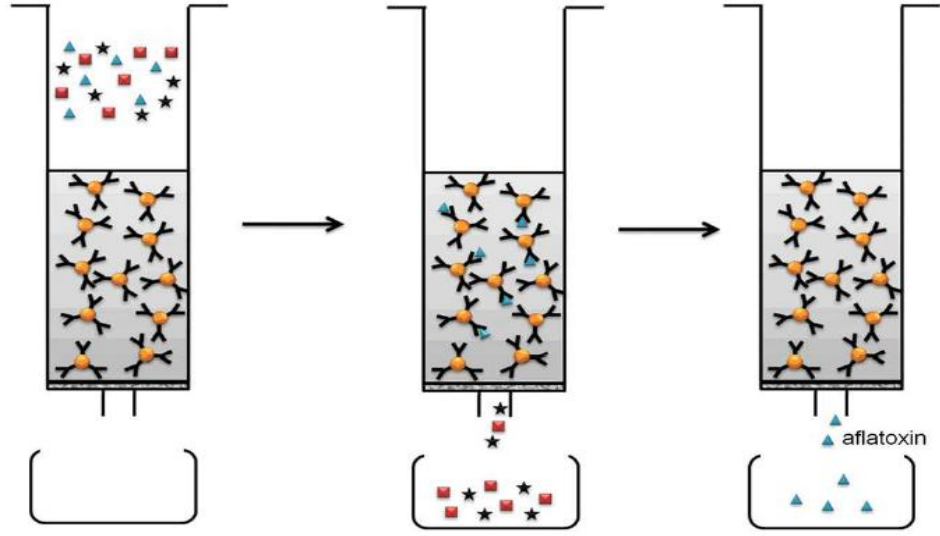
Aflatoksikozis olgularını klinik olarak tanımak çok güçtür. Özellikle kronik olgular gözden kaçabilirler. Bunun yanında patolojik bozukluklar dikumarol-, katran-, bakır-, tetraklorid-, pirrolizidin alkaloidleri-, mavi yeşil alg zehirlenmeleri gibi hemorajik ve septisemik hastalıklarla karışabilir (Arda ve ark. 1997). Başta oldukça karmaşık nitelik gösteren kronik zehirlenmeler olmak üzere subakut ve akut zehirlenmelerde kesin bir tanıya varılabilmesi için küflenme olguları ve aflatoksin varlığını ortaya koyabilecek toksikolojik analizlerin yapılması gerekir. Küflenmiş yem tüketiminin tespiti tanıya yardımcı olsa da tüm küflenme olaylarında aflatoksinlerin bulunmayacağı gibi öğütme, peletleme ve karıştırma gibi işlemlerle küflenme olguları tümüyle maskelenebilir. Bunun yanında zehirlenmeye neden olan yem partisi daha önce tüketilmiş olabilir. Klinik belirtiler ve patolojik lezyonlar T-2 toksin, rubratoksin, okratoksin A ve sporidesmin gibi diğer mikotoksin çeşitleri veya varfarin, dikumarol, kömür katranı, bakır, pirrolizidin alkaloidleri, krotalaria ve karbon tetraklorür ile zehirlenme olgularıyla kolaylıkla karıştırılabilir. Ayırıcı tanıda ölmüş hayvanların karaciğer ve idrarında aflatoksin çeşitlerinin varlığı araştırılır. Ayrıca, şüpheli yemlerin civciv, ördek palazı veya alabalıklara yenilmesi denemesi de yapılabilir. Bunların yanında leptospirozis ve enfeksiyöz hepatit olguları da aflatoksikozislerle karışabilir. Kesin tanıda belirtilen hastalıkların etken izolasyon ve identifikasyonları yapılabilir (Şanlı 2002). Ancak tanıda en

etkili yöntem yem maddelerinde mikotoksin varlığını ortaya koymaktır. Son yıllarda aflatoksinlerin belirlenmesi için en çok kullanılan yöntemler, HPLC (High-Performance Liquid Chromatography), Gaz kromatografi (GC), İnce tabaka kromatografisi (TLC), ELISA ve florometrik yöntemlerdir (Torres-Pacheco 2011).

Aflatoksin analizlerinde pratik olması nedeniyle sıklıkla kullanılan ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi, antikora bağlanmış bir enzimin aktivitesini araştırmak temeline dayanan kantitatif ölçüm yöntemidir. Yöntemde antijene karşı antikor ya da antikora karşı antijen aramak mümkündür (Anonim 2012e). Pratikte analiz için hazır kitler kullanılmaktadır. Aflatoksin analizlerinde kullanılan bir diğer yöntem olan (Fluorescence Polarization Immunoassay-FPIA) flöresan polarizasyon immun ölçümüdür. ELISA'dan temel farkı, yıkama basamaklarının ve amplifikasyon basamağının (enzimatik reaksiyon) kaldırılmasıdır. Bu nedenle uygulaması daha basittir ve daha kısa sürede analiz gerçekleştirilebilmektedir (Özer 2008). Florometrik yöntemler ise özgül antijen-antikor bağlanmasının gösterilmesinde bazımaddelerin floresans özelliklerinden faydalanılarak yapılan immünokimyasal ölçüm teknikleridir (Altınışik 2004). Ucuz, hızlı ve hassas bir yöntemdir (Hemmila 1985). Ekstraksiyonu yine HPLC analizlerinde olduğu gibi İmmunoaffinite Kolon esasına dayanır (Özer 2008).

Söz konusu yöntemlerin dışında pratikte en çok yer etmiş diğer analiz yöntemleri kromatografik yöntemlerdir. Kromatografi, birbirine yakın özellikteki madde karışımlarını ayırmak için kullanılan güçlü bir ayırma ve saflaştırma yöntemidir. Farklı türde moleküllerin hareketli bir faz yardımı ile sabit bir fazda değişik hızlarla hareket etmeleri ve bu moleküllerin sabit faz tarafından farklı ölçüde tutulmasına istinaden birbirlerinden ayırımının yapılmasına olanak sağlar (Anonim 2012d, Özöğüt 2009).

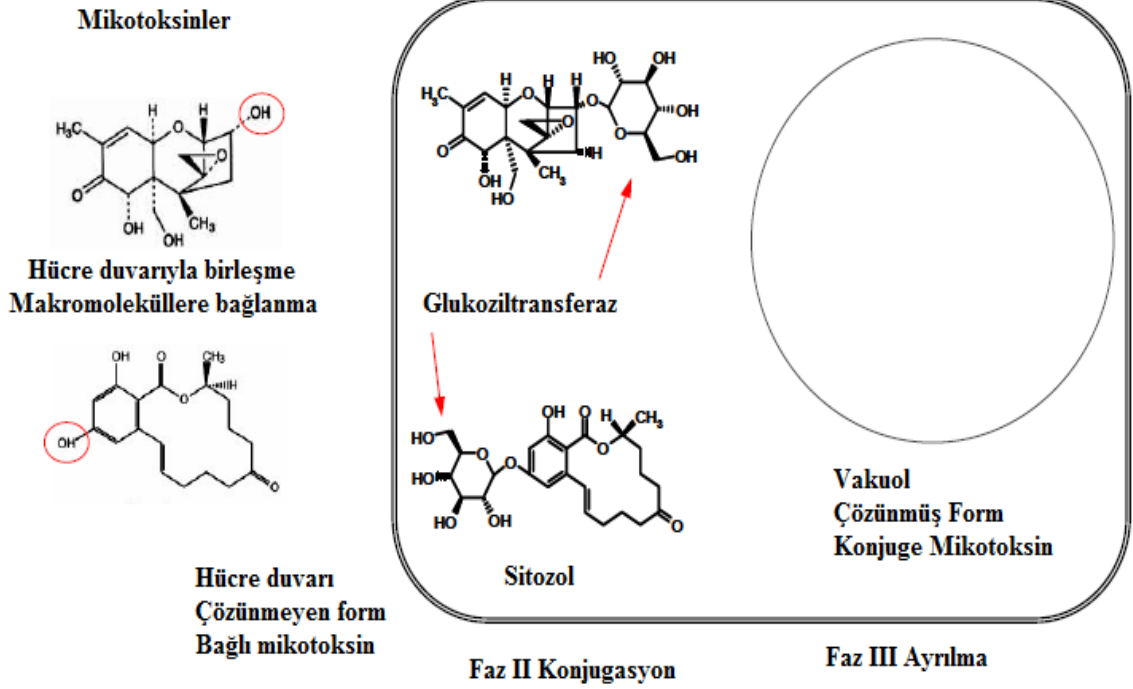
İnce tabaka kromatografisi (TLC) mobil fazın kapillar aktivite ile sabit faz üzerinde hareket ederken farklı maddelere ait lekeleri sürüklemesi ve sürüklenme derecesine göre madde tayini yapılması ilkesine dayanır. Gaz kromatografisinde ise ayırımı istenen karışım buharlaşarak taşıyıcı gaz yardımıyla kolona girip, taşınır ve alıkonma sürelerine göre tayine gidilir (Özöğüt 2009). Mikotoksinlerin analizi GC/MS ile yapılabilmeyle birlikte diğer sistemler daha pratik olduğundan GC/MS pek tercih edilmemektedir (Özer 2008). HPLC (High Performance Liquid Chromatography), eski kromatografi türlerinin iyileştirilmiş ve hızlandırılmış şeklidir (Özöğüt 2009).



Şekil 2.7: Aflatoksinlerin immunoaffinite kolonu ile elüsyonu (Li ve ark. 2011).

Numuneye ön işlemler uygulandıktan sonra kantitatif analiz yapılması ilkesine dayanmaktadır. Ön işlemler numunenin ekstrakte ve filtre edildikten sonra antikor-aflatoksin bağlarının oluştuğu kolondan (İmmunoaffinite kolonu) geçirilmesi, kolonun yıkanıp bağlanmamış pigmentlerden ayrılması ve HPLC'ye enjeksiyon aşamasından önce saf metanol kullanılarak aflatoksinlerin kolondan toplanmasından oluşur (AOAC 1999).

Son yıllarda mikotoksin analiz yöntemlerini sınırlayan ve konjuge ya da maskeli mikotoksinler olarak adlandırılan bir faktörden sıklıkla bahsedilmeye başlanmıştır. Maskeli mikotoksinler, genellikle glikoz gibi daha polar bir substansa bağlı mikotoksinlerdir. Bu maddeler genellikle rutin analiz yöntemleriyle tespit edilemezler ve ancak hidrolize olduklarında ortaya çıkarlar (Berthiller ve ark. 2009). Fusariumlarla enfekte buğday ve mısırdaki yapılan analizlerde mevcut DON miktarının % 4-12'si kadar oranda DON-3-glikozid tespit edilmiştir (Berthiller ve ark. 2005). deoksinivalenol-3-β-d-glukozid (D3G)'nin sindirim sisteminde uğrayabileceği hidroliz aşamalarının incelendiği bir çalışmada Berthiller ve ark. (2011), D3G'nin midede 37 °C'de 24 saat süre ile 0.2 M hidroklorik asit hidrolizine etkilenmemesine rağmen fungal selüloz ve sellobiyaz enzimlerince kısmen ayrıştırılabildiğini daha da önemlisi laktik asit bakterilerinin yüksek hidroliz etkisi gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu durum D3G'nin maskeli mikotoksin olarak nitelenebileceğini göstermiştir.



Şekil 2.8: Maskeli mikotoksinlerin bitkilerdeki biyotransformasyon mekanizması (Berthiller 2012).

Bir başka çalışmada Tran ve ark. (2012), mısır örneklerinde serbest ve konjuge DON miktarlarını araştırmışlar ve incelenen 86 örnekten 72'sinde konjuge mikotoksin varlığına rastlamışlardır. Konjuge DON varlığı asit hidroliz sonucu yapılan ölçümlerle tespit edilmiş ve yoğunluğu örnek alınan bölgelere göre farklılık göstermiştir. Konjuge DON miktarı az yoğunlukta olduğu bölgelerde tespit edilen konjuge DON düzeyi <math><10\%</math> iken en yoğun olduğu bölgede bu miktarı % 43'ü bulmuştur.

Gareis ve ark. (1990), domuzlarda glikozidle konjuge zearalenonun stabilitesini inceledikleri çalışmada analizlerde tespit edilemeyen toksinin sindirim sisteminde hidrolize olarak aktif hale geldiğini ve dışkıda toksin varlığı tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Çalışma sonucunda mikotoksikoz vakalarından konjuge haldeki toksinlerin de sorumlu olabileceği kanaatine varılmıştır. Bununla birlikte konjuge mikotoksinlerle ilgili araştırmalar DON ve zearalenon üzerinde yoğunlaşmış olup, pratikte konjuge aflatoksin olgularına dair ileriki çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.5.3. Aflatoksin Limitleri

Günümüzde dünya çapında birçok ülkede aflatoksin limitlerine dair düzenlemeler yapılmıştır. Birçok ülkede aflatoksinin izin verilen düzeyi 50-500 ng/kg arasındadır (Torres-Pacheco 2011). Aflatoksin içerikli gıdaların detoksifikasyonunda çok başarılı yöntemlerin bulunamaması, birçok tarımsal ürün ihraç eden ülke ürünlerinin mikotoksinlerle bulaşık olması gıdaların ve en az onlar kadar da yemlerin kontrol edilmesini gerekli kılmıştır. İlk olarak WHO, FAO gibi organizasyonlar, gıdalarda tolere edilebilecek aflatoksin miktarını 30 µg/kg olarak belirlemişler ve bu miktardan fazla aflatoksin içeren gıdaların ithal edilmemesi kararını almışlardır. Bu sınır değerler zaman içerisinde daha da düşürülmüştür. Aynı tarihlerde bazı Avrupa ülkeleri WHO ve FAO normlarından daha düşük miktarları benimsemiş, UNICEF gibi kuruluşların da çocuklar tarafından tüketilecek gıda maddelerinde daha düşük sınır değerlerin saptanmasında katkısı olmuştur (Tunail 2000). Hayvanlar için genel olarak kabul gören limit aflatoksin düzeylerin üzerinde aflatoksin saptanan yem ve yem maddeleri kesinlikle hayvanlara yedirilmemeli ya da fiziksel ve kimyasal teknikler kullanılarak, kontamine yemlerdeki mikotoksinlerin detoksifikasyonuna gidilmelidir (Aydın 2007).

Deneysel çalışmalar kronik zehirlenmelerin ortaya çıkabilmesi için günlük ortalama 200 ppb veya daha yüksek düzeylerde aflatoksin alınması gerektiği gözlenmiştir. Bununla birlikte 50-200 ppb arası aflatoksin B₁'in yeterli süre alınması kromozom bozulmaları, karaciğer hücreleri ve kanın biyokimyasal yapısında değişiklikler, protein sentezi inhibisyonunu içeren subklinik toksikoza sebep olabilir (Şanlı 2002).

Genelde kabul gören kritik aflatoksin düzeyleri mısır, arpa, soya vb. gibi tek yem maddeleri için 0.20 mg/kg (ppm); sığır, koyun ve keçilerin karma yemler için 0.05 mg/kg (ppm) olarak dikkate alınmalıdır (Aydın 2007). 2005/3 no'lu Yemlerde İstenmeyen Maddeler Hakkında Tebliğ kapsamında Türkiye'de yemler için belirlenen yasal düzeyler Çizelge 2.13'te (Anonim 2005), Türk Gıda Kodeksi (TGK) Bulaşanlar Yönetmeliğine göre gıdalar için belirlenmiş aflatoksin limitleri Çizelge 2.14'te gösterilmiştir (Anonim 2011).

Çizelge 2.13: Türkiye’de yem maddelerinde aflatoksin B₁ limitleri (Anonim 2005).

Hayvan Yemi Olarak Kullanılan Ürünler	ppm düzeyinde kabul edilebilir üst sınır (%12 rutubet içeren yeme göre)
Aflatoksin B₁	
Tüm yem maddeleri	0.02
Sığır, koyun ve keçi tam yemleri; aşağıdakiler dışında:	0.02
Süt hayvanları için tam yemler	0.005
Buzağı ve kuzular için tam yemler	0.01
Kanatlı ve domuz tam yemleri (genç hayvanlar hariç)	0.02
Diğer tam yemler	0.01
Sığır, koyun ve keçi tamamlayıcı yemleri (süt hayvanları, buzağı ve kuzu tamamlayıcı yemleri hariç):	0.02
Kanatlı ve domuz tamamlayıcı yemleri (genç hayvanlar hariç):	0.02
Diğer tamamlayıcı yemler	0.005

Çizelge 2.14: Türkiye’de gıdalar için belirlenmiş aflatoksin limitleri (Anonim 2011).

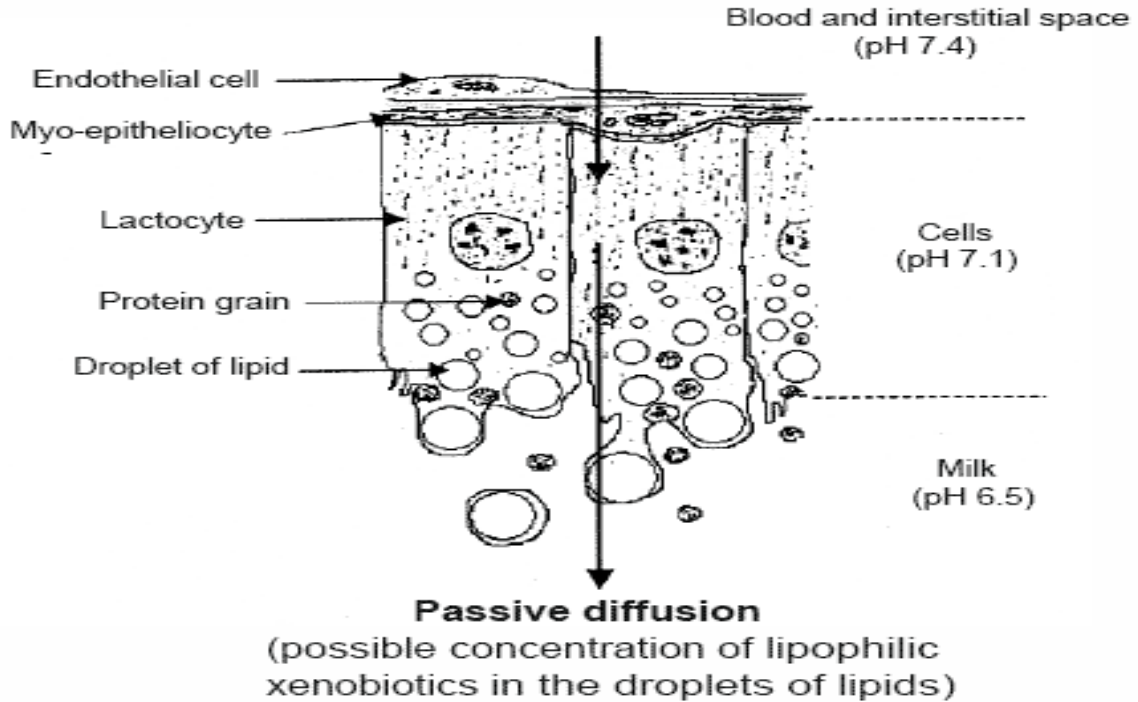
Gıda	Maksimum Limit (µg/kg)		
	B ₁	B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	M ₁
AFLATOKSİN			
1. Yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) - Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar hariç	8.0	15.0	—
2. Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	12.0	15.0	—
3. Fındık ve Brezilya fıncığı (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) - Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	8.0	15.0	—
4. Sert kabuklu meyveler (Bölüm 2 ve 3’de belirtilenler hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8.0	15.0	—

Çizelge 2.14: Türkiye gıdalar için belirlenmiş aflatoksin limitleri (devam...)

5.	Yerfıstığı, diğer yağlı tohumlar ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) - Rafine edilecek bitkisel ham yağ ve rafine bitkisel yağ hariç	5.0	10.0	—
6.	Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8.0	10.0	—
7.	Fındık ve Brezilya fıncığı (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) - Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	5.0	10.0	—
8.	Doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan Sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 6 ve 7’de belirtilenler hariç)	5.0	10.0	—
9.	Doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan kurutulmuş meyveler	8.0	10.0	—
10.	Tahıllar, bunlardan elde edilen ürünler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 11, 14 ve 16’de belirtilenler hariç)	2.0	4.0	—
11.	Doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan mısır ve pirinç	5.0	10.0	—
12.	Çiğ süt, ısıt işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	—	—	0.050
13.	Baharatın aşağıdaki türleri için; — Kırmızıbiber (<i>Capsicum</i> spp./bunların kurutulmuş meyveleri, tüm ve öğütülmüş halleri dahil) — Karabiber (<i>Piper</i> spp./bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) — Hintceviz/Muskat (<i>Myristica fragrans</i>) — Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>) — Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i>) — Bunların bir veya bir kaçını içeren karışım baharat	5.0	10.0	—
14.	Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0.10	—	—
15.	Bebek formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	—	—	0.025
16.	Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0.10	—	0.025

2.5.4. Sütte AFM₁ Oluşumu ve Geçiş Düzeyini Etkileyen Faktörler

Deneysel veriler ve klinik tecrübeler ruminantların mikotoksinlere karşı diğer türlerden daha dirençli olduğunu göstermektedir. Bu durum rumen florasının çok sayıda mikotoksini daha düşük potansiyelde tehdit oluşturacak ya da biyolojik aktivitesi düşük metabolitlere çevirmesiyle alakalıdır. Bununla birlikte bazı mikotoksinler rumen florasından etkilenmeden ve biyolojik aktivitelerini koruyarak geçebilir. Bu durum rumen bariyer fonksiyonunun mikotoksinlerin direkt oluşturdukları antimikrobiyal etkiler ya da hastalıklardan etkilenmesine bağlı gelişebilir ve absorpsiyon oranı artar (Fink-Gremmels 2008b). Özellikle, aflatoksinler gibi düşük moleküler ağırlıklı lipofilik maddeler pasif difüzyonla absorbe olur (Şekil 9).



Şekil 2.9: Toksinlerin difüzyon mekanizması (Jouany 2001).

Yüksek süt verimli ineklerde karaciğerin yüksek metabolik aktivitesi nedeniyle toksinlere karşı oldukça duyarlı olması süt sığırlarında riski artırır. Rumende emilen küçük miktarlardaki AFB₁ karaciğerde hepatik mikrozomal sitokrom P450 enzimi aracılığıyla AFM₁'e biyotransforme olur (Jouany 2001, Battacone ve ark. 2005).

Oluşan AFM₁ ya glukronik asitle konjuge olur ve akabinde safra ile atılır ya da sistemik dolaşıma geçer (Jouany 2001). Dolaşımdaki AFM₁ ise idrar veya süt ile atılır (Fink-Gremmels 2008b).

Süt ve süt ürünlerinde AFM₁ bulunuşu insanlar tarafından büyük bir tüketim düzeyine sahip olması nedeniyle önem taşımaktadır (Battacone ve ark. 2009). AFM₁, çoğunlukla memeli canlıların sütlerinde AFB₁ tüketimini müteakip hızlıca ortaya çıkar (Masoero ve ark. 2007). Çalışmalar tüketilen AFB₁'in birkaç saat içerisinde süte AFM₁ olarak geçtiğini göstermiştir (Harris ve Staples 2003). 5 keçiye tek doz 0.8 mg AFB₁ yedirilerek gerçekleştirilen bir çalışmada (Battacone ve ark. 2012) tespit edilen AFM₁ piki, AFB₁ alımından 3 ve 6 saat sonrasında gözlenmiştir. Bir başka çalışmada (Battacone ve ark. 2003) koyunlarda tek doz 2 mg saf AFB₁ uygulamasından 24-48 saat sonrasında AFM₁ pikleri elde edilirken 96 saat sonrasında sütte AFM₁'e rastlanmadığı bildirilmiştir.

Sütçü sığırlarda yemle tüketilen AFB₁'in % 3'ü süte geçmektedir (Diaz ve ark. 2004). Bununla birlikte aflatoksin emilimi ve sütle aflatoksin M₁ olarak atılımı bireyler arasında, günler arasında ve laktasyon periyotlarında farklılık gösterir. Bununla birlikte süt veriminin AFM₁ atılımını etkileyen ana faktör olduğu ve yüksek süt veriminin daha fazla AFM₁ atılımına neden olduğunu belirtilmektedir. Yüksek verimli süt inekleri yüksek miktarlardaki konsantre yem tüketimi sonucu % 6.2 gibi yüksek oranlarda bir atılım gösterebilmektedir (Çizelge 2.15).

Çizelge 2.15: Süt sığırlarında taşınma oranının hesaplanması (Vaka Analizi – Uyarlama, EFSA 2004)

Sığır	Süt Verimi (kg/gün)	Yemle Günlük AFB ₁ Tüketimi (µg/gün)	Süt AFM ₁ Düzeyi (µg/kg)	Sütle AFM ₁ Atılımı (µg/gün)	Taşınma Oranı (CO Rate) (%)
Vaka 1	50	227.5	0.27	13.5	6
Vaka 2	25	265	0.21	5.25	2
Vaka 3	25	35	0.03	0.75	2

Yüksek süt verimli ineklerde plazma-süt bariyerindeki değişkenlik yüksek AFM₁ atılımının nedeni olabilir (Veldman ve ark. 1992, Masoero ve ark. 2007). Bu değişiklikler bazı sistemik ya da lokal enfeksiyonlardan (mastitis gibi) kaynaklanabilir ve kan ile süt arasındaki pH değişimini etkiler (Fink-Gremmels 2008b).

AFM₁'in neredeyse AFB₁'e yakın olan karsinojenik potansiyeli toksikolojik bulguların ışığında süt ve süt ürünlerinde maksimum düzey için sınırlamalar getirilmiştir. ABD'de belirlenen maksimum limit 0.5 µg/kg iken Avrupa Birliği, Afrika, Asya ve Latin Amerika'da bu düzey 0.05 µg/kg olarak belirlenmiştir (Masoero ve ark. 2007, Van Egmond 2007, Fink-Gremmels 2008b). Birçok araştırmacı tarafından belirlenen limit değerlerin yeterliliğini ortaya koyma amacıyla bazı çalışmalar yapılmış, olmakla birlikte sütle AFM₁ atılımının ülkemizde de kabul gören limit değer olan 0.05 ppb düzeyi aşmaması için hayvanların günlük 40 µg'ın altında AFB₁ tüketmeleri gerektiği (Veldman ve ark. 1992) tavsiye edilmektedir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan Gereci

3.1.1.1. İşletmelerin Seçimi

Örnek alınan işletmeler, Antakya, Samandağ ve Yayladağı ilçelerini kapsayan alanda Hatay İli Holstein Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliğine üye işletmeler arasından seçildi. Hayvanların işletmeyi temsil edecek sayı ve üniformitede olması amacıyla ortalama hayvan sayısı 8-10 olması tercih kriteri oldu. Çalışmada her işletme bir grup olarak değerlendirildi.

3.1.1.2. Hayvanların Seçimi

Çalışma kapsamında yukarıda belirtilen kriterler doğrultusunda tespit edilen 20 işletmenin her birinden 5'er adet olmak üzere toplam 100 adet süt ineği hayvan gereci olarak kullanıldı. Seçilen hayvanların, tercihen 3-6 yaş aralığında, 350-450 kg ağırlığında ve laktasyonun pik dönemi geçirmiş (10. hafta ve üzeri) hayvanlar olması öncelikli seçim kriteri oldu. Bunun yanı sıra hayvanların kronik bir rahatsızlıklarının bulunmaması ve uzun süreli ilaç tedavisi görmüyor olması da seçim kriterleri arasında yer aldı.

3.1.2. Yem, Süt ve Kan Gereci

Yem gereci, hayvanların tüketimine sunulan karma ve kaba yemlerden oluştu. Yem değişikliklerinin elde edilecek verilerde oluşturabileceği muhtemel farklılıklara engel olmak amacıyla yemlerin işletmede en az 30 gündür kullanılan yemler olması tercih edildi. Yem örnekleri kaba ve konsantre yemler olarak ayrı ayrı değerlendirilmiş ve örneklenmiştir. Örnekleme periyodundan önceki 15 gün boyunca, hayvanların meraya çıkış durumları, sabah ve akşam yemleme düzeyleri ile yem tüketimleri kaydedildi. Böylece işletmelerdeki hayvanların günlük yem tüketimleri en sağlıklı şekilde belirlenmeye çalışıldı. Örnekleme 2010 yılı Haziran ayı sonunda yapıldı.

3.1.2.1. Yem Numuneleri

Yem örnekleri, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının ilgili yönetmeliğinde belirtilen esaslara (Anonim 1975) uygun olarak alındı. Örnekleme için el küreği ve silindirik numune alma bastonu (çuval halindeki numuneler için) kullanıldı. İşletmelerde depolanan yemlerden tüm yem miktarını temsil edecek şekilde örnek alınabilmesi adına yığının farklı bölümlerinden alınan ilk numuneler bir araya getirilerek, partinin tamamını temsil edecek biçimde harmanlama yapıldı. İlk numune sayıları ve uygulanan numune alma yöntemi Ergün ve ark. (2002) bildirdiği şekilde seçildi. Yem hammaddeleri/karmalarında aflatoksin analizi 3 paralelli çalışıldı.

3.1.2.2. Konsantre Yemler

Konsantre yem örneklerinde işletmelerdeki yem stokuna bağlı olarak alınan ilk numune sayısı/miktarı, dökme yemlerde 2.5 tona kadar olan partilerde 7, daha fazla yem bulunan partilerde ise miktara orantılı olarak daha fazla sayıda, ambalajlı yemlerde ise ambalaj sayısı ve büyüklüğüne göre 1-12 adet olacak şekilde belirlendi. İlk numune miktarları parça iriliğine göre 250-1000 gr aralığında seçildi. İlk numunelerin harmanlanmasıyla hazırlanan paçal numuneden ise 500-750 gram olacak şekilde laboratuvar numunesi alındı. Numuneler 1 kg'lık naylon poşet içerisine konularak, alınan yem örnekleri ile ilgili kayıt tutulması amacıyla numune poşeti üzerine yemin adı, işletmenin grup numarası yazıldı. Laboratuvara taşınan yem örnekleri ekstraksiyon işlemleri öncesinde -25 °C'de muhafaza edildi.

3.1.2.3. Kaba Yemler

Kaba yem örneklerinde, işletmelerdeki yem stokuna bağlı olarak ilk numune sayısı, 5 tona kadar olan partilerde 10, daha fazla yem bulunan partilerde ise miktara orantılı olarak ve Ergün ve ark. (2002) belirttiği ton miktarının 40 katının karekökü usulüne uygun olacak şekilde belirlendi. İlk numune miktarları parça iriliğine göre 300-1000 gr aralığında seçilmiştir. İlk numunelerin harmanlanmasıyla hazırlanan paçal numuneden ise 500-750 gram olacak şekilde laboratuvar numunesi alındı. Numuneler 1 kg'lık naylon poşet içerisine

konuldu. Alınan yem örnekleri ile ilgili kayıt tutulması amacıyla numune poşeti üzerine yemin adı, işletmenin grup numarası yazıldı. Laboratuara taşınan yem örnekleri ekstraksiyon işlemleri öncesinde -25 °C’de saklandı.

3.1.2.4. Süt Örnekleri

Süt örnekleri işletmede rutin olarak kullanılan yemlerin hayvanlara akşam yemlemesinde sunulmasından sonraki en az 3-5. saatlerde elle sağım yöntemi ile alındı. Örnekler, her işletmede beşer hayvandan toplamda 900-1250 ml olacak şekilde, her hayvandan ayrı ayrı alınan sütler üzerinde işletme ve hayvan kodu yazan 250’şer ml’lik kaplara kondu. Alınan numuneler derhal soğuk zincir altına alınarak, doğrudan güneş ışığına maruz bırakılmadan laboratuara taşındı ve analiz işlemlerine kadar -25 °C’de saklandı.

3.1.2.5. Kan Örnekleri

Kan örnekleri süt örneklerinin toplanmasıyla eş zamanlı olarak her bir hayvandan vakumlu kan alma iğneleriyle antikoagülsüz vakumlu kan tüplerine alınarak soğuk zincir altında laboratuara taşınarak ön işlemler uygulandıktan sonra analiz işlemlerine kadar -25 °C’de saklandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Analizi

3.2.1.1. Kullanılan Malzemeler

Kullanılan alet ve ekipmanlar;

- HPLC Cihazı (Shimadzu Class VP)
- Shimadzu LC-20AD SP Pompa
- Shimadzu SCL-10A VP Sistem Kontrol Ünitesi
- Shimadzu RF-10AXL Flöresan Dedektör
- Shimadzu Degasser Prominence DGU 20A₃
- Analitik Kolon Spherisorb S5 ODS3 (5µm, 25cm x 5 mm) ve guard kolon
- Türevlendirme Cihazı (Kobra Cell-Thomson Z Determiner-Olland TMT)
- Hassas Terazi (0.01 g hassasiyette)
- Blender
- Ultra Saf Su Cihazı (Purelab Elga DV 25)
- Whatman No:4 Filtre Kağıdı
- Kaba Filtre Kağıdı
- Otomatik pipetler (0.1-1-5 mL)
- Laboratuvar Cam Malzemeleri (mezur, erlenmayer, beher, huni, pipet vs.)
- Tüp Karıştırıcı: Vorteks
- 07 Aflaprep İmmunoaffinite Kolonu (IAK)
- İmmunoaffinite kolonu (EASİ Extract)
- Santrifüj
- Su banyosu
- Tek kullanımlık Enjektör (50 mL-5 mL)
- Vial (2.5 mL, 5 mL'lik)

Kullanılan kimyasallar;

- Sodyum Klorür (HPLC Grade-Merck 106404)
- Acetonitril (HPLC Gradient Grade) (CAS NO: Merck 100030)
- Metanol (HPLC Grade-Merck 106008)
- KBr (%99.5 saflıkta-Riedel-De Haen Ag 02112)
- Nitrik Asit (%65 saflıkta-Merck 100443)
- Ultra saf su (Liquid Chromatography Grade)

3.2.1.2. Yem Örneklerinin Analizi

Yem numunelerinde aflatoksin analizi HPLC cihazında AOAC (2003)'nin bildirdiği metoda göre yapıldı. Yem maddelerinde aflatoksin (B₁, B₂, G₁, G₂) tayini için kullanılan HPLC-IAK analiz yönteminin prensibi; örneğe uygulanan ön işlemlerden sonra (örnekleme, ekstraksiyon, ekstraktın temizlenmesi, immunoaffinite aşaması, HPLC'ye enjeksiyon) kantitatif analiz ilkesine dayanmaktadır. HPLC'de kolon sonrası türevlendirme Kobra Cell cihazı kullanılarak yapıldı. Yem örneklerinin analizleri Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (MKÜFAM) laboratuvarında gerçekleştirildi.

Örneğin hazırlanması, ekstraksiyonu ve IAK safhası;

Homojenize edilmiş yem numunesinden 50 gram alınarak 500ml'lik erlene kondu. 5 gram NaCl ve 300 mL ekstraksiyon solventi (% 80 metanol : % 20 su) ilave edilerek manyetik karıştırıcıda yüksek hızda 20 dakika süre ile karıştırıldı. Ekstrakt, Whatman No:4 filtre kağıdından süzöldükten sonra filtratın 6 mL' si pipetle alınarak temiz bir behere aktarıldı. Beher üzerine 54 mL PBS eklenerek Immunoaffinite kolonundan geçirilmeye hazır hale getirildi.

İkinci aşamada Immunoaffinite kolonunun şartlandırılması amacıyla 10 mL PBS saniyede 1 damla olacak şekilde kolondan geçirildi. Şartlandırılan kolondan filtrat+PBS karışımı saniyede 1 damla olacak şekilde geçirilerek, ekstrakt içerisinde bulunan aflatoksinlerin kolonda mevcut antikolar tarafından tutulması sağlandı. Buna müteakip kolon 15 mL saf su ile yıkandı ve sonrasında kolondan 2-3 defa hava geçirilerek fazla suyun atılması sağlandı.

Son aşamada elüsyon amacıyla 0.75 mL MeOH yer çekimi etkisiyle kolondan geçirilerek oluşan aflatoksinler bir vialde toplandı. 0.75 mL HPLC dereceli saf su ile kolon yıkılarak bu kısımda aynı vialde toplandı ve böylelikle 1.5 mL elüat elde edildi. Elüat analiz yapılmıncaya kadar -25 C'da saklandı (AOAC 2003).

HPLC Safhası;

HPLC şartları;

Dalga Boyu	: Eksitasyon 360 nm, Emisyon 430 nm
Pompa Akış Hızı	: 1 mL/dk
Basınç	: <98
Enjeksiyon Hacmi	: 100 µL
Kolon sıcaklığı	: 40 °C

HPLC mobil fazı;

MeOH : ACN : Saf su (20:20:60 / v:v:v) + 119 mg KBr + 350µL 4 M HNO₃

Kalibrasyon tablosunun oluşturulması ve hesaplama;

AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂'nin 1000 ng/mL konsantrasyonda olduğu sertifikalı hazır mix standart kullanıldı (R-BIOPHARM Bx: WK 888/A). Ana stoktan 500 µL alınarak balon jojede HPLC dereceli metanol ile 5 mL'ye tamamlanarak seyreltildi (1:10). Hazırlanan bu II. Aşama standart solüsyon DS (Dilüe Standart) olarak etiketlendi. Daha sonra Metanol: Su (50:50) içeren dilüsyon çözeltisi hazırlanarak Çizelge 3.1'de belirtilen hacimlerde kalibrasyon standartları hazırlandı.

Çizelge 3.1: Yem örnekleri için kalibrasyon standartları

Vial No	Uygulama
1	50 µL DS balon jojede dilüsyon çözeltisiyle 10 mL'ye tamamlandı. (0.125 ppb B ₁ , 0.125 ppb B ₂ , 0.125 ppb G ₁ , 0.125 ppb G ₂)
2	100 µL DS balon jojede dilüsyon çözeltisiyle 10 mL'ye tamamlandı. (0.25 ppb B ₁ , 0.25 ppb B ₂ , 0.25 ppb G ₁ , 0.25 ppb G ₂)
3	250 µL DS balon jojede dilüsyon çözeltisiyle 10 mL'ye tamamlandı. (0.625 ppb B ₁ , 0.625 ppb B ₂ , 0.625 ppb G ₁ , 0.625 ppb G ₂)
4	500 µL DS balon jojede dilüsyon çözeltisiyle 10 mL'ye tamamlandı. (1.25 ppb B ₁ , 1.25 ppb B ₂ , 1.25 ppb G ₁ , 1.25 ppb G ₂)
5	750 µL DS balon jojede dilüsyon çözeltisiyle 10 mL'ye tamamlandı. (1.875 ppb B ₁ , 1.875 ppb B ₂ , 1.875 ppb G ₁ , 1.875 ppb G ₂)
6	1 mL DS balon jojede dilüsyon çözeltisiyle 10 mL'ye tamamlandı. (2.5 ppb B ₁ , 2.5 ppb B ₂ , 2.5 ppb G ₁ , 2.5 ppb G ₂)

Çizelge 3.2: Yem analizi için HPLC'ye girilen kalibrasyon değerleri

Vial No	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂
1. vial	0.125	0.125	0.125	0.125
2. vial	0.25	0.25	0.25	0.25
3. vial	0.625	0.625	0.625	0.625
4. vial	1.25	1.25	1.25	1.25
5. vial	1.875	1.875	1.875	1.875
6. vial	2.5	2.5	2.5	2.5

Bu değerlerle oluşturulan kalibrasyon tablosu ile 6 noktalı kalibrasyon eğrisi çizilerek, korelasyon katsayısının en az 0.998 olması sağlandı. Kolona alınan 0.75 ml metanol ve 0.75 ml saf su ile birlikte 1.5 ml sıvı içerisinde 1 g örnek toplanmış oldu. Bu miktar HPLC cihazına enjeksiyon yapılan 100 µl nedeniyle 0.06 g örneği temsil etti. Bu orana istinaden HPLC cihazında okunan değer 15 ile çarpıldı.

3.2.1.3. Süt Örneklerini Analizi

Analizin temel prensibi, süt numunesinin direkt olarak aflatoksin M₁'e spesifik İAK'dan geçirilerek tutulması ve İAK'dan asetonitril ile alınarak, yüksek basınç altında hareketli bir sıvı faz yardımıyla HPLC kolonu içerisinde geçerken belli dalga boylarında floresan dedektörü ile okunması ilkesine dayanır (EN ISO 14501, 2007; R-Biopharm 2005).

Örneğin hazırlanması ve İAK aşaması;

Süt örneklerinin ekstraksiyonu için, su banyosu kullanılarak süt numuneleri 37 °C'ye ısıtılarak, yağ katmanının ayrılması amacıyla 4000 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüj yapılmış süt örneklerinden 50'şer ml uygun büyüklükteki şırıngalar aracılığıyla, bu şırıngaların ucuna takılan immunoafinite kolonlarından 2-3 ml/dk hızda geçirildi. Daha sonra aynı şırınga + İAK sisteminden 10 ml PBS ve daha sonra kolonun kurutulması amacıyla şırınga + İAK sisteminden hava geçirildi. Elüsyon için immunoafinite kolonundan 1.25 ml metanol:asetonitril (20:30 v/v) yer çekimi kuvvetiyle geçirildikten sonra kolondan 1.25 ml HPLC grade saf su geçirilerek vialde 2.5 ml eluat toplandı (R-Biopharm 2005).

HPLC Safhası;

HPLC şartları;

Dalga Boyu	: Eksitasyon 360 nm, Emisyon 430 nm
Pompa akış hızı	: 1.0 mL/dk
Basınç	: <98 bar
Enjeksiyon hacmi	: 100 µL
Kolon sıcaklığı	: 25 °C

HPLC Mobil Fazı:

Ultra Saf Su (750 mL) + Asetonitril (250 mL)

Kalibrasyon çizelgesinin oluşturulması ve hesaplama;

Konsantrasyonu 25 ng/mL olan sertifikalı AFM₁ standardından (Sigma Aldrich Supelco 46319-U) 40 mikrolitre alınarak üzerine 960 µl asetonitril ilave edilmiş ve 1 ng/ml'lik 2. aşama ara standart hazırlanmıştır.

Çizelge 3.3: Süt örnekleri için kalibrasyon standartları

Vial No	Uygulama
1.vial	5 µL 2. aşama standart + 95 µl asetonitril
2.vial	10 µL 2. aşama standart + 90 µL asetonitril
3.vial	50 µL 2. aşama standart + 50 µL asetonitril
4.vial	2. aşama standarttan 100 µL

Her vialden 100 µL enjeksiyon yapılmış ve HPLC de kalibrasyon tablosunu oluşturmak için aşağıdaki değerler girilmiştir.

Çizelge 3.4: Süt analizi için HPLC'ye girilen kalibrasyon değerleri (ng/ml).

Vial No	AFM ₁
1.vial	0.05
2.vial	0.1
3.vial	0.5
4.vial	1

Bu değerlerle oluşturulan kalibrasyon tablosu ile 4 noktalı kalibrasyon eğrisi çizilerek, korelasyon katsayısının en az 0.986 olması sağlandı. 50 ml süt 2.5 ml'de toplandığı için dilüsyon katsayısı 0.05 olmuştur. Dilüsyon katsayısı cihaza girildikten sonra enjekte edilen hacimdeki aflatoksin miktarına (ng/ml) göre elde edilen pik alanı ve kalibrasyon eğrisi cihaz tarafından hesaplandı.

3.2.1.4. Kan Örneklerinin Analizi

Kan örnekleri 4000 devir/dakikada santrifüj edilerek serumları çıkarıldı. Serum trigliserit (TG), kan üre nitrojen (BUN), kreatinin (CR) ve total protein (TP) seviyeleri özel bir biyokimya laboratuvarında Konelab 60i Clinical Chemistry Analyzer (Thermo Electron Co, Finland) cihazı ile Thermo marka kitler kullanılarak; serum aspartat amino transferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT), alkalın fosfataz (ASP), gama-glutamil transferaz (GGT) enzim aktiviteleri ile kolesterol (TC), seviyeleri ise Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Bilimler Laboratuvarında Refletron Roche Otoanalizör ile Refletron marka kitler kullanılarak belirlendi.

3.2.2. Sonuçların Değerlendirilmesi

Araştırmada, her bir işletme bir grup olarak kabul edildi. Alınan yem örneklerinde tespit edilen aflatoksin düzeyleri ile sütte belirlenen AFM₁ düzeyleri Türkiye ve AB'de kullanılan yasal limitlerle kıyaslandı ve işletmelere göre yüzdelerle dilim kullanılarak belirtildi. Tüketilen toplam aflatoksin miktarları ile incelenen kan parametreleri arasındaki ve tüketilen AFB₁ miktarları ile sütte AFM₁ oluşumu arasındaki korelasyon düzeylerinin belirlenmesi amacıyla uygulanan normallik testi sonrası normal dağılım göstermediği belirlenen veriler arasında Spearman korelasyon analizi yapıldı (Failla ve ark. 1986). Tüm istatistik analizler SPSS 16.0 (SPSS Inc. Released 2007. SPSS for Windows, Version 16.0. Chicago, SPSS Inc.) paket programında yapıldı.

4. BULGULAR

4.1.Yem Analiz Sonuçları

Araştırmada 20 işletmeden toplam 68 yem örneği analiz edildi. Bu örneklerden 46 adedini konsantre yem (% 67.7), 22 adedini (% 32.3) ise kaba yem örnekleri oluşturdu. Konsantre yem örneklerinin 15 adeti (% 32.6) sütçü sığır ve besi sığırları için ticari olarak hazırlanmış karmalardan oluşurken, diğer konsantre yem örneklerini 11 adet buğday kepeği (% 23.9), 8 adet arpa (% 17.4), 4 adet fiğ (% 8.7), 3 adet pamuk tohumu küspesi (% 6.5), 2 adet buğday (% 4.3), 1 adet arpa+ PTK+ mısır karışımı (% 2.2), 1 adet mercimek (% 2.2) ve 1 adet mısır (% 2.2) oluşturdu. Kaba yem örnekleri ise 17 adet buğday samanı (% 77.4), 2 adet yonca kuru otu (% 9.1) ve birer adet mısır silajı (% 4.5), pancar (% 4.5) ve kuru ot (% 4.5) örneklerinden oluştu. Çalışma kapsamında ele alınan işletmelerden tüketilen yemlere dair bir genel profil tespit edilerek Çizelge 4.1 de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1: İşletmelerde tüketilen yemler

İşletme	Konsantre Yem	Kaba Yem
1	Süt Yemi	Buğday Samanı
2	Süt Yemi + Buğday	Pancar
3	Süt Yemi + Buğday Kepeği	Buğday Samanı
4	Süt Yemi + Pamuk Tohumu Küspesi+ Buğday Kepeği	Buğday Samanı
5	Süt Yemi + Mercimek	Buğday Samanı
6	“Kepek, Arpa, Süt Yemi Karması”	Buğday Samanı
7	Süt Yemi + “Arpa, Küspe (PTK), Mercimek Karması” + Buğday Kepeği	Buğday Samanı
8	Süt Yemi + Arpa	Buğday Samanı
9	Arpa + Fiğ	Buğday Samanı
10	Süt Yemi + Fiğ	Buğday Samanı
11	Süt Yemi + Buğday	Mısır Silajı + Yonca Kuru Otu
12	Süt Yemi + Fiğ+ Buğday Kepeği	Buğday Samanı
13	Pamuk Tohumu Küspesi+ Buğday Kepeği	Buğday Samanı
14	Süt Yemi + Arpa + Fiğ+ Buğday Kepeği	Kuru Ot
15	Süt Yemi + Arpa + Pamuk Tohumu Küspesi+ Buğday Kepeği	Buğday Samanı
16	Süt Yemi + Arpa+ Buğday Kepeği	Buğday Samanı
17	Arpa	Buğday Samanı
18	Besi Yemi + Arpa+ Buğday Kepeği	Buğday Samanı + Yonca Kuru Otu
19	Arpa+ Buğday Kepeği	Buğday Samanı
20	Mısır+ Buğday Kepeği	Buğday Samanı

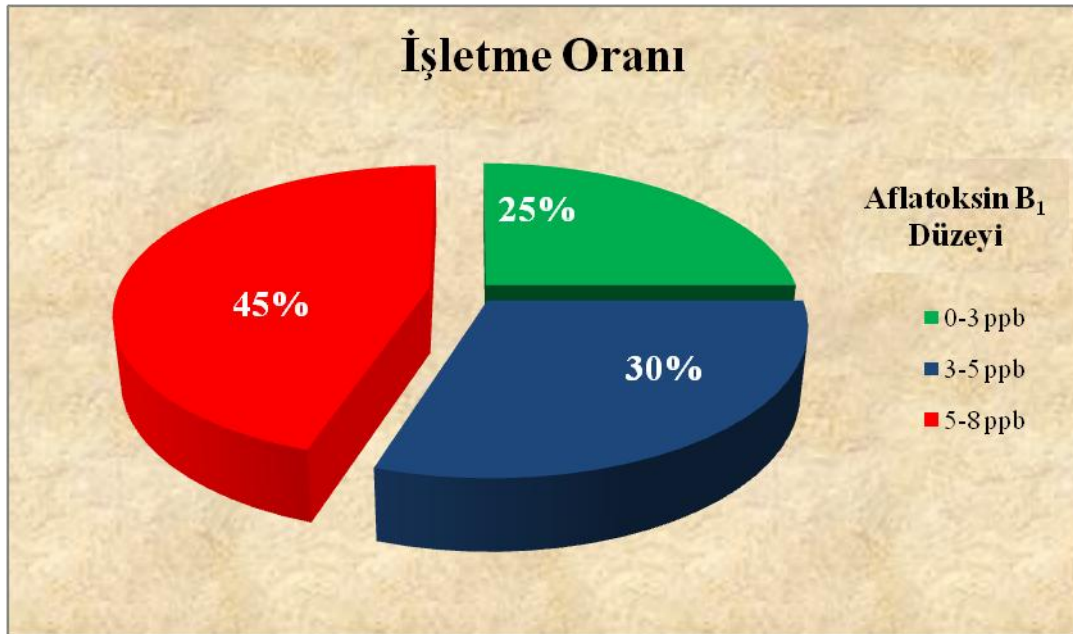
Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nün verilerine göre 2010 yılı Haziran ayında Hatay ilindeki ortalama nem ve sıcaklık düzeyleri sırasıyla % 69.4 ve 25.2 °C olarak kaydedildi (Anonim 2010).

Saha araştırması gerçekleştirilen 20 işletmenin % 75'inde total rasyonda konsantre yem olarak süt yemi, diğer % 25'lik dilimde ise tek ya da birkaç konsantre yem maddesinden oluşan karmaların kullanıldığı belirlendi. Bu tekli veya çoklu konsantre yem maddelerini ise ağırlıklı olarak buğday kepeği, arpa, fiğ ve pamuk tohumu küspesi oluşturmaktaydı. İşletmelerde en çok kullanılan kaba yem buğday samanı (% 77.4) iken, kuru ot, pancar ve silaj kullanımının düşük olduğu belirlendi.

4.1.1 Konsantre Yemler

İşletmelerde kullanılan kaba ve konsantre yemlerde tespit edilen AFB₁ ve toplam aflatoksin düzeyleri Çizelge 4.2'de verilmiştir. Türkiye'de yem maddeleri için yasal olarak belirlenen aflatoksin B₁ (AFB₁) limit değeri 20 ppb; sütçü sığır total rasyonu için ise 5 ppb'dir (Anonim 2005, Anonim 2011). Araştırmadan elde edilen bulgulara göre işletmelerin % 45'inden (9 işletme) alınan konsantre yem örneklerinde AFB₁ düzeyi 5 ppb'nin üzerinde iken, örneklerin hiçbirinde tespit edilen AFB₁ değerleri 20 ppb düzeyi aşmadı.

Şekil 4.1: Konsantre yemlerde tespit edilen AFB₁ düzeylerinin işletmelere göre dağılımı.



En yüksek AFB₁ değeri 7,503 ppb (İşletme 7) iken, sadece 1 işletmeden alınan konsantre yem örneklerinde AFB₁ tespit edilmedi (İşletme 9). Tespit edilen ortalama AFB₁ düzeyi ise 4.496 ppb oldu.

Çizelge 4.2: İşletmelerdeki yem örneklerinde tespit edilen AFB₁ ve toplam aflatoksin düzeyleri

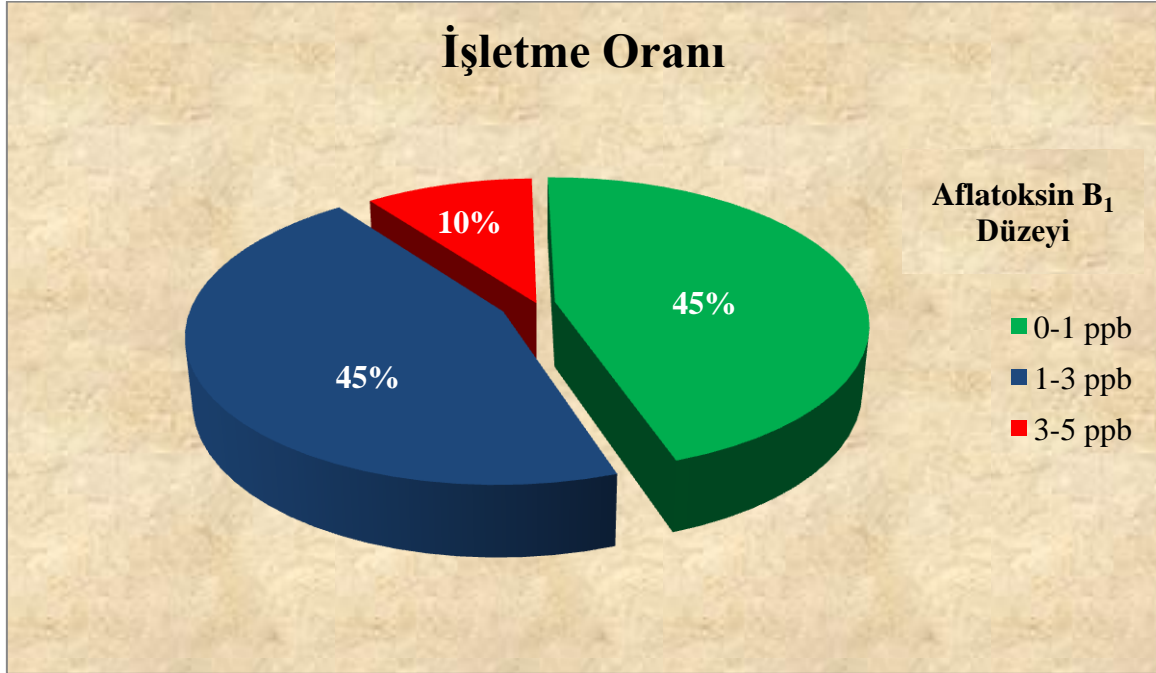
İşletme	AFB ₁ (ppb)		Toplam Aflatoksin (ppb)		
	Konsantre/Kaba Yem	İşletme Toplamı	Konsantre/Kaba Yem	İşletme Toplamı	
1	3.543 / \bar{X}	3.543	7.151 / \bar{X}		7.151
2	0.098 / 1.571	1.669	0.118 / 2.596		2.714
3	2.823 / \bar{X}	2.823	2.897 / \bar{X}		2.897
4	4.983 / 1.314	6.297	17.235 / 3.241		20.476
5	7.396 / \bar{X}	7.396	21.640 / \bar{X}		21.640
6	4.758 / \bar{X}	4.758	5.512 / \bar{X}		5.512
7	7.503 / 2.418	9.921	16.342 / 4.107		20.449
8	0.722 / \bar{X}	0.722	1.297 / \bar{X}		1.297
9	\bar{X} / 3.131	3.131	\bar{X} / 4.914		4.914
10	7.166 / \bar{X}	7.166	18.192 / \bar{X}		18.192
11	3.882 / 4.711	8.593	4.013 / 11.132		15.145
12	6.260 / \bar{X}	6.260	6.581 / \bar{X}		6.581
13	7.239 / 2.420	9.659	22.033 / 2.420		24.453
14	5.341 / 2.466	7.807	12.920 / 5.855		18.775
15	6.735 / \bar{X}	6.735	14.750 / \bar{X}		14.750
16	5.484 / 1.436	6.920	12.807 / 3.532		16.339
17	4.134 / 2.158	6.292	4.492 / 2.840		7.332
18	5.217 / 0.536	5.753	10.381 / 1.074		11.455
19	4.797 / 1.968	6.765	5.662 / 5.615		11.277
20	1.847 / 1.506	3.353	4.281 / 1.506		5.787
Ortalama	4.496 / 1.282	5.778	9.415 / 2.442		11.857

\bar{X} : Tespit edilemeyen düzey

4.1.2 Kaba Yemler

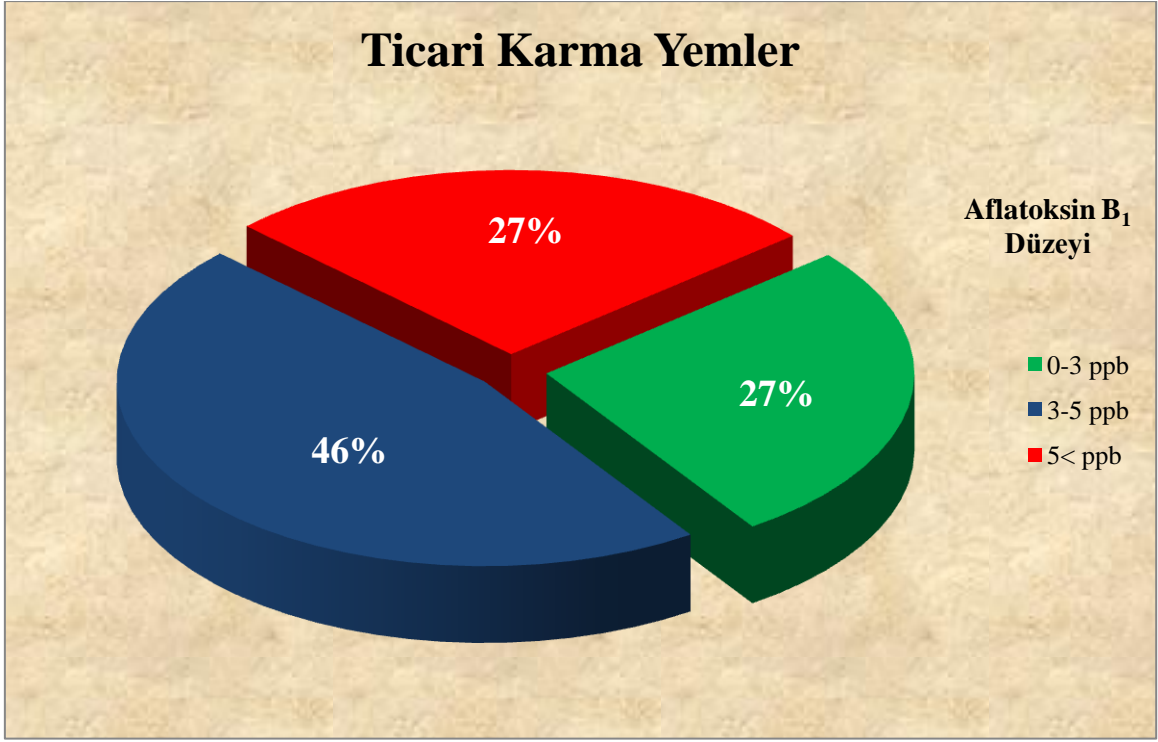
Kaba yem örneklerinde gerek AFB₁, gerekse toplam aflatoksin düzeyleri konsantre yemlere kıyasla düşük olarak belirlendi. Belirlenen değerler arasında Türkiye’de yem maddelerinde AFB₁ için belirlenen 20 ppb düzeyini geçen örneğe rastlanmadı. Kaba yem örnekleri arasında en yüksek AFB₁ değeri 4.711 ppb (İşletme 11) olurken, ortalama AFB₁ düzeyi 1.282 olarak tespit edildi. İşletmelerin % 40’ında kaba yemlerde AFB₁ tespit edilmezken, örneklenen 22 kaba yem örneğinden hiçbirinde AFB₁ düzeyi 5 ppb düzeyin üzerinde değildi.

Şekil 4.2: Kaba yemlerde tespit edilen AFB₁ düzeylerinin işletmelere göre dağılımı



Mevcut araştırmada incelenen 46 konsantre yem örneği arasında en yüksek AFB₁ düzeyleri ticari karma yemlerde belirlendi. İncelenen 15 ticari karma yem örneğinin % 27’sinde (4 örnek) AFB₁ düzeyi 5 ppb’nin üzerinde belirlenirken, ortalama AFB₁ düzeyi 3.812 ppb olarak izlendi. Ticari karma yemler haricinde incelenen diğer 31 konsantre yem örneği arasında sadece 1 örnekte 5 ppb üzerinde (7.239 ppb) AFB₁ belirlenirken (Pamuk Tohumu Küşpesi), ortalama AFB₁ düzeyi 1.142 ppb olarak belirlendi.

Şekil 4.3: Ticari karma yemlerde AFB₁ düzeyleri



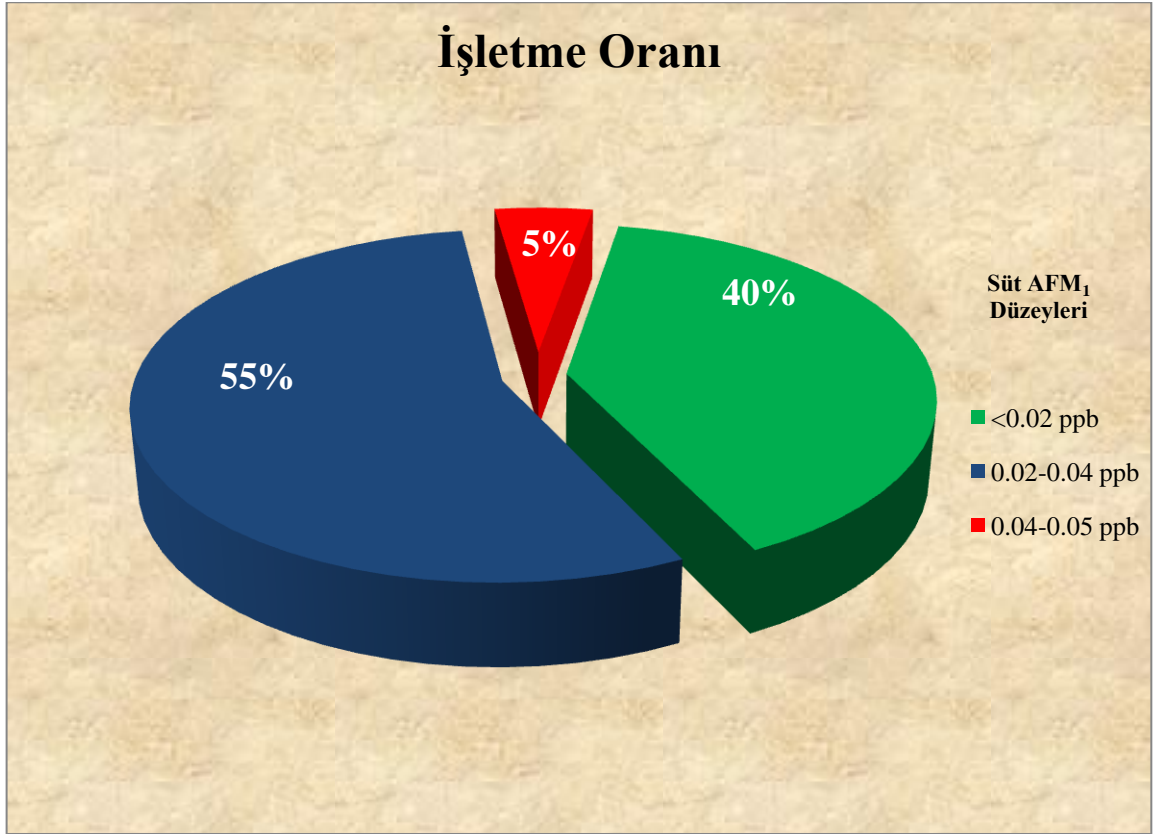
4.2. Süt Örneklerinde Aflatoxin M₁ (AFM₁) Düzeyleri

Araştırma kapsamında 20 işletmenin her birinden 5'er adet olmak üzere örneklenen toplam 100 süt örneğinin % 2'sinde AFM₁ düzeyi limit değer olan 0.05 ppb değerinin üzerinde belirlenirken, işletmelerin tamamında ortalama AFM₁ miktarlarının Türkiye için belirlenen yasal limitin (0.05 ppb) altında olduğu tespit edildi (Çizelge 4.3). 20 işletmenin sadece birinde AFM₁ miktarı tehdit sınırı olarak kabul edilebilecek 0.04-0.05 ppb aralığında yer alırken, İşletmelerin % 55'inde tespit edilen AFM₁ miktarları 0.02-0.04 aralığında; % 40'lık dilim oluşturan 8 işletmede ise 0.02 ppb'nin altında belirlendi (Şekil 4.4).

Süt verimi ortalaması 20 kg/gün ve üstü olan işletmelerden alınan süt örneklerinde tespit edilen AFM₁ düzeyi ortalaması 0.0235 ppb iken, süt verimi ortalaması 20 kg/gün düzeyin altında yer alan işletmelerden alınan süt örneklerinde tespit edilen AFM₁ miktarı ise 0.0181 ppb olarak belirlendi (Çizelge 4.3). İşletmelerde hayvanların günlük yem tüketimlerine göre hesaplanan toplam tüketilen AFB₁'in süte AFM₁ olarak taşınma oranları incelendiğinde (Çizelge 4.3), minimum taşınma oranı (Carry-Over Rate) % 1.56; maksimum taşınma oranı

ise % 3.26 olarak belirlendi (Ortalama taşınma oranı % 2.66). Ortalama değerler üzerinden incelendiğinde, 15.987 µg/gün AFB₁ tüketen hayvanların sütünde tespit edilen AFM₁ miktarı 0.0214 µg/kg olarak belirlendi. Yemle tüketilen toplam AFB₁ düzeyleri ile süt AFM₁ düzeyleri arasında pozitif korelasyon (r^2 : 0.940) tespit edildi ($P < 0.01$).

Şekil 4.4. Sütteki AFM₁ düzeylerinin işletmelere göre % dağılımı



Çizelge 4.3: İşletmelerde mevcut hayvanlara ait genel profil ve AFB₁'in süte AFM₁ olarak geçiş düzeyi

İşletme No	Tüketilen Yem Miktarı*	Kaba Yemle Alınan AFB ₁	Konsantre Yemle Alınan AFB ₁	Toplam AFB ₁ Tüketimi	Süt AFM ₁ Düzeyi	Ortalama Süt Verimi	AFB ₁ 'in süte taşınma oranı
	(kg/gün)	(µg/gün)	(µg/gün)	(µg/gün)	(µg/l)	(kg/gün)	(%)
1	6.2	0.000	6.838	6.838	0.0091	21.0	2.81
2	8.9	6.928	0.283	7.211	0.0104	19.0	2.75
3	9.6	0.000	8.006	8.006	0.0128	17.4	2.99
4	9.6	4.625	11.628	16.253	0.0214	21.0	2.77
5	12.2	0.000	29.769	29.769	0.0368	25.0	3.09
6	5.9	0.000	10.420	10.420	0.0126	23.0	2.77
7	9.2	8.777	18.182	26.959	0.0372	20.4	2.81
8	8.9	0.000	1.537	1.537	0.0018	20.8	2.41
9	11.3	17.189	0.000	17.189	0.0204	27.0	3.21
10	11.2	0.000	27.870	27.870	0.0337	27.0	3.26
11	22.2	24.627	13.509	38.136	0.0462	26.0	3.15
12	11.1	0.000	19.144	19.144	0.0234	21.0	2.57
13	5.5	5.881	11.707	17.588	0.0254	10.8	1.56
14	6.9	5.129	7.421	12.550	0.0211	12.4	2.08
15	11.4	0.000	13.317	13.317	0.0182	20.0	2.73
16	7.8	4.480	11.381	15.861	0.0231	17.0	2.48
17	4.4	5.697	7.288	12.985	0.0208	15.0	2.40
18	15.0	2.231	14.608	16.839	0.0211	23.4	2.94
19	6.2	5.156	8.452	13.608	0.0197	14.0	2.03
20	7.7	4.202	3.454	7.656	0.0108	16.8	2.37
Ort.	9.5	4.746	11.241	15.987	0.0214	19.9	2.66

*: Mera beslemesine ilave olarak tüketilen yem miktarı

4.3. Biyokimyasal Parametreler

Araştırmada, 20 işletmenin her birinde mevcut beşer hayvandan süt örneklerine paralel olarak kan örnekleri de toplanarak, karaciğer enzim aktiviteleeri (Serum AST, ALT, ALP ve GGT), serum total protein (TP), kan üre nitrojen (BUN), kreatinin (CR), kolesterol (TC) ve trigliserit (TG) dzeyleeri (izelge 4.4) ve yemle alınan total aflatoksin dzeyleeri ile kan parametreleeri arasındaki muhtemel korelasyon da incelendi (şekil 4.5).

4.3.1. Serum AST Aktivitesi

Mevcut araştırmada süt ineklerinde serum AST enzim aktivitesi değerleeri normal sınırlar içerisinde tespit edildi. İşletmeler arasında en düşük AST değeri 93.76 u/l (İşletme 1) ve en yüksek AST değeri 166.60 u/l (İşletme 2) olarak belirlenirken, yemle alınan total aflatoksin dzeyleeriyle tespit edilen serum AST aktivitesi arasında bir korelasyon tespit edilmedi (şekil 4.5).

4.3.2. Serum ALT Aktivitesi

Mevcut araştırmada işletmelerin 9'unda (% 45) serum ALT aktivitesi referans aralığının üstünde belirlendi. İşletmeler arasında en düşük serum ALT aktivitesi 20.28 u/l (18 no'lu işletme), en yüksek serum ALT aktivitesi 60.24 u/l (7 no'lu işletme) oldu. Tespit edilen serum ALT aktivitesi ile yemle alınan total aflatoksin dzeyleeri arasında korelasyon tespit edilmedi.

4.3.3. Serum ALP Aktivitesi

Mevcut araştırmada elde edilen ALP aktivitesi normal sınırlar içerisinde bulunurken, yemle alınan total aflatoksin ile serum ALP aktivitesi arasında bir korelasyon tespit edilmedi (şekil 4.5). İşletmeler arasında belirlenen en düşük serum ALP aktivitesi 34.04 u/l (işletme 6) iken, en yüksek serum ALP aktivitesi 66.08 ile 18 no'lu işletmede gözleendi.

Çizelge 4.4: Tespit edilen bazı kan parametreleri

GRUP	AST (u/l)	ALT (u/l)	ALP (u/l)	GGT (u/l)	TC (mg/dl)	BUN (mg/dl)	CR (mg/dl)	TP (g/dl)	TG (mg/dl)
1	93.76	24.48	50.60	20.04	211.00	20.20	1.12	7.30	19.20
2	166.60	40.90	64.56	37.48	272.00	17.00	0.76	5.84	16.00
3	119.80	54.00	48.26	43.42	217.60	27.60	0.94	6.28	18.20
4	129.20	50.62	44.46	23.92	277.80	11.20	0.98	6.96	21.00
5	128.32	30.90	47.76	41.66	140.20	18.40	1.04	6.60	10.60
6	101.22	32.04	34.04	51.52	136.60	15.60	0.96	6.62	18.40
7	126.46	60.24	54.10	30.92	252.00	15.40	0.98	6.28	18.20
8	128.34	47.88	63.04	37.68	239.20	8.40	1.06	6.46	14.80
9	119.80	50.62	59.34	33.04	273.60	17.80	0.84	6.88	13.80
10	115.60	49.84	58.78	33.20	215.80	19.80	0.90	6.44	15.20
11	135.32	52.76	54.84	30.20	268.80	15.40	0.90	6.80	9.40
12	117.54	35.98	63.40	27.44	240.20	14.60	0.98	6.46	7.40
13	113.94	31.72	63.06	27.72	189.80	12.80	0.98	6.46	24.80
14	105.62	31.08	64.04	42.38	162.60	16.60	0.98	6.82	7.80
15	128.40	39.28	41.44	28.62	287.80	19.20	1.04	6.86	8.80
16	96.82	40.20	62.52	23.44	193.60	12.80	0.98	6.96	15.00
17	113.78	31.72	52.40	26.44	124.00	14.60	1.14	6.84	14.00
18	106.00	20.28	66.08	32.10	205.40	16.20	1.08	6.52	6.60
19	107.58	31.44	42.24	23.56	156.60	13.40	0.94	7.14	15.80
20	127.04	33.02	40.44	26.28	211.20	10.00	1.20	7.38	7.60

Şekil 4.5: Yemle alınan toplam aflatoksin düzeyleriyle kan parametrelerinin korelasyonu

Parametre	AST	ALT	ALP	GGT	Kolesterol	Kan Üre Nitrojen	Trigliserit	Kreatinin	Total Protein
Yemle alınan Total Aflatoksin	0.110	0.062	0.050	-0.146	0.057	0.045	-0.070	-0.109	0.010
Korelasyon Katsayısı									

4.3.4. Serum GGT Aktivitesi

Mevcut araştırmada 20 işletmeden sadece birinde tespit edilen ortalama serum GGT aktivitesinin süt sığırları için belirtilen referans aralığının üzerinde gözlemlendi. İşletmeler arasında en düşük serum GGT aktivitesi 20.04 u/l (İşletme 1) ve en yüksek serum GGT aktivitesi ise 51.52 u/l (İşletme 6) oldu. Yemle alınan total aflatoksin düzeyleri ile serum GGT aktivitesi arasında bir korelasyon tespit edilmedi (Şekil 4.5).

4.3.5. Kan Lipitleri

Araştırmada elde edilen ortalama TC seviyeleri sütçü sığırlar için verilen referans aralığının içinde belirlendi. İşletmeler arasında en yüksek TC düzeyi 287.8 mg/dl (İşletme 15) en düşük TC seviyesi ise 124 mg/dl (İşletme 17) oldu. Yemle alınan AFB₁ düzeyleri ile tespit edilen TC konsantrasyonu arasında ise bir korelasyon tespit edilmedi (Şekil 4.5). Diğer taraftan işletmelerden % 25'inde bulunan ortalama TG değerleri verilen referans aralığının altında tespit edilirken, % 75'lik kısım referans değerler arasında yer aldı. Tespit edilen en düşük TG değeri 6.60 mg/dl (işletme 18) ve en yüksek TG değeri 24.80 mg/dl (İşletme13) belirlendi. Yemle alınan total aflatoksin düzeyleri ile TG konsantrasyonu arasında bir korelasyon tespit edilmedi (Şekil 4.5).

4.3.6. Kan Üre Nitrojen (BUN)

İşletmelerden sadece birinde süt ineklerinin kan üre nitrojeni (BUN) değerleri referans aralığının (8-27 mg/dl) üzerinde tespit edildi. İşletmeler arasında en düşük BUN değeri 8.40 mg/dl (İşletme 8) en yüksek BUN değeri ise 27.60 mg/dl (İşletme 3) olarak belirlendi. Yemle alınan total aflatoksin düzeyleri ile BUN değerleri arasında ise bir korelasyon tespit edilmedi (Şekil 4.5).

4.3.7. Kreatinin (CR)

Mevcut araştırmada, süt ineklerine ait kan CR değerleri referans aralığı içerisinde belirlendi. İşletmeler arasında en yüksek CR düzeyi 1.2 mg/dl (İşletme 20) iken, en düşük CR düzeyi 0.76 mg/dl (İşletme 2) oldu. Yemle alınan total aflatoksin düzeyleri ile kreatinin değerleri arasında korelasyon tespit edilmedi.

4.3.8. Total Protein (TP)

Mevcut araştırmada işletmelerin % 15'inde TP değerleri referans değerlerin (6.3-8.7 g/dl) altında yer alırken diğer işletmelerde elde edilen sonuçlar referans değerler arasında izlendi. Tespit edilen en düşük TP değeri 5.84 g/dl (işletme 2), en yüksek TP değeri 7.38 g/dl (işletme 20) olarak belirlendi. Yemle alınan total aflatoksin düzeyleri ile TP değerleri arasında bir korelasyon tespit edilmedi (Şekil 4.5).

5. TARTIŞMA

Bitkisel kaynaklı yem maddeleri hava, toprak ve suyla sıkı bir ilişki içerisinde olması nedeniyle mikroorganizmal bulaşıklık açısından diğer yem maddelerinden daha riskli bir konumdadır. Bu anlamda; bitkisel kaynaklı yemlerde mevcut en önemli problemlerden biri mantarlar ve bunların ürettiği mikotoksinlerdir. Mantarlar yem maddelerindeki besin maddelerini tüketirler. Bu aktivite sonucu yem maddesinin yağ içeriği azalırken su içeriğinde artış görülür. Aynı zamanda protein, amino asit ve vitamin düzeylerinde azalma meydana gelir. Tane yemler içinde mısır, darı ve soya fasülyesi, bitkisel protein kaynakları arasında ise pamuk tohumu küspesi, ayçiçeği küspesi ve yer fıstığı küspesi mikotoksinler açısından şüphe duyulması gereken yemlerdir (Ergün ve ark. 2002). Bununla birlikte özellikle, kullanılabilir karbonhidrat ve yağ içeriğine sahip besin maddeleri daha hızlı küflenmeye uğrar (Şanlı 2002).

Kaba yem maddelerinde kullanılabilir karbonhidrat ve yağ miktarı konsantrasyon oranla daha düşük olduğu göz önüne alındığında konsantrasyon oranla daha fazla aflatoksin içerebileceği söylenebilir. Bunun yanında substratın nem düzeyi de mantar üremesi üzerine önemli etki yapar. Kuru ot ve saman gibi yem maddeleri konsantrasyon oranla kıyasla daha düşük nem içerirler.

Mevcut araştırmada elde edilen bulgular, başta ticari karma yemler olmak üzere konsantrasyon oranla diğer yem maddelerine göre daha yüksek oranda aflatoksin içerdiği şeklindeki önceki çalışma bulguları (Juszkiewicz ve Piskorska-Pliszczynska 1992, Bingöl ve ark. 2007, Udom ve ark. 2012) ile paralellik göstermektedir.

Juszkiewicz ve Piskorska-Pliszczynska (1992), Polonya’da gerçekleştirdikleri bir çalışmada çeşitli dönemlerde mısır, arpa, buğday, çavdar, yulaf, ticari karma yem ve protein içerikli konsantrasyon yem örneklerini AFB₁ yönünden test etmişlerdir. Çalışma sonucunda ticari karma yemler ve protein içerikli konsantrasyon yemlerin aflatoksin yönünden daha yüksek oranda kontamine olduğu belirlenmiştir. Test edilen ticari karma yemlerin % 13’ünde aflatoksin bulunurken, tahıllardan ise sadece mısır örneklerinin % 4’ünde aflatoksin tespit edilmiştir. Protein içerikli konsantrasyon yemlerde tespit edilen aflatoksin düzeyi ise 5-500 µg/kg aralığında değişmektedir. Benzer şekilde Scudamore ve ark. (1997) mısır ürünleri ve pamuk tohumunda sıklıkla rastlanılan mikotoksinin aflatoksin olduğunu belirtmişlerdir.

Udom ve ark. (2012) da Nijerya'da yaptıkları bir çalışmada sütçü sığır konsantre yemlerinin % 92'sinde AFB₁ oranının 5 µg/kg sınırının üzerinde olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırma sonunda özellikle sütçü sığırlar için kullanılan konsantre yemlerinin AFB₁ açısından risk taşıdığı ifade edilmiştir.

Kaba ve konsantre yemlerin aflatoksin yönünden incelendiği bir başka çalışmada (Bingöl ve ark. 2007) konsantre yemlerde kaba yemlere kıyasla daha yüksek oranda aflatoksin olduğu belirlenmiştir. Bunlara zıt olarak Polat (2012), kaba yemlerde konsantre yemlere oranla daha yüksek oranda AFB₁ tespit etmiş, kaba yemlerdeki mikotoksin miktarının fazla oluşunun bölgenin iklim koşulları doğrultusunda bu yemlerin hasat sonrası iyi kurutulmadan depolanması veya iyi muhafaza edilmeyen kaba yemlerin yağmur veya kar suları ile kontaminasyonu sonucu olabileceğini ifade edilmiştir.

Dünya çapında gerek ekonomik kayıplara yol açması gerekse de insan sağlığını tehdit etmesi nedeniyle sütteki AFM₁ kalıntıları büyük önem taşır (Weidenbörner 2001). Türkiye de sütler için AFM₁ kalıntı limiti 0.05 ppb (50 ppt ya da 50 ng/l) olarak belirlenmiştir (Anonim 2005, Anonim 2011). Bu düzey Avrupa Birliğinde de kabul gören limit değer olmakla birlikte Amerika Birleşik Devletlerin'de FDA (Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından belirlenen yasal limit 0.5 ppb'dir (Masoero ve ark. 2007). Ülkemizde sütlerde AFM₁ varlığını ortaya koymak amacıyla birçok çalışma gerçekleştirilmiştir.

Aydın ili ve ilçelerinde bulunan mandıralardan alınan süt örneklerinin incelendiği bir çalışmada (Kök 2006), bu örneklerin 0.027- 0.210 ppb aralığında AFM₁ içerdikleri 8 örneğin yasal olarak belirlenen AFM₁ düzeyini aştığı, ortalama AFM₁ düzeyi ise 0.062 ppb olduğu belirlenmiştir.

Aydın ve Denizli illerinden elde edilmiş olan sütlerde AFM₁ prevalansı ve miktarlarının araştırıldığı bir çalışmada 81 süt örneği incelenmiş ve 20 örneğin yasal sınırların üzerinde AFM₁ içerdiği tespit edilmiştir. AFM₁ düzeyleri 5.76-105.45 ng/L aralığında yer almıştır (Hazer 2011).

Laktasyon dönemi ve süt veriminin süte aflatoksin taşınması üzerine etkilerinin incelendiği bir araştırmada (Veldman ve ark. 1992), laktasyonun 2-4. haftaları ve 34-36. haftalarındaki ineklere 14 gün boyunca 34-39 µg/gün AFB₁ yedirilmiş, süte aflatoksin taşınma oranının laktasyonun 2-4. haftasında bulunan ineklerde % 6.2; 34-36. haftasında olan ineklerde ise % 1.8 olduğu belirlenmiştir. Aynı araştırmacılar 7 ila 57 µg/gün düzeylerinde aflatoksin tüketen yüksek verimli (40 kg/gün) süt ineklerinde süte geçiş

oranının (% 3.8), düşük verimli (16 kg/gün) süt alınan ineklere (% 2.5) göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Geçiş oranlarının araştırıldığı bir meta-analiz çalışmasında (Pettersson 2004) 1985 öncesinde elde edilen verilerde AFB₁'in süte geçiş oranının genel olarak % 0.18-3.24 olarak gözlemlenirken, 1985 sonrası çalışmalarda % 0.32-6.2 aralığında değiştiği belirtilmiştir. Rapor edilen ortalama değer % 1.81'dir. Weidenbörner (2001), de geçiş aralığının % 0.3-3 arasında değiştiğini bildirmiş, bununla birlikte laktasyonun erken dönemlerindeki ineklerde oranın % 6'ya kadar çıkabildiğini de belirtmiştir.

Sütte AFM₁ düzeylerine etki eden bir diğer önemli faktör ise mevsimdir. Önceki çalışmalarda gerek yemlerde bulunan aflatoksin düzeylerinin gerekse bu yemleri tüketen hayvanların sütlerinde bulunan AFM₁ miktarlarının mevsimsel etkilerle direkt bağıntılı olduğu ortaya konulmuştur.

Özsunar (2005), bir çiftlikte tesadüfi örnekleme ile seçtikleri 45 inekten Mart ve Haziran dönemlerinde 135 adet süt örneğini analiz etmişlerdir. Analiz edilen çiğ süt örneklerinden 116'sında (% 86) AFM₁ bulunurken, 19 örnekte AFM₁ tespit edilememiştir. Tespit edilen düzeyler 0.001-0.068 (ort. 0.014) arasında değişmekte olup, pozitif çıkan örneklerden sadece bir tanesi yasal sınırların (0.05 ppb) üzerinde bulunmuştur. Analiz periyotlarına göre AFM₁ değişimi incelendiğinde, Mart ayındaki yüksek oranlar Haziran ayında hızlı bir şekilde düşmüştür. Mart ayı AFM₁ değerleri 0.008-0.068 (ort. 0.026) olarak belirlenirken, Haziran ayı değerleri 0.001-0.006 (ort. 0.002) arasında tespit edilmiştir.

Sugiyama ve ark. (2008), Ocak, Şubat ve Haziran aylarında topladıkları yem ve süt örneklerinde AFB₁ ve AFM₁ kontaminasyonunu Ekim-Şubat döneminde Nisan-Haziran dönemine oranla daha yüksek olarak tespit etmişlerdir.

Diğer taraftan, Polat (2012) gerçekleştirdiği çalışmada yörenin iklimsel özellikleri nedeniyle kaba yem olarak kullanılacak bitkilerin hasat mevsiminin genel olarak sonbahar aylarına denk gelmesi sonucu bu mevsimde kaba yemlerde aflatoksin miktarının en düşük, ilkbahar mevsiminde ise en yüksek düzeyde tespit edildiğini bildirilmiştir.

Yaz aylarında hayvanların otlak ya da mera alanlarında otlaması da süte geçen aflatoksin miktarını etkilemektedir. Bu durum işletmede depolanan yemlerin tüketiminin azalmasına ve süte yansıyan AFM₁ oranlarının daha düşük düzeyde seyretmesine neden olabilmektedir. Weidenbörner (2001), sütte AFM₁ bulunuşunun mevsimsel trendini ve

buna bağlı olarak yaz aylarında görülen düşük AFM₁ oranlarının, bu dönemlerde rasyonda daha az karma yem kullanımına bağlı olabileceğini belirtmiştir. Bu durum sütte AFM₁ oluşumu ve miktarına önemli bir etki yapmaktadır.

Ahırda ve merada beslenen hayvanların sütlerindeki aflatoksin M₁ miktarının karşılaştırılması amacıyla yapılan bir çalışmada (een 2009), merada beslenen hayvanlardan 31 adet ve ahırda karma yemle beslenen hayvanlardan 30 adet süt rneği alınarak kıyaslanmıştır. Merada beslenen hayvanlardan alınan süt örneklerinin sadece 1 (% 3.22) tanesinde AFM₁ tespit edilirken, ahırda kesif yemle beslenen hayvanlardan alınan süt örneklerinin 23'nde (% 76.66) farklı düzeylerde AFM₁ tespit edilmiştir. Çalışma sonunda merada beslemenin sütte aflatoksin M₁ düzeyinin düşüşüne önemli etkisi olduğu belirtilmiştir.

Mikotoksinler başta olmak üzere istenmeyen maddelerin hayvanlara ve hayvansal orijinli gıdalara aktarımını ifade eden geçiş ya da taşınma oranı (carry-over rate) kavramı üzerine yapılmış çalışmaların odak noktasını AFB₁'in AFM₁ olarak süte taşınması oluşurmaktadır. Bununla birlikte hayvana bağlı faktörlerin biyotransformasyon üzerine yaptığı önemli etki nedeniyle hayvansal dokularda geniş bir birikme ve depolama çeşitliliğinin oluşması veya değişken düzeylerde süt yolu ile atılım oranlarının görülmesi, bilim adamları arasında farklı risk değerlendirmeleri yapılmasına neden olmaktadır (Völkel ve ark. 2011). Bu kapsamda geçiş düzeyi için farklı yaklaşımlar bulunmasına rağmen daha kesin bir geçiş değerlendirmesi yapılması amacıyla çoğu araştırıcı tarafından (Frobish ve ark. 1986, Fremy ve ark. 1987, Veldman ve ark. 1992, EFSA 2004) günlük tüketilen AFB₁ miktarının günlük süt verimi ile atılan AFM₁ miktarına oranlaması şeklinde kullanılmıştır.

Mevcut araştırmada, bu yaklaşımla tespit edilen taşınma oranları doğrultusunda günlük yaklaşık 15.987 µg AFB₁ tüketen hayvanların sütlerinde 0.0214 ppb düzeyde AFM₁ oluştuğu ve buna göre Türkiye ve Avrupa Birliği için sütte belirlenen 0.05 ppb AFM₁ düzeyinin aşılmaması için hayvanların 37.3 µg/gün düzeyin altında AFB₁ tüketmeleri gerektiği belirlendi. Bu sonuç, Veldman ve ark. (1992)'nın bildirdiği sütte AFM₁ limit düzeyinin aşılmaması için günlük maksimum AFB₁ tüketiminin 40 µg'dan daha az olması gerektiği yönündeki bildirişle paralellik göstermektedir. Bununla birlikte mevcut araştırmada kullanılan hayvanların günlük yem tüketiminde mera katkısının da olması risk değerlendirmesinde göz önünde bulundurulmalıdır. Her ne kadar sütte AFM₁ düzeyi yemde mevcut bulunan AFB₁ miktarı ile ilişkili olsa da mikrobiyel bozulmaya

uğramış yemlerin hayvanlar üzerinde yarattıkları etkiler, yemdeki mikroorganizma yoğunluğu ve toksin miktarının yanında hayvanın ırkı, yaşı, cinsiyeti (Ergün ve ark. 2002), yemleme rejimi, hayvanın sağlığı, mikotoksinin sindirim oranı, mevsimsel faktörler, karaciğer biyotransformasyon kapasitesi ve süt verimi ile de ilişkilidir. Bu nedenle aflatoksin emilimi ve sütle aflatoksin M₁ olarak atılımı bireyler arasında, günler arasında ve laktasyon periyotlarında farklılık gösterir. Bununla birlikte süt veriminin aflatoksin M₁ atılımını etkileyen ana faktör olduğu ve yüksek süt veriminin daha fazla AFM₁ atılımına neden olduğu belirtilmektedir. Yüksek verimli süt inekleri yüksek miktarlardaki konsantre yem tüketimi sonucu % 6.2 gibi yüksek oranlarda bir atılım gösterebilmektedir (Veldman ve ark. 1992, Masoero ve ark. 2007).

Yemlerdeki aflatoksin miktarının süte geçiş oranları ve bu oranı etkileyen faktörlerle ilgili yukarıda bahsedilen literatür ışığında araştırmada elde edilen bulguların kimi literatürler bulgularıyla benzerlik kimileriyle de farklılık gösterdiği görölmektedir. Özellikle, yemlerde tespit edilen AFB₁ düzeyleriyle sütte tespit edilen AFM₁ düzeyleri arasında gözlenen çeşitliliğin işletmedeki hayvanların gün içerisinde merada otlaması ile ilişkili olduğu söylenebilir. Hayvanların mera beslemesinin işletme yemleri tüketimini doğrudan etkileyeceği açıktır. Ayrıca, laktasyon dönemleri itibarı ile araştırmada kullanılan süt ineklerinin pik dönemleri geçirmiş olmaları da bir diğer önemli faktördür. Diğer taraftan, örnekleme döneminin yaz aylarında yapılmış olması da işletmede depolanan yemlerdeki mikotoksin bulaşıklığını ve dolayısıyla süte geçiş oranlarını etkilemiştir.

Bunlara ek olarak yemde tespit edilen AFB₁ düzeyleri ile sütte tespit edilen AFM₁ düzeyleri arasındaki çeşitliliğe önemli bir etki yapması bakımından maskeli mikotoksin kavramının da dikkatle ele alınması gerekmektedir. Polar substanslara bağlanarak rutin analiz yöntemlerinden kaçabilen mikotoksinler hayvanın sindirim kanalında açığa çıkabilmekte ve biyotransformasyon metabolizmasına dahil olabilmektedir (Berthiller ve ark. 2009). Bu durum yemde tespit edilen nispeten düşük AFB₁ düzeylerine rağmen sütte daha yüksek oranda AFM₁ belirlenmesine ve dolayısıyla farklı düzeylerde geçiş oranları elde edilmesine neden olabilmektedir.

Aflatoksinlerin sitotoksik etkisine istinaden ikincil nitelikli biyokimyasal değişiklikler meydana gelebilir. Bu kapsamda serum AST (Aspartat aminotransferaz), ALT (Alanin aminotransferaz), ALP (Alkalin fosfataz) düzeyleri artış gösterebilir (şanlı 2002). Akut hepatik hasarlarda serum AST ve ALT miktarları genellikle artarken serum

ALP düzeyi normal seyredebilir. Kolestazis mevcut olan kronik hastalıklarda serum ALP ve Gamaglutamil transferaz (GGT) artarken serum AST ve ALT normal düzeyde ya da çok az artış göstermiş olabilir. Kronik karaciğer hasarlarında devam eden süreçte tüm enzimler normal düzeye dönebilir.

AST tüm türlerde pek çok doku ve organda yaygın olarak bulunur ve organ veya doku için spesifik değildir (Turgut 2000). Bununla birlikte bu dokulardaki yüksek aktivitesi nedeniyle hepatoselüler ve mürsküler hasarın ortaya konmasında kullanılır. Serum AST aktivitesi büyük hayvanlar için karaciğer hasarının değerlendirilmesinde ALT'ye oranla daha spesiftir (Kaneko ve ark. 1997).

Buna karşın AFB₁'in serum AST aktivitesini etkilemediğini bildiren çok sayıda sonuç mevcuttur. Applebaum ve Marth (1983), günde 13 gr AFB₁ ile beslenen Holstein sığırlarda serum AST aktivitesinin etkilenmediğini tespit etmişlerdir. Aynı şekilde Akkaya (2011), yaptığı çalışmada sığırlara günlük 0.6 mg AFB₁ uygulamasının serum AST aktivitesine etkisinin olmadığını bildirmiştir. Koyunlarda gerçekleştirilen bir çalışmada (Battacone ve ark. 2009) da günlük 1.13, 2.30 ve 5.03 µg/kg düzeylerde AFB₁ tüketen hayvanlarda AST aktivitesini etkilenmediği tespit edilmiştir. Benzer bir sonuç da keçiler üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada (Bingöl ve ark. 2007), kaba ve konsantre yemlerdeki aflatoksin içeriği ile serum AST aktivitesi arasında bir korelasyon tespit edilmediği bildirilmiştir.

Mevcut araştırmada belirlenen serum AST aktivitesinin yemle tüketilen aflatoksinde etkilenmediği elde edilen bulgular yukarıda zikredilen araştırma bulguları ile paralellik göstermektedir. Buna karşın, kuzular üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada (Edrington ve ark. 1994), 35 gün boyunca günlük 2.5 mg aflatoksinli yemle beslemenin serum AST aktivitesini yükselttiği gözlemlenmiştir. Benzer bir sonuç da Hereford-Angus melezi sığırlar üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada (Helferisch ve ark. 1986) da elde edilmiş, 600 ppb dozda aflatoksinin serum AST aktivitesini artırdığını, ancak daha düşük dozlarda (60-300 ppb) ise etkilemediğini bildirilmiştir. Wyatt ve ark. (1985), da genç erkek holstein buzağılara 0-5 ppm arasında aflatoksin içeren yemle gerçekleştirdikleri bir çalışmada plazma AST aktivitesinin arttığını gözlemlemişlerdir. Ancak araştırmacılar bu sonuçta sığırlara yedirilen yemdeki çinko katkısının etkisi olabileceğine, çinkonun aflatoksinin bu enzimler üzerine olan etkisine kısmi olarak karşı koyduğuna da vurgu yapmışlardır.

ALT, at, sığır ve koyunlarda karaciğer spesifik bir enzim değilken (Turgut 2000), genellikle kedi, köpek, tavşan ve ratlarda karaciğer hasarında bir gösterge olarak değerlendirilir (Kaneko ve ark. 1997). Aynı şekilde, serum AST ve ALT'nin yüksek aktivitesi canlıda enfeksiyon varlığını göstermekle birlikte bu enzimlerin düşük aktivite düzeyleri ve özellikle ALT sığırlar için tanıda fazla önem taşımamaktadır (Simion ve ark. 2010).

Applebaum ve Marth (1983), günde 13 gr AFB₁ ile besledikleri 2 Holstein sığırda yemle verilen AFB₁'in serum ALT aktivitesine bir etkisinin olmadığını gözlemlemiştir. Benzer şekilde Battacone ve ark. (2009) koyunlar üzerinde gerçekleştirdikleri bir çalışmada 5.03 µg/kg düzeye kadar AFB₁ alan hayvanlarda serum ALT aktivitesinin AFB₁ tüketiminden etkilenmediğini tespit etmişlerdir. Mevcut araştırmada benzer şekilde yemle tüketilen aflatoksin düzeyi ile serum ALT aktivitesi arasında herhangi bir korelasyon tespit edilmemiştir. Bunlara zıt olarak Akkaya (2011), yaptığı çalışmada hayvanlara 0.6 mg AFB₁ uygulamasının serum ALT aktivitesini azalttığını gözlemlemiştir. Benzeri bir sonuçta aflatoksin içeren kaba ve konsantre yemlerin keçilerin süt ve biyokimyasal parametrelerine etkilerini incelendiği bir çalışmada (Bingöl ve ark. 2007) elde edilmiş ve yem aflatoksini ile serum ALT aktivitesi arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir.

Serum ALP aktivitesindeki artış, hepatobiliyer obstrüksiyonda gözlenir. Bu artışın nedeni karaciğer hücrelerinde aşırı ALP üretimidir (Turgut 2000). ALP öncelikli olarak bağırsak, böbrek, karaciğer ve kemiklerde bulunur. Serum ALP aktivitesi akut ya da kronik hepatitiste yükselebilir. Spesifik olmayan ALP'nin serumda yükselişi birçok türde kolestazisin indikatörüdür (Kaneko ve ark. 1997).

Applebaum ve Marth (1983) Holstein sığırda günlük 13 gr AFB₁'in serum ALP aktivitesine bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde, aflatoksin içeren kaba ve konsantre yemlerin keçilerin süt ve biyokimyasal parametrelerine etkilerinin incelediği bir çalışmada (Bingöl ve ark. 2007), yem aflatoksini ile serum ALP aktivitesi arasında bir korelasyon tespit edilememiştir. Koyunlar üzerinde gerçekleştirilen bir başka çalışmada (Battacone ve ark. 2009) ise 14 gün boyunca günlük 1.13, 2.30 ve 5.03 µg/kg düzeylerde AFB₁ içeren yemle beslenen hayvanlarda serum ALP aktivitesinin etkilenmediği bildirilmiştir.

Araştırmada yemle tüketilen aflatoksin düzeyleri ile serum ALP aktivitesi arasında bir korelasyon tespit edilmediği yönünde elde edilen bulgular yukarıdaki çalışma sonuçları

ile benzerlik göstermektedir. Diğer taraftan, Akkaya (2011), yaptığı çalışmada hayvanlara 0.6 mg AFB₁ uygulamasının serum ALP aktivitesini artırdığını gözlemlemiştir. Bir başka çalışmada Lynch ve ark. (1972) 8 gruba ayrılan 24 erkek Holstein buzağı üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada 1.8 mg/kg'a kadar farklı düzeylerde tek doz aflatoksin uygulaması serum ALP aktivitesini artırdığını tespit etmişlerdir. Buzağular üzerinde gerçekleştirilen bir başka çalışmada (Lynch ve ark. (1970) ise günlük 0.020 mg/kg düzeyinde aflatoksinin serum ALP aktivitesini artırdığını, ancak bu artışın doza bağımlı olduğu belirlenmiştir. Helferisch ve ark. (1986), da Hereford-Angus melezi sığırlar üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada 600 ppb dozda aflatoksinin serum ALP aktivitesini artırdığını tespit etmişlerdir. Serum ALP aktivitesinin AFB₁ alımına bağılı olarak arttığı ya da etkilenmediği yönündeki verilerin aksine Edrington ve ark. (1994) ise kuzulara 35 gün boyunca günlük 2.5 mg dozda verilen aflatoksinli yemin serum ALP aktivitesini düşürdüğünü gözlemlemiştir.

Serum GGT aktivitesi birçok dokuda mevcut olmasına rağmen renal sarmal tubuler epiteli, hepatositlerin kanalcık yüzeyleri ve safra kanalı epiteli GGT yönünden daha yüksek bir aktiviteye sahiptir. Bu nedenle öncelikli olarak karaciğer hasarında belirgin şekilde artar ve hayvanlarda karaciğer hasarının belirteci olarak kullanılır. Bunun yanında renal hastalıklarda idrarda miktarı artar. Serum GGT aktivitesi genel olarak hepatik orijinlidir ve at, sığır, koyun ve domuzlarda kolestatik hastalıklarda artış gösterir (Kaneko ve ark. 1997). Casteel ve ark. (1995), karaciğer hasarının klinik olarak belirgin olmayan ilk evresinin karaciğer enzimleri ile tespit edilebileceğini belirtmiştir. Araştırmacılar GGT'nin çoğunlukla hepatositlerin kanaliküler membranından salgılanması nedeniyle küflerden kaynaklı karaciğer hasarlarında hassas bir belirteci olduğunu ifade etmişlerdir. Bununla birlikte Serum GGT aktivitesi hepatobiliyer obstrüksiyonda artış gösterirken hepatoselüler nekrozda artış düşüktür (Turgut 2000).

Edrington ve ark. (1994) kuzular üzerinde yaptıkları bir çalışmada 35 gün boyunca günlük 2.5 mg aflatoksinli yemle beslemenin, serum GGT aktivitesini artırdığını gözlemlemiştir. Bir başka çalışmada Fernandez ve ark. (1996) da koyunlarda 2.5 ppm aflatoksin içeren rasyonla beslemenin serum GGT aktivitesini artırdığını gözlemlemiştir. Buna karşın birçok çalışmada serum GGT aktivitesinin aflatoksinlerden etkilenmediği yönünde bulgular elde edilmiştir. Applebaum ve Marth (1983) ise günlük 13 gr AFB₁ tüketiminin Holstein sığırdaki serum GGT aktivitesine bir etkisinin olmadığını

gözlemlemiştir. Koyunlar üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada (Battacone ve ark. 2009) 1.13, 2.30 ve 5.03 µg/kg düzeylerde AFB₁ alan hayvanlarda serum GGT aktivitesinin etkilenmediği tespit edilmiştir. Bingöl ve ark. (2007) da çalışmalarında yemdeki aflatoksin miktarı ile kan GGT aktivitesi arasında bir korelasyon tespit edememiştir. Benzer şekilde mevcut araştırmada serum GGT aktivitesi ile yemle alınan aflatoksin düzeyleri arasında bir korelasyon tespit edilmemiştir. Diğer taraftan yukarıda bildirilenlerin aksine Akkaya (2011), yaptığı çalışmada sığırlara 0.6 mg/gün AFB₁ uygulamasının serum GGT aktivitesini azalttığını tespit etmiştir.

Yüksek dozda aflatoksin tüketimi birçok organı etkiler ve bu etki sonucunda ketozis, yağlı karaciğer sendromu, kuru madde tüketimi ve süt veriminde azalma gibi sorunlar ortaya çıkabilir (Rodrigues 2008). Sığırlarda serum kolesterol (TC) konsantrasyonu ile karaciğer yağ konsantrasyonu ters orantılıdır. Karaciğer yağlanmasında kan TC, trigliserit (TG) ve lipoprotein düzeyleri düşüktür. Serum TC konsantrasyonu 5 mg/dl'nin altına düşebilir. Karaciğerde ise TG akümüasyonu vardır. Hiperkolesterolemi ise obstrüktif biliyer hastalıklarda oluşur (Turgut 2000, Merck 2011).

Koyunlar üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada (Battacone ve ark. 2009) 1.13, 2.30 ve 5.03 µg/kg düzeyde AFB₁ alımının hayvanlarda TC düzeylerini etkilemediği tespit edilmiştir. Applebaum ve Marth (1983) günlük 13 gr AFB₁ ile besledikleri Holstein sığırlarda yemle verilen AFB₁'in TC ve TG değerlerine bir etkisi olmadığını gözlemlemiştir. Bunlara zıt olarak Akkaya (2011), yaptığı çalışmada sığırlara günlük 0.6 mg AFB₁ uygulamasının TC değerlerini azalttığını gözlemlemiş, ancak TG değerlerinin etkilenmediğini tespit etmiştir. Diğer taraftan Edrington ve ark. (1994) 35 gün boyunca 2.5 mg/kg aflatoksinli yemle besledikleri kuzularda TC düzeylerinin arttığını gözlemlemiştir. Bingöl ve ark. (2007) ise aflatoksin içeren kaba ve konsantre yemlerin keçilerin süt ve biyokimyasal parametrelerine etkilerini inceledikleri çalışmada yem aflatoksini ile TG değerleri arasında pozitif korelasyon tespit etmişlerdir.

Araştırmada gerek TC, gerekse TG değerleri yemle alınan total aflatoksin düzeylerinden etkilenmemiş olup, sonuçlar kimi araştırma bulgularıyla (Applebaum ve Marth 1983, Battacone ve ark. 2009) benzerlik gösterirken kimi araştırma bulguları (Edrington ve ark. 1994, Bingöl ve ark. 2007, Akkaya 2011) ile uyuşmamaktadır

Üre nitrojen karaciğerde ornitin siklusunda, amonyak metabolizmasının son ürünü olarak kana geçer (Turgut 2000). Böbrek, bağırsaklar, salya ve terle atılır. Ruminantlarda

üre gastrointestinal sisteme salınır ve orada protein üretimi için amino asitlere veya amonyağa çevrilir. Karaciğer üre üretimi, protein sindirimi, katabolizması ve karaciğer fonksiyonlarına bağlıdır. Aşırı protein tüketiminde veya protein yıkımında miktarı artarken, karaciğer rahatsızlıklarında azalır (Anonim 2012g). Akkaya (2011), yaptığı çalışmada hayvanlara 0.6 mg AFB₁ uygulamasının BUN değerlerine etkisinin olmadığını tespit etmiştir. Aynı şekilde Battacone ve ark. (2003) da koyunlarda yaptıkları çalışmada BUN değerlerinin AFB₁ uygulamalarından etkilenmediğini tespit etmişlerdir.

Mevcut araştırmada da BUN değerlerinin yemle tüketilen aflatoksin düzeylerinden etkilenmediği tespit edilmiştir. Buna karşın koyunların 2.5 ppm aflatoksin içeren rasyonla 21 gün beslendiği bir başka çalışmada (Fernandez ve ark. 1996), BUN değerlerinin azaldığını gözlemlenmiştir.

Kreatinin (CR) kaslarda kreatin fosfatın nonenzimatik hidrolizinin son ürünü olarak kana geçer (Turgut 2000). Endojen CR oldukça stabildir. Diyete bağlı faktörlerden az oranda etkilenir. Böbrek hasarının ölçümünde üre nitrojene oranla daha güvenilirdir. Bununla birlikte ciddi karaciğer hastalıklarında miktarı azalabilir (Anonim 2012g). Buna karşın birçok çalışmada CR değerlerinin aflatoksinlerden etkilenmediği bildirilmiştir. Applebaum ve Marth (1983), günlük 13 gr AFB₁ ile beslenen Holstein sığırlarda yemle verilen AFB₁'in CR değerlerine bir etkisi olmadığını gözlemlemişlerdir. Aynı şekilde Akkaya (2011) da yaptığı çalışmada hayvanlara 0.6 mg AFB₁ uygulamasının CR değerlerine etkisinin olmadığını tespit etmiştir. Battacone ve ark. (2009) da koyunlar üzerinde gerçekleştirdikleri bir çalışmada 1.13, 2.30 ve 5.03 µg/kg düzeylerde AFB₁ alan hayvanlarda CR değerlerinin AFB₁ tüketiminden etkilenmediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde mevcut araştırmada da CR değerleriyle yemle alınan aflatoksin miktarları arasında bir korelasyon tespit edilmedi.

Düşük total protein (TP) miktarları karaciğer ya da böbrek hasarlarını işaret edebilir. Bununla birlikte yüksek TP düzeyleri ise viral hepatitler gibi kronik yangılarda görülebilir (Anonim 2012h). Bunlara ek olarak Ayoub ve ark. (2011), TP miktarının AFB₁ uygulaması ile düştüğünü bunun nedeninin ise AFB₁'in proteine bağlanması olabileceğini belirtmiştir. Aflatoksin metabolitleri farklı hücre proteinleri ile negatif etkileşime geçebilir. Bunun sonucunda karbonhidrat, lipid ve protein sentezi inhibisyona uğrar. Karaciğer fonksiyonundaki azalmaya paralel olarak kanın pıhtılaşma mekanizmasında da bozukluklar, sarılık ve esansiyel serum proteinlerinin miktarında azalma meydana gelir

(Bommakanti ve Waliyar 2012). Bingöl ve ark. (2007) aflatoksin içeren kaba ve konsantre yemlerin keçilerin süt ve biyokimyasal parametrelerine etkilerini incelemişler ve yem aflatoksini ile TP değerleri arasında negatif korelasyon tespit etmişlerdir. Buna karşın bir çok araştırmada aflatoksinlerin TP değerlerine etkisini olmadığı yönünde sonuçlar da alınmıştır. Bunlardan birinde Applebaum ve Marth (1983), günde 13 gr AFB₁ ile beslenen Holstein sığırlarda yemle verilen AFB₁'in TP değerlerine bir etkisi olmadığını gözlemlemişlerdir. Benzer şekilde Lynch ve ark. (1970), günlük 0.020 mg/kg aflatoksinli yemle beslenen buzağılarda TP düzeylerinin önemli derecede etkilemediğini tespit etmişlerdir. Wyatt ve ark. (1985) da genç erkek holstein buzağılara 0-5 ppm arası aflatoksin içeren yemle gerçekleştirdikleri çalışmada TP konsantrasyonunun aflatoksinli yemden etkilenmediğini gözlemlemişlerdir. Koyunlara 21 gün süreyle 2.5 ppm aflatoksin içeren rasyon verilerek gerçekleştirilen bir çalışmada (Fernandez ve ark. 1996) TP değerlerinin etkilemediği gözlemlenmiştir. Yukarıdaki sonuçlara paralel olarak Battacone ve ark. (2009) da koyunlar üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada 1.13, 2.30 ve 5.03 µg/kg düzeylerde AFB₁ alan hayvanlarda TP değerlerinin etkilenmediğini tespit etmişlerdir.

Mevcut araştırmada TP düzeyinin tüketilen aflatoksin düzeylerinden etkilenmediği şeklindeki bulgu, yukarıda zikredilen araştırma bulguları ile paralellik göstermektedir. Bunlara zıt olarak, Edrington ve ark. (1994) 35 gün boyunca 2.5 mg/kg AFB₁'in kuzularda TP düzeylerini artırdığını gözlemlemişlerdir.

6. SONUÇ

Mevcut araştırma ile Hatay ilinde faaliyet gösteren 20 süt sığırı işletmesinde kullanılan kaba ve konsantre yemlerde AFB₁ ve total aflatoksin düzeyleri tespit edilerek, bu yemleri tüketen hayvanların sütlerinde AFM₁ oluşumu, yemle tüketilen AFB₁'in süte taşınma oranı ile total aflatoksin (AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂) düzeylerinin bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi incelenmiştir. Bu kapsamda ilde süt sığırcılığı yapan 20 işletmede bir tarama çalışması gerçekleştirilmiş, işletmelerde hayvanların günlük yem tüketim düzeyleri belirlenmiş, bu hayvanların tüketimine sunulan kaba ve konsantre yemler ile her bir işletmeden seçilen 5'er hayvandan süt ve kan örnekleri eş zamanlı olarak alınarak HPLC cihazı ile aflatoksin analizleri gerçekleştirilmiştir.

Örnek alınan 20 işletmenin % 45'inde konsantre yemlerdeki AFB₁ düzeyinin 5 ppb (maksimum 7.503 ppb)'nin üzerinde olduğu, kaba yem örneklerinde ise AFB₁ miktarının 5 ppb düzeyi aşmadığı tespit edilmiştir. İşletmelerde tespit edilen ortalama AFB₁ düzeyleri ise konsantre yemlerde 4.496 ppb, kaba yemlerde 1.282 ppb olmuştur. Ülkemizde yem maddeleri için belirlenen yasal AFB₁ limiti 20 ppb, süt sığırları için total rasyonda bulunacak AFB₁ limiti ise 5 ppb olup, yemlerde tespit edilen AFB₁ düzeyleri yasal limitlerin altında yer almaktadır.

Araştırmada her işletmeden 5 süt sığırı olmak üzere toplam 100 hayvandan alınan süt örneklerinin sadece % 2'sinde AFM₁ miktarı Türkiye için yasal limit olan 0.05 ppb düzeyini aşmıştır. Bununla birlikte 20 işletmenin tamamında ortalama AFM₁ düzeyi yasal limitin altında yer alırken, tüm işletmelerin ortalama AFM₁ düzeyi 0.0214 ppb olarak tespit edilmiştir. AFB₁'in süte AFM₁ olarak taşınma oranı ise % 2.66 olmuştur (min. % 1.56, max. % 3.26).

Mevcut araştırmada yemle alınan total aflatoksin miktarları ile serum AST, ALT, ALP ve GGT aktiviteleri ile kreatinin, kolesterol, trigliserit, total protein ve kan üre nitrojen düzeyleri arasındaki ilişki de incelenmiş ve herhangi bir korelasyon tespit edilememiştir.

Araştırmada elde edilen bulgulara göre tüm işletmelerde ortalama AFB₁ tüketim düzeyi 15.987 µg/gün olarak tespit edilmiş, ülkemizde ve Avrupa Birliğinde sütler için belirlenen yasal AFM₁ limitinin aşılması için 37.3 µg'ın altında AFB₁ tüketilmesi gerektiği ön görülmüştür. Bununla birlikte araştırma bulguları farklı bir açıdan

değerlendirildiğinde elde edilen bulguların sütte AFM₁ oluşumu açısından bir risk taşıdığı da söylenebilir. Örnek toplama mevsiminin yaz aylarına tekabül etmesi ve işletmede kullanılan yemlerin hayvanların mera beslemesine ek olarak verilmesi yemde tespit edilen AFB₁ düzeylerinin günlük yem tüketimindeki payının nispeten az olmasına neden olduğu ve benzeri bir araştırmanın hayvanların günlük yem tüketiminde mera beslemesinin etkisinin azaldığı ya da tamamen ortadan kalktığı periyotlarda gerçekleştirildiğinde sütte risk oluşturacak düzeyde AFM₁ tespit edilebileceği öngörülebilir.

Buna ek olarak yemlerde tespit edilen AFB₁ düzeyleri, araştırmanın gerçekleştirildiği yörede başta konsantre yemler olmak üzere yem maddelerinin hijyen ve idaresinde eksiklikler olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bağlamda işletmelerde mikotoksin riskinin azaltılabilmesi amacıyla bazı ek tedbirler alınmasının gerekliliğinden söz edilebilir. Özellikle, yem maddelerinin işletmelerde depolanması aşamasında depolanacak ürünün özellikleri ve hasar durumu, ortamın rutubet miktarı, ısı ve havalandırma gibi faktörler dikkatle ele alınmalıdır. Hasar görmüş veya fiziki bütünlüğünü yitirmiş yem maddelerinin mantar üremesi ve mikotoksin kontaminasyonu yönünden risk taşıdığı unutulmamalı, bunun yanında depolara yeni yem konulmadan önce etrafta bir önceki yemden kalan döküntü ve kalıntılar ile depo veya ambar zararlılarının leşleri temizlenmelidir. Duvarlarda bulunan yarı ve çatlaklarda birikebilecek yem maddelerinin mantar üremesine zemin oluşturulmaması amacıyla işletme duvarlarında düzenli olarak kontroller yapılmalıdır. Tarımsal ürünlerin nem içeriğinin % 13'ü geçmeyecek şekilde kurutulmaları mantar üremesi riskinin azaltılması ve depolama süresinin uzatılması adına önemli bir kriterdir. Ayrıca, yem maddelerinin depolanacakları alanın zeminine bu maddeleri toprağın neminden koruyacak örtüler serilmesi ve yağmur sularına maruz bırakılmayacak şekilde yerleştirilmeleri mantar gelişimi ve toksin üretimi riskini azaltacaktır. Diğer taraftan depoların ısı ve nem düzeyinin depolama süresince sabit tutulması, nem oranının %55-60'ı geçmemesi ve düzenli olarak havalandırılması sağlanmalıdır. Özellikle, yörenin iklimsel özellikleri nedeniyle depolama alanının nem düzeyi dikkatle izlenmeli, uzun süre depo edilecek ürünler aralıklarla havalandırılıp, soğutulmalıdır. Diğer taraftan yem çuvallarının özellikle nemli iklimlerde duvar kenarlarına geliş güzel biçimde yığılması mantar üremesine uygun ortam oluşturabilir. Bu nedenle duvar ve çuvallar arasında ve istiflenen çuval sıraları arasında bir miktar boşluk bırakılması riski azaltacak bir uygulama olacaktır.

Bitkisel yem ve gıda hammaddelerinin dünya genelindeki yoğun ticari hareketliliği göz önüne alındığında başta değişen iklim şartları, artan çevre kirliliği ve çoğu gelişmekte olan ülkelerin geleneksel ve yetersiz tarım uygulamaları nedeniyle üretilen yem maddelerindeki mikotoksin bulaşıklığı riski artmaktadır. Dünya çapında mantarların tarım ürünlerine verdikleri ekonomik zararların büyüklüğü yanında ürettikleri mikotoksinlerin insan ve hayvan sağlığı açısından oluşturduğu tehlike ekonomik boyutun da ötesinde önem taşımaktadır. Bu bağlamda mikotoksinlerin küresel yaygınlığını gösterecek bir dünya mikotoksin haritası gereksiniminden söz edilebilir. Bununla birlikte, yem ve gıda ithalatçısı konumundaki ülkemizin dünya genelinde mikotoksin desenini ve yoğunluğunu takip etmesi de oldukça önem taşımaktadır. Bu kapsamda ülkemize giren ithal ürünlere ait bir mikotoksin envanterinin çıkarılması ithal ürünlerde kendi tehdit haritamızı ortaya koyacak ve riskli ülkelerle ithalat işlemlerinde ek tedbirler alınabilmesine imkan tanıyacaktır. Ayrıca, ülkemizin kendi bünyesinde de bir mikotoksin deseni haritasına ihtiyacı olduğu açıktır. Böyle bir çalışma hem iç tüketimde sağlıklı gıda üretimi ve tüketimine hem de ihracat rakamlarının artırılmasına önemli katkı yapacaktır.

Bunlara ek olarak mikotoksinlerin sinerjetik etkisi ve maskeli mikotoksinlerin varlığı mikotoksinler tarafından oluşturulan riski daha komplike bir hale getirmektedir. Özellikle, son yıllarda maskeli mikotoksin olgusundan sıklıkla bahsedilmeye başlanmıştır. Genellikle, glikoz gibi daha polar bir substansa bağlı bu mikotoksinler rutin analiz yöntemleriyle tespit edilememekte ve ancak hidrolize olduklarında ortaya çıkmaktadırlar. Bu bağlamda rutin analiz yöntemlerinin bu yönde güncellenmesi ve bu konuda akredite laboratuvarların oluşturulması önem taşımaktadır. Ayrıca, vaka analizlerinde birden çok mikotoksin varlığının ya da mikotoksinlerle sinerjetik etki oluşturan maddelerin mevcudiyetinin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Bu kapsamda mikotoksinlerin sinerjetik ve maskeli formları dikkate alınarak analiz yöntemlerinin güncellenmesi ve bu yönde akredite laboratuvarlar, doğru tetkiklerin yapılması, mikotoksin tehditini en gerçekçi şekliyle ortaya koyulması ve doğru müdahalelerle çözümler üretilmesine imkan tanıyabilir.

7. KAYNAKLAR

1. **Adedara IA, Owumi SE, Uwaifo AO, Farombi EO.** Aflatoxin B₁ and ethanol co-exposure induces hepatic oxidative damage in mice. *Toxicol Ind Health.* **2010**, Nov;26(10):717-24.
Erişim: <http://tih.sagepub.com/content/26/10/717.full.pdf+html>. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012]
2. **Adegoke GO, Babalola AK, Akanni AO.** Effects of sodium metabisulphite, hydrogen peroxide and heat on aflatoxin B₁ in lafun and gari--two cassava products. *Nahrung.* **1991**, 35(10):1041-5.
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1800906> . Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012]
3. **Agag BI.** Mycotoxin in food and feeds 1- Aflatoksin. *Ass. Univ. Bull. Environ. Res.* **2004**, Vol. 7 No.1, March.
4. **Akkaya MR.** Sut Sıgırlarında Aflatoksin B₁ İceren Yemlerin Toksin Bağlayıcılar İle Kontrolü Ve Aflatoksin M₁ Oluşununun Saptanması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, **2011**.
5. **Aksu T, Baytok E.** “İnsan ve Hayvan Sağlığı Açısından Bitmeyen Tehlikeye Güncel Bir Yaklaşım (Yem-Gıda Maddelerinde Mitoksin Bulaşıklığı)” *Yem Magazin.* **2011**, 61: 59-64.
6. **Altınışık M.** İmmunolojik Teknikler Sunusu, **2004**.
Erişim: <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/45-uzm-03.pdf> Erişim Tarihi [17 Ağustos 2012].
7. **Amadi JE, Adeniyi DO.** Mycotoxin production by fungi isolated from stored grains. *African Journal of Biotechnology.* **2009**, Vol. 8 (7), pp. 1219-1221.
Erişim: <http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/viewFile/60075/48327> Erişim Tarihi [23 Nisan 2012].
8. **Amaya-Farfan J.** Aflatoxin B₁-induced hepatic steatosis: role of carbonyl compounds and active diols on steatogenesis. *Lancet.* **1999**, 353(9154):747-8.
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10073532>. Erişim Tarihi [17 Ağustos 2012].
9. **Anonim.** Yemlerde İstenmeyen Maddeler Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2005/3). 25718 sayılı Resmi Gazete, **2005**.
Erişim:<http://mevzuat.basbakanlik.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=9.5.6090&sourceXmlSearch=yemlerde&MevzuatIliski=0>. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
10. **Anonim.** Yem Numunesi Alma Yönetmeliği. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. Olur tarihi 14/02/1975, Olur No: 24.
11. **Anonim.** Meteorolojik Değerler Tablosu-Haziran Ayı Verileri. Hatay Meteoroloji İstasyon Müdürlüğü. **2010**.
12. **Anonim.** Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. R.Gazete: 29.12.2011, Sayı 28157.
Erişim: http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/kodeks_yonetmelik/bulasanlar_yonetmelik.html
Erişim Tarihi [01 Nisan 2012].
13. **Anonim.** European Mycotoxin Awareness Network; The Aflatoxins. **2012a**.
Erişim: www.mycotoxins.org. Erişim Tarihi [19 Nisan 2012].
14. **Anonim.** Mycotoxin formation/fungal growth. **2012b**.
Erişim: http://www.mycotoxins.info/myco_info/field_funggrwth.html Erişim Tarihi [21 Nisan 2012].
15. **Anonim.** The Aspergillus Web Site. **2012c**.
Erişim: <http://www.aspergillus.org.uk>. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
16. **Anonim.** Thin Layer Chromaography. **2012d**.
Erişim: <http://orgchem.colorado.edu/Technique/Procedures/TLC/TLC.html>. Erişim Tarihi [31 Ağustos 2012]
17. **Anonim.** ELISA. **2012e**
Erişim: <http://tr.wikipedia.org/wiki/ELISA> Erişim Tarihi [17 Ağustos 2012].
18. **Anonim.** Aflatoxins. **2012f**.
Erişim: http://www.mycotoxins.info/myco_info/science_moa.html Erişim Tarihi [06.09. 2012].
19. **Anonim.** Urea Nitrogen. Cornell University. **2012g**.
Erişim: <http://ahdc.vet.cornell.edu/clinpath/modules/chem/bun.htm> Erişim Tarihi [17 Aralık 2012]
20. **Anonim.** Total Protein and A/G Ratio. Lab Tests Online. **2012h**.
Erişim: <http://labtestsonline.org/understanding/analytes/tp/tab/test> Erişim Tarihi [17 Aralık 2012]
21. **AOAC.** AOAC Official Method 999.07. Aflatoxin B₁ and Total Aflatoxins in Peanut Butter, Pistachio Paste, Fig Paste, and Paprika Powder. Immunoaffinity Column Liquid Chromatography

- with Post-Column Derivatization First Action **1999**.
22. **AOAC**. AOAC Official Method 2003.02. Aflatoxin B1 in Cattle Feed Immunoaffinity Column Liquid Chromatography Method First Action **2003**.
 23. **Applebaum RS, Marth EH**. Responses of dairy cows to dietary aflatoxin: concentration of blood serum constituents and hormones associated with liver-kidney dysfunction and maintenance of lactation. *Europ. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1983**, 18:381-386.
 24. **Aquino S, Ferreira F, Ribeiro DHB, Correa B, Greiner R ve ark.** Evaluation of Viability of *Aspergillus flavus* and Aflatoxins Degradation in Irradiated Samples of Maize. *Brazilian Journal of Microbiology.* **2005**, 36:352-356.
Erişim: <http://www.scielo.br/pdf/bjm/v36n4/v36n4a09.pdf> Erişim Tarihi [23 Nisan 2012]
 25. **Arda M., Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M ve ark.** Mikotoksikozisler. *Özel Mikrobiyoloji; Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik Enfeksiyonlar 4. Baskı.* **1997**, Sayfa 345-357.
 26. **Ayar A, Sert D, Çon AH.** A Study on the Occurrence of Aflatoxin in Raw Milk Due to Feeds. *Journal of Food Safety.* **2007**, 27:199-207.
 27. **Aydın N.** Hayvan Sağlığında Mikotoksinler ve Mikotoksikozis. *İnfeksiyon Dergisi.* **2007**, Cilt 21 Sayfa 037-046.
Erişim: http://infeksiyon.dergisi.org/pdf/pdf_INF_220.pdf 17:30. Erişim Tarihi [20 Aralık 2009].
 28. **Ayoub MM, El-Far AH, Taha NM, Korshom MA, Mandour AA, ve ark.** The Biochemical Protective Role of Some Herbs against Aflatoxicosis in Ducklings: I. Turmeric, *Universitatea de Ştiinţe Agricole şi Medicină Veterinară Iaşi Lucrări Ştiinţifice.* **2011**, vol. 55, Seria Zootehnie.
 29. **Basmacıoğlu H, Ergül M.** Yemlerde Bulunan Toksinler ve Kontrol Yolları. *Hayvansal Üretim.* **2003**, 44(1): 9-17.
Erişim: http://www.zooteknidernegi.org/dergi/icerik/makale/2003_44_1_09-17.pdf. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
 30. **Battaccone G, Nudda A, Cannas A, Cappio Borlino A, Bomboi G, Pulina G.** Excretion of aflatoxin M₁ in milk of dairy ewes treated with different doses of aflatoxin B1. *J. Dairy Sci.* **2003**, 86: 2667-2675.
 31. **Battaccone G, Nudda A, Palomba M, Mazzette A, Pulina G.** The transfer of aflatoxin M₁ in milk of ewes fed diet naturally contaminated by aflatoxins and effect of inclusion of dried yeast culture in the diet. *J. Dairy Sci.* **2009**, 92: 4997-5004
 32. **Battaccone G, Nudda A, Palomba M, Pascale M, Nicolussi P, Pulina G.** Transfer of Aflatoxin B₁ from Feed to Milk and from Milk to Curd and Whey in Dairy Sheep Fed Artificially Contaminated Concentrates. *J. Dairy Sci.* **2005**, 88: 3063-3069.
 33. **Battaccone G, Nudda A, Rassu SP, Decandia M, Pulina G.** Excretion pattern of aflatoxin M1 in milk of goats fed a single dose of aflatoxin B₁. *J Dairy Sci.* **2012**, 5:2656-61.
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22541493> Erişim Tarihi [01 Eylül 2012]
 34. **Bennett JW, Christensen SB.** New Perspectives on Aflatoxin Biosynthesis. *Advances in Applied Microbiology.* **1983**, 29:53-92.
Erişim: [http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70354-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70354-X) Erişim Tarihi [01 Eylül 2012]
 35. **Bennett JW, Klich M.** Mycotoxins. *Clin. Microbiol. Rev.* **2003**, 16(3):497-516.
Erişim: <http://cmr.asm.org/content/16/3/497#ref-list-1>. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
 36. **Berthiller F.** Significance of Masked Mycotoxins. **2012**.
Erişim: <http://www.foodprotection.org/downloads/meetings/program-activities/programs/franz-berthiller-significance-of-masked-mycotoxins.pdf>. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
 37. **Berthiller F, Dall'Asta C, Schuhmacher R, Lemmens M, Adam G, Krska R.** Masked mycotoxins: determination of a deoxynivalenol glucoside in artificially and naturally contaminated wheat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Agric Food Chem.* **2005**, 53(9): 3421-5.
 38. **Berthiller F, Krska R, Domig KJ, Kneifel W, Juge N, Schuhmacher R, Adam G.** Hydrolytic fate of deoxynivalenol-3-glucoside during digestion. *Toxicology Letters.* **2011**, 206 (3): 264- 267
 39. **Berthiller F, O Vendl O, Crews C.** Determination Of Masked Fusarium Mycotoxins In Cereals And Cereal-Based Food. *Food Standards Agency Project Aviation House Final Report C03060 (2009).*
 40. **Bertin G, Jouany JP, Yiannikouris A.** Risk assessment of mycotoxins in ruminants and ruminant products. In : Papachristou T.G. (ed.), Parissi Z.M. (ed.), Ben Salem H. (ed.), Moran d-Fehr P. (ed.). Nutritional and foraging ecology of sheep and goats. Zaragoza : CIHEAM / FAO / NAGREF, **2009**, p. 205-224 (Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens; n.85).

- Erişim: <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/a85/00801009.pdf>. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
41. **Bingöl NT, Tanrıtanır P, Dede S, Ceylan E.** Influence Of Aflatoxin Present in Forages and Concentrated Feedingstuffs on Milk and Some Serum Biochemical Parameters in Goats. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy.* **2007**, 51(1): 65-69
 42. **Biomín.** Mycotoxin Annual Report. **2011.**
Erişim:http://www.biomín.net/fileadmin/user_upload/Magazines/MTX_Survey/index.html Erişim Tarihi [15/10/2012]
 43. **Bommakanti AS, Waliyar F.** Importance of aflatoxis in human and livestock health. **2012.**
Erişim <http://www.icrisat.org/aflatoxin/health.asp> Erişim Tarihi [01 Eylül 2012]
 44. **Braicu C, Rugina D, Chedea VS, Tudoran O, Balacescu O ve ark.** Protective action of different natural flavan-3-ols against aflatoxin b1-related cytotoxicity. *Journal of Food Biochemistry.* **2010**, 34(3):595-610.
Erişim:http://www.researchgate.net/publication/227852274_PROTECTIVE_ACTION_OF_DIFFERENT_NATURAL_FLAVAN3OLS_AGAINST_AFLATOXIN_B1RELATED_CYTOTOXICITY Y. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
 45. **Brown RW, Pier AC, Richard JL, Krogstad RE.** Effects of dietary aflatoxin on existing bacterial intramammary infections of dairy cows. *Am J Vet Res.* **1981**, 42(6): 927-33.
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7025712> Erişim Tarihi [17 Eylül 2012].
 46. **Bryden WL.** Mycotoxins in the food chain: human health implications. *Asia Pac J Clin Nutr* **2007**, 16(1): 95-101
 47. **Buchanan Jr RL, Ayres JC.** Effect of Initial pH on Aflatoxin Production. *Applied Microbiology.* **1975**, 30 (6): 1050-1051
 48. **Carrillo MC, Rodriguez JV, Monti JA, Pellegrino JM, Rodriguez Garay EA.** Impairment of bile secretion induced by aflatoxin B₁ in the rat. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* **1982**, 38(3):521-4.
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6819617>. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
 49. **Casteel SW, Rottinghaus GE, Johnson GC.** Liver disease in cattle induced by consumption of moldy hay. *Vet Hum Toxicol.* **1995**, 37: 248-251.
 50. **Çeçen A.** Ahırda ve Merada Beslenen Hayvanların Sütlerinde Aflatoksin M₁ Oluşumunun Karşılaştırılması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümü Yüksek Lisans Tezi, **2009.**
 51. **Diaz DE, Hagler Jr WM, Blackwelder JT, Eve JA, Hopkins BA ve ark.** Aflatoxin binders II: Reduction of aflatoxin M₁ in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. *Mycopathologia.* **2004**, 157:, 233–241.
 52. **DiCostanzo A, Murphy M.** Strategies for feeding mycotoxin and Issue 32 mold-contaminated grains to cattle; in Beef Cattle Management, University of Minnesota Update Extension, **1994.**
Erişim: <http://www.extension.umn.edu/issues/lateharvest/MycotoxinsAndCattle.pdf> Erişim Tarihi [23 Nisan 2012].
 53. **Dixit P, Singh S.** Prevention of Aflatoxin Contamination in Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) Seeds by Some Organic Acids. *Indian J. Sci. Res.* **2011**, 2(4): 99-101.
Erişim: http://www.ijsr.in/upload/597733902Chapter_19.pdf. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
 54. **Dvorska JE, Surai PF.,** Stimulating effect of aflatoxin B₁ on lipid peroxidation in the in vitro model systems. Cabi Publishing. Acamovic T, Stewart CS, Pennycott TW, Eds. Poisonous Plants and Related Toxins. **2004**, Chapter: 16: p. 108.
Erişim:<http://www.cabi.org/environmentalimpact/default.aspx?site=138&page=370&LoadModule=PDFHier&BookID=183&PartID=2336&ActiveTabindex=0&PageNo=0&Chapter=16&StartPageNo=108>. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
 55. **Edrington TS, Harvey RB, Kubena LF.** Effect of Aflatoxin in Growing Lambs Fed Ruminally Degradable or Escape Protein Sources. *J Anim Sci.* **1994**, 72: 1274-1281.
 56. **EFSA.** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B₁ as undesirable substance in animal feed. *The EFSA Journal.* **2004**, 39: 1-27.
 57. **Eldin AAK, Motawi TMK, Sadik NAH.** Effect of Some Natural Antioxidants on Aflatoxin B₁-Induced Hepatic Toxicity. *EXCLI Journal.* **2008**, 7:119-131
 58. **EN ISO 14501.** Milk and milk powder - Determination of aflatoxin M₁ content - Clean-up by immunoaffinity chromatography and determination by high-performance liquid chromatography, **2007.**
 59. **Ergün A, Tuncer ŞD, Çolpan İ, Yalçın S, Yıldız G ve ark.** Yemler Yem Hijyeni ve Teknolojisi.

- Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları AD. **2002**, ISBN 975-97808-0-1.
60. **EU Commission.** Amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins. Commission Regulation (EU) No 165/2010. Official Journal of the European Union. **2010**, 50: 8-12.
 61. **Failla LJ, Lynn D, Niehaus JR WG.** Correlation of Zn²⁺ Content with Aflatoxin Content of Corn. *Applied and Environmental Microbiology*, **1986**, p. 73-74
 62. **Fernandez A, Ramos JJ, Sanz MDC, Saez T, Deluco D.F.** Alterations in the performance, haematology and clinical biochemistry of growing lambs fed with aflatoxin in the diet. *J. Appl. Toxicol.* **1996**, 16: 85–91.
 63. **Fink-Gremmels J.** The role of mycotoxins in the health and performance of dairy cows. *Vet J.* **2008**, 176: 84-92.
 64. **Fink-Gremmels J.,** Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: A Review. *Food Additives & Contaminants: Part A.* **2008b**, 25 (2): 172-180.
 65. **Fremy J M, Gautier J P, Herry M P, Terrier C and Calet C.** Effects of ammoniation on the 'carry-over' of aflatoxins into bovine milk, *Food Additives & Contaminants.* **1987**, 5: 39–44.
 66. **Frisvad JC, Skouboe P, Samson RA.** Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B1, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin, *Aspergillus rambellii* sp. nov. *Syst Appl Microbiol.* **2005**, 28(5):442-53. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16094871>. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
 67. **Frobish RA, Bradley BD, Wagner DD, Long-Bradley PE and Hairston H.** Aflatoxin residues in milk of dairy cows after ingestion of naturally contaminated grain. *Journal of Food Protection.* **1986**, 49: 781–785.
 68. **Gareis M, Bauer J, Thiem J, Plank G, Grabley S, Gedek B.** Cleavage of zearalenone-glycoside, a "masked" mycotoxin, during digestion in swine. *Zentralbl Veterinarmed B.* **1990**, 37(3):236-40.
 69. **Giorni P, Battilani P, Pietri A, Magan N.** Effect of aw and CO₂ level on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production in high moisture maize post-harvest. *Int J Food Microbiol.* **2008**, 122(1-2):109-13.
 70. **Harris B, Staples CR.** The Problems of Mycotoxins in Dairy Cattle Rotations. *Department of Animal Science document DS31.* University of Florida/IFAS, Gainesville, FL 32611, **2003**.
 71. **Hazer A.** Aydın ve Denizli İllerinden Elde Edilmiş Olan Sütlerde Aflatoxin M₁ (AFM₁) Prevalansı ve Miktarının Aranması. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, **2011**.
 72. **Helferich WG, Garrett WN, Hsieh DPH and Baldwin RL.** Feedlot Performance and Tissue Residues of Cattle Consuming Diets Containing Aflatoxins. *J. Anim. Sci.* **1986**, 62:691-696
 73. **Hemmila I.** Fluoroimmunoassays and immunofluorometric assays. *Clinical Chemistry* March **1985**. 31(3) 359-370. Erişim: <http://www.clinchem.org/content/31/3/359> Erişim Tarihi [17 Ağustos 2012]
 74. **Henry SH, Whitaker T, Rabbani I, Bowers J, Park D ve ark.** Aflatoxin M₁. In: Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food; *WHO Food Additives Series 47; FAO Food and Nutrition Paper 74*; WHO: Geneva. **2001**, p.1-102.
 75. **Hussein HS, Brasel JM.** Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology.* **2001**, 167: 101–134.
 76. **IARC.** Aflatoxins Monograph. Vol:56, **1993**.
 77. **Jouany JP.** The impact of mycotoxins on performance and health of dairy cattle. Science and Technology in the Feed Industry Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium. **2001**, 191-223
 78. **Juszkiewicz T, Piskorska-Pliszczynska J.** Occurrence of mycotoxins in animal feeds. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology.* **1992**, 11: 211-215.
 79. **Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML.** Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Academic Press (5th Ed.). San Diego, CA. **1997**, p. 890-894.
 80. **Karakaya Y, Atasever M.** Mısır Silajında Aflatoxin B1 Varlığının ve Süte Geçme Durumunun Araştırılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* **2010**, 16: 123-127.
 81. **Kensler TW, Roebuck BD, Wogan GN, Groopman JD.** Aflatoxin: A 50-Year Odyssey of Mechanistic and Translational Toxicology. *Toxicol Sci.* **2011**, 120(1): S28–S48. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3043084/?tool=pmcentrez>. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
 82. **Keyl AC, Booth AN.** Aflatoxin effects in livestock. *Journal Of The American Oil Chemists' Society* **1971**, 48(10): 599-604.

- Erişim: <http://www.springerlink.com/content/u8441j50k97l4717/>. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
83. **Kiessling KH, Pettersson H, Sandholm K, Olsen M.** Metabolism of Aflatoxin, Ochratoxin, Zearalenone, and Three Trichothecenes by Intact Rumen Fluid, Rumen Protozoa, and Rumen Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. **1984**, p. 1070-1073.
84. **Knogge W.** Fungal Infection of Plants. *The Plant Cell*. **1996**, 8: 1711-1722, Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC161309/pdf/081711.pdf>. Erişim Tarihi [20 Nisan 2012].
85. **Korosteleva SN, Smith TK, Boermans HJ.** Effects of Feedborne Fusarium Mycotoxins on the Performance, Metabolism, and Immunity of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. **2007**, 90(8): 3867–3873. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17638997> Erişim 22 Nisan 2012.
86. **Kök, Z.** Aydın ili ve Çevresinde Üretilen Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin Varlığının Araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 66s. Aydın, **2006**.
87. **Krishnamachari KA, Bhat RV, Nagarajan V, Tilak TB.** Hepatitis due to aflatoxicosis. An outbreak in Western India. *Lancet*. **1975**, 10;1(7915):1061-3. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/48730>. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
88. **Lewis L, Onsongo M, Njapau H, Schurz-Rogers H, Luber G ve ark.** Aflatoxin Contamination of Commercial Maize Products during an Outbreak of Acute Aflatoxicosis in Eastern and Central Kenya. *Environ Health Perspect*. **2005**, 113: p.12. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1314917/?tool=pmcentrez>. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
89. **Li P, Zhang Q, Zhang D, Guan D, Xiaoxia ve ark.** Aflatoxin Measurement and Analysis, Aflatoxins - Detection, Measurement and Control. Dr Irineo Torres-Pacheco (Ed.), **2011**. ISBN: 978-953-307-711-6, InTech. Erişim: <http://www.intechopen.com/books/aflatoxins-detection-measurement-and-control/aflatoxin-measurement-and-analysis>. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
90. **Liu Y, Wu F.** Global Burden of Aflatoxin-Induced Hepatocellular Carcinoma: A Risk Assessment. *Environ Health Perspect*. **2010**, 118(6): 818–824. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2898859/?tool=pmcentrez>. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
91. **Lynch GP, Covey FT, Smith DF, Weinland BT.** Response of Calves to A Single Dose of Aflatoxin. *Journal of Animal Science*. 1972, 35(1): 65-68.
92. **Lynch GP, Todd C, Shalkop WT, Moore LA.** Responses of Dairy Calves to Aflatoxin-Contaminated Feed. *Journal of Dairy Science*. **1970**, 53(1): 63-71.
93. **Magan N, Hope R, Colleate A and Baxter ES.** Relationship between growth and mycotoxin production by Fusarium species, biocides and environment. *European Journal of Plant Pathology*. **2002**, 108(7):685–90.
94. **Masoero F, Gallo A, Moschini M, Piva G, Diaz D.** Carryover of aflatoxin from feed to milk in dairy cows with low or high somatic cell counts. *Animal*. (2007), 1(9): 1344–1350.
95. **McLean M, Dutton MF.** Cellular interactions and metabolism of aflatoxin: an update. *Pharmacol Ther*. **1995**, 65(2): 163-92. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7540767>. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
96. **Merck.** Fatty Liver Disease of Cattle in The Merck Veterinary Manual. Merck Sharp & Dohme Corp., a subsidiary of Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, NJ USA, **2011**. Erişim: <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/80801.htm&hide=1> Erişim Tarihi [10 Aralık 2012]
97. **Murphy P, Hendrich S, Landgren C, Bryant CM.** Food Mycotoxins: An Update. *Journal Of Food Science*. **2006**, 71(5): 51-65. Erişim: http://www.ift.org/knowledge-center/read-ift-publications/science-reports/scientific-status-summaries/~media/Knowledge%20Center/Science%20Reports/Scientific%20Status%20Summaries/mycotoxins_0606.pdf Erişim Tarihi [23 Nisan 2012].
98. **Nizamlioğlu NM, Çon AH.** Gıda ve Yemlerde Önemli Mikotoksinler: Sitrinin, Sitreoviridin ve Sterigmatosistin. *Akademik Gıda*. **2010**, 8(5): 29-36.
99. **Nunez O, Hendricks JD, Fong AT.** Inter-relationships among aflatoxin B₁ (AFB₁) metabolism, DNA-binding, cytotoxicity, and hepatocarcinogenesis in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Dis. aquat. Org*. **1990**, 9:15-23.

100. **Özer H.** Mikotoksinler, Yasal Düzenlemeler, Tanı Yöntemleri, Dünyadaki Çaişmalar, Günümüzde ve Gelecekte Mikotoksin Analizleri Semineri, İzmir, **2008**.
Erişim: http://www.google.com.tr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=web&cd=1&cad=rja&ved=0CCAQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.hemakim.com%2Ffiles%2Fsunumlar%2FHOzer_Mikotoksinler_izmir_28052008.ppt&ei=z7w_ULDaKYbj4QTVmoCACg&usg=AFQjCNGqOsKykESYXFH8Aqf3uOv-5v1qqg&sig2=QSu5nL03F2cCrrTdvUybsw. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
101. **Özkaya Ş, Temiz A.** Aflatoksinler : Kimyasal Yapıları, Toksikiteleleri ve Detoksifikasyonları. *Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi* (Elektronik Dergi) **2003**, Cilt: 01 Sayı: 01 Sayfa 1-21
Erişim: www.mikrobiyoloji.org/dokgoster.asp?dosya=702030101 Erişim Tarihi [15 Mayıs 2010]
102. **Özöğüt D.** Organik Kimya Lab. Notları; Kromatografi ile Ayırma. Eskişehir Osman Gazi Üniversitesi Kimya Bölümü, **2009**.
Erişim: <http://www.google.com.tr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=web&cd=4&cad=rja&ved=0CDMQFjAD&url=http%3A%2F%2Fwww.ogu.edu.tr%2Fimages%2Fbirimduyuru%2F20091223153619.doc&ei=NrNAUPrJNpHO4QSFuCoDQ&usg=AFQjCNEQZbN7PHeJtlmlq-MpNyusmku15Q&sig2=0w-NpEi2uc5UeGLIghofJg>. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
103. **Özsunar A.** Trakya Bölgesi'nde Üretilen inek Sütlerinde Aflatoksin M₁ Varlığı. Trakya Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 39s. Tekirdağ, **2005**.
104. **Pettersson H.** Controlling mycotoxins in animal feed. In: Mycotoxins in food, detection and control (Magan, N. and Olsen, M., eds.). **2004**, pp. 262-304. Woodhead Publishing Limited. Cambridge.
105. **Pitt JI.** Toxigenic Fungi and Mycotoxins. *British Medical Bulletin*. **2000**, 56(1): 184-192
106. **Pitt JI, Hocking AD.** Fungi and Food Spoilage. 3rd. Ed. Springer Sciences Business Media, LLC **2009**.
107. **Pitt JL.** Mycotoxin Prevention and Control in Foodgrains "An introduction to Mycotoxins" in FAO Corporate Document Repository, **1989**.
Erişim: <http://www.fao.org/docrep/x5036e/x5036E04.htm>. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
108. **Pohland AE.** Mycotoxins in review. *Food Addit Contam.* **1993**, 10(1): 17-28.
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8504870> Erişim Tarihi [23 Nisan 2012].
109. **Polat N.** Erzurum İli Süt Sığırı İşletmelerinde Alınan Kaba ve Konsantre Yem Örneklerinde Total Aflatoksin, Aflatoksin B₁ ve Okratoksin İle Sütte Aflatoksin M₁ Düzeylerinin Tespiti. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, **2012**.
110. **R-Biopharm.** R-Biopharm Rhone Ltd.Ref:A11-RP71/70N. V2, **2005**.
111. **Raila A, Steponavicius D, Railene M, Steponaviciene A, Zvicevicius E.** Investigation of physical prevention means to reduce mycological contamination of grain surface. *Ekologija*. **2006**. 3: 88-95
112. **Raisuddin S, Singh KP, Zaidi SIA, Paul BN, Ray PK.** Immunosuppressive effects of aflatoxin in growing rats. *Mycopathologia*. **1993**, 124(3): 189-194.
Erişim: <http://www.springerlink.com/content/h7625j1m7846t303/> Erişim Tarihi [17 Eylül 2012].
113. **Reagor JC.** "Implications of Mycotoxins." Advances in Equine Nutrition. Nottingham: Nottingham UP, **1998**. 535-38.
114. **Rodrigues I.** Mycotoxins in dairy cows: a menace to cows, farmers and consumers! Biomin GmbH, **2008**.
Erişim: <http://en.engormix.com/MA-dairy-cattle/health/articles/mycotoxins-dairy-cows-menace-t1114/p0.htm> Erişim Tarihi [10.12.2012]
115. **Romanelli RA, Houston CW and Barnett SM.** Studies on Thermophilic Cellulolytic Fungi. *Applied Microbiology*. **1975**, p. 276-281.
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC187167/pdf/applmicro00026-0130.pdf>
Erişim Tarihi [21 Nisan 2012].
116. **Samarajeewa U, Wei CI, Fernando SY, Ahmed EM.** Conditions necessary for inactivation of aflatoxin B₁ and loss of mutagenicity in copra meal on chlorine gas treatment. *Journal of the National Science Council of Sri Lanka*. **1991**, 19(1):25-32.
Erişim: http://dl.nsf.ac.lk/bitstream/1/6494/1/JNSF19_1_25.pdf. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
117. **Scudamore KA, Hetmanski MT, Chan HK, Collins S.** Occurrence of mycotoxins in raw ingredients used for animal feeding stuffs in the United Kingdom in 1992. *Food Addit Contam.* **1997**, 14(2):157-73.
118. **Shen HM, Shi CY, Lee HP, Ong CN.** Aflatoxin B₁-induced lipid peroxidation in rat liver. *Toxicol Appl Pharmacol*. **1994**, 127(1):145-50.

- Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8048046>. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
119. **Simion VE, Pârvu G, Potecea E, Bădic L, Pârvu M.** Alteration of some Biochemical and Haematological Parameters in the Dairy Cows Due to the Intake of Mycotoxin Contaminated Feeds. *Animal Science and Biotechnologies*. **2010**, 43 (1).
120. **Sklan D, Klipper E, Friedman A.** The Effect of Chronic Feeding of Diacetoxyscirpenol, T-2 Toxin, and Aflatoxin on Performance, Health, And Antibody Production in Chicks. **2001** *J. Appl. Poultry Res.* 10:79–85.
Erişim: <http://japr.fass.org/content/10/1/79.full.pdf> Erişim Tarihi [23 Nisan 2012].
121. **SPSS 16.0.** SPSS for Windows, Version 16.0. Chicago, SPSS Inc. 2007.
122. **Sugiyama K, Hiraoka H, Sugita-Konishi Y.** Aflatoxin M1 contamination in raw bulk milk and the presence of aflatoxin B1 in corn supplied to dairy cattle in Japan. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. **2008**, 49(5):352-5.
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19029787>. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
123. **Suphakarn VS, Newberne PM, Goldman M.** Vitamin A and aflatoxin: effect on liver and colon cancer. *Nutr Cancer*. **1983**, 5(1):41-50.
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6415617> Erişim Tarihi [17 Eylül 2012].
124. **Surai PF, Dvorska JE.** Effects of mycotoxins on antioxidant status and immunity. Diaz, DE (ed). The mycotoxin blue book **2005** pp. 93-137.
Erişim: <http://www.cabdirect.org/abstracts/20053035859.html;jsessionid=4C8158E42612BB39899BAB4FC24B5B09>. Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
125. **Swick RA.** Hepatic Metabolism and Bioactivation of Mycotoxins and Plant Toxins. *J Anim Sci*. **1984**, 58:1017-1028.
126. **Şanlı Y.** Veteriner Klinik Toksikoloji. Medipres Matbaacılık Yayıncılık Medikal Veterinerlik Hizmetleri Hayvansal Ürünler Ticaret ve Paz. Ltd. Şti. Yayını. **2002**. ISBN 975-6676-08-6
127. **Şener S, Yıldırım M.,** Veteriner Toksikoloji. Teknik Yayıncılık Akademik Eserler Serisi 001. **2000**. ISBN 975-6670-00-2
128. **Thaxton JP, Tung HT, Hamilton PB.** Immunosuppression in Chickens by Aflatoxin. *Poult. Sci.* March **1974**, 53 (2): 721-725.
Erişim: <http://ps.fass.org/content/53/2/721.abstract> Erişim Tarihi [17 Eylül 2012].
129. **Torres-Pacheco I.** Aflatoxins - Detection, Measurement and Control. Irineo Torres-Pacheco (Ed.). **2011** ISBN: 978-953-307-711-6, InTech.
Erişim: <http://www.intechopen.com/books/aflatoxins-detection-measurement-and-control/aflatoxin-measurement-and-analysis> Erişim Tarihi [01 Eylül 2012].
130. **Tran ST, Smith TK, Girgis GN.** A survey of free and conjugated deoxynivalenol in the 2008 corn crop in Ontario. *Canada.J Sci Food Agric*. **2012**, 92(1):37-41.
131. **Trenk and Hartman.** Effects of Moisture Content and Temperature on Aflatoxin Production in Corn. *Applied Microbiology*. May **1970**, 19: p.781-784
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC376788/pdf/applmicro00103-0091.pdf>
Erişim Tarihi [19 Nisan 2012].
132. **Tunail N.** Funguslar ve Mikotoksinler. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını. Sim Matbaası, **2000**, 522 s.
133. **Turgut K.** Veteriner Klinik Laboratuar Teşhis (Genişletilmiş 2. Baskı). Bahçıvanlar Basım Sanayi A.Ş. **2000**. ISBN 975-94595-1-5.
134. **TÜİK.** Dış Ticaret İstatistikleri – Coğrafi Grubu ve Fasillara Göre Dış Ticaret, **2011**.
Erişim: <http://tuikapp.tuik.gov.tr/disticaretapp/disticaret.zul?param1=5¶m2=21&sitcrev=0&isi crev=0&sayac=5809> Erişim Tarihi [20 Eylül 2012].
135. **Udom IE, Ezekiel CN, Fapohunda SO, Okoye ZSC, Kalu CA.** Incidence of Aspergillus Section Flavi and Concentration of Aflatoxin in Feed Concentrates for Cattle in Jos. *Nigeria. J Vet Adv* **2012**, 2(1): 39-46
136. **Vaid J, Dawra RK, Sharma OP, Negi SS.** Chronic aflatoxicosis in cattle. *Vet Hum Toxicol*. **1981**, 23(6):436-8.
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7336570>. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
137. **Van Egmond HP, Schothorst RC, Jonker MA.** Regulations relating to mycotoxins in food: perspectives in a global and European context. *Anal Bioanal Chem*. **2007**, 389:147-57.
138. **Van Halderen A, Green JR, Marasas WF, Thiel PG, Stockenström S.** A field outbreak of chronic aflatoxicosis in dairy calves in the western Cape Province. *J S Afr Vet Assoc*. **1989**, 60(4):210-1.

- Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2518661>. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
139. **Veldman A, Meijs JAC, Borggreve GJ, Heeres-van der Tol JJ.** Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk. *Animal Production*. **1992**, 55:163-168.
 140. **Verma RJ.** Aflatoxin Cause DNA Damage. *Int J Hum Genet*. **2004**, 4(4): 231-236.
 141. **Verma RJ, Raval PJ.** Nephrotoxicity during aflatoxicosis. *Med Sci Res*. **1997**; 25: 655-657.
 142. **Völkel I, Schröer-Merker E, Czerny CP.** The Carry-Over of Mycotoxins in Products of Animal Origin with Special Regard to Its Implications for the European Food Safety Legislation. *Food and Nutrition Sciences*, **2011**, 2:852-867.
 143. **Weidenbörner, M.** Encyclopedia of food mycotoxins. Springer Verlag, **2001**.
Erişim:<http://books.google.com.tr/books?id=T9-g289BCeYC&printsec=frontcover&hl=tr#v=onepage&q&f=false> [15 Ağustos 2012].
 144. **Wild CP, Gong YY.** Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis*. **2010**, 31(1): 71–82.
Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2802673/?tool=pmcentrez>. Erişim Tarihi [15 Temmuz 2012].
 145. **Wyatt RD, Neathery MW, Moos WH, Miller WJ, Gentry RP, Ware GO.** Effects of Dietary Aflatoxin and Zinc on Enzymes and Other Blood Constituents in Dairy Calves. *J Dairy Sci*. **1985**, 68:437-442
 146. **Yıldırım Y.** Et ve Ürünlerinin Su Aktivitesi (wa) Değerleri ve Önemi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. **1980**, Cilt: 27 Sayı: 3.4. syf.633-644.
Erişim. <http://dergiler.ankara.edu.tr/dergiler/11/571/7241.pdf> Erişim Tarihi [19 Nisan 2012]
 147. **Yiannikouris A, Jouany JP.** Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Anim. Res*. **2002**, 51: 81–99
 148. **Yunus AW, Razzazi-Fazeli E, Bohm J.** Aflatoxin B1 in Affecting Broiler's Performance, Immunity, and Gastrointestinal Tract: A Review of History and Contemporary Issues. *Toxins*. **2011**, 3:566-590.
 149. **Zain ME.** Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society*. **2011**, 15: 129–144

ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Antakya'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Hatay ili İskenderun ilçesinde tamamladı. 1994 yılında Konya Veteriner Sağlık Meslek Lisesi ve 2000 yılında Eskişehir Anadolu Üniversitesi Veteriner Sağlık Önlisans Programını bitirdi. 2001 yılında Dikey Geçiş Sınavı ile Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazanarak buradan 2006 yılında Fakülte 1.'liği derecesiyle mezun oldu. 2007 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında doktora eğitimine başladı. Halen, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Hatay İl Müdürlüğünde Veteriner Hekim olarak görev yapmaktadır.