



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE' DE BAZI İLLERDEN TOPLANAN BALIK YEMLERİNDE  
TOTAL AFLATOKSİN, AFLATOKSİN B<sub>1</sub> VE TOTAL FUMONİSİN  
KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI**

**Burak ELVAN**

**FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI (VETERİNER)  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Ebru YILDIRIM**

**II. DANIŞMAN  
Prof. Dr. Emine BAYDAN**

**2021– KIRIKKALE**



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TÜRKİYE' DE BAZI İLLERDEN TOPLANAN BALIK YEMLERİNDE  
TOTAL AFLATOKSİN, AFLATOKSİN B<sub>1</sub> VE TOTAL FUMONİSİN  
KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI**

**Burak ELVAN**

**FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI (VETERİNER)  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Ebru YILDIRIM**

**II. DANIŞMAN  
Prof. Dr. Emine BAYDAN**

**2021 – KIRIKKALE**

TÜRKİYE’ DE BAZI İLLERDEN TOPLANAN BALIK YEMLERİNDE TOTAL AFLATOKSİN, AFLATOKSİN B<sub>1</sub> VE TOTAL FUMONİSİN KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI  
Kırıkkale Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ebru YILDIRIM

Ortak Danışman: Prof. Dr. Emine BAYDAN

Temmuz 2021, 49 sayfa

Mikotoksinler yem ve yem ham maddelerinde bulunabilen, kalıntı sorunu da yaratan, tüketildiğinde insan ve hayvanlarda akut ve kronik nitelikte zehirlenme ve hatta ölüme yol açan kimyasal maddelerdir. Bu çalışmada Ankara, Antalya, Elazığ, Erzurum, Gaziantep, Giresun, İzmir, Konya, Manisa, Muğla, Sakarya, Samsun, Trabzon, Tunceli olmak üzere Türkiye’ nin 14 ilinden yem üretim fabrikası ve balık tesislerinden rastgele 2019-2021 yılları arasında toplanan 87 balık yemi numunesinde total aflatoksin (AF), AFB<sub>1</sub> ve total fumonisin kalıntısı araştırılmıştır. Yemlerin kantitatif analizinde ticari kitler kullanılmıştır. Analizleri ise mikropate okuyucu kullanarak yapılmıştır. Analiz edilen 87 yem numunesinin 86’sında (%98,85) total AF kalıntısına rastlanmıştır. Pozitif çıkan numunelerin ortalama  $\pm$ standart sapması  $8.776 \pm 4.178 \mu\text{g/kg}$  olarak bulunmuş en küçük ve en büyük değerler ise sırasıyla 1.023 ve  $17.566 \mu\text{g/kg}$  olarak saptanmıştır. Bu değerler FDA tarafından önerilen kabul edilen sınır olan  $20 \mu\text{g/kg}$  altında bulunmuştur. Bu 86 yeme AFB<sub>1</sub> yönünden yapılan analizde 6 tanesinin okunabilir değerin altında pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir. Ölçülebilir düzeyde olan yemlerin (80 adet) ortalama  $\pm$  standart sapma değeri  $4,292 \pm 2,952 \mu\text{g/kg}$  olarak bulunmuştur. En küçük düzey  $1,08 \mu\text{g/kg}$  en yüksek düzey  $17,48 \mu\text{g/kg}$  olarak ölçülmüştür. AFB<sub>1</sub> söz konusu olduğunda ise sadece toplanan yemlerin sadece yemlerin sadece 4 (%4,65)’ ünde değerler  $10 \mu\text{g/kg}$  üstünde saptanmıştır. Toplanan yemlerde  $20 \mu\text{g/kg}$  üstünde değer saptanmamıştır. Analiz edilen 86 yem numunesinin 49’unda (%56.98) total fumonisin (B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+B<sub>3</sub>) kalıntısına rastlanmıştır. Pozitif çıkan numunelerin ortalama  $\pm$ standart sapması  $0.3028 \pm 0.2584 \text{ mg/kg}$  olarak bulunmuş en küçük ve en büyük değerler ise sırasıyla  $0.0107-0.9278 \text{ mg/kg}$  olarak saptanmıştır. Bu değerler fumonisin (B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>) için önerilen kabul edilen sınır olan  $10 \text{ mg/kg}$  altındadır. Çalışmanın sonucu insan ve hayvan sağlığını korumada yardımcı bir parametre olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** AFB<sub>1</sub>, balık, kalıntı, total aflatoksin, total fumonosin, Türkiye, yem

## ABSTRACT

### THE INVESTIGATION OF TOTAL AFLATOXIN, AFLATOXIN B<sub>1</sub> AND TOTAL FUMONISIN RESIDUES IN FISH FEED COLLECTED IN SOME PROVINCES OF TURKEY

Kırıkkale University  
Graduate School of Health Sciences  
Department of Pharmacology and Toxicology, Master's Thesis  
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ebru YILDIRIM  
Co-Supervisor: Prof. Dr. Emine BAYDAN  
July 2021, 49 pages

Mycotoxins are chemical substances that can be found in feed and feed raw materials, which cause residual problem and cause acute and chronic intoxication, even death in human and animals when consumed. In this study, total aflatoxin (AF), AFB<sub>1</sub> and total fumonisin residues were investigated in 87 fish feed samples which were randomly collected from feed mills and fish facilities in 14 provinces named Ankara, Antalya, Elazığ, Erzurum, Gaziantep, Giresun, İzmir, Konya, Manisa, Muğla, Sakarya, Samsun, Trabzon, Tunceli, between the years 2019-2021 in Turkey. The quantitative analysis of the samples was carried out using commercial kits and analysed by microplate reader. Total AF residues were found in 86 (% 98.85) of 87 samples. The average value  $\pm$  standart deviation for total AF in positive samples was found as  $8.776 \pm 4.178$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  ranged from 1.023-17.566  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , and these values were less than the tolerable limit (recomended by FDA) 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . These 86 samples were analysed for the detection of AFB<sub>1</sub>, and it was determined that 6 of the 86 samples were below detectable level. The mean  $\pm$  standart deviation value of the measurable samples (80 samples) were  $4,992 \pm 2,952$   $\mu\text{g} / \text{kg}$ . The lowest level was 1.08  $\mu\text{g} / \text{kg}$ , while the highest value was 17,48  $\mu\text{g} / \text{kg}$ . In the case of AFB<sub>1</sub> values above 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  were determined in only 4 (%4,65) of the samples. No value above 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  was detected in collected feeds. Total fumonisin (B1+B2+B3) residues were found in 49 (%56.98) of 86 samples analysed. The average value  $\pm$  standart deviation for total fumonisin in positive samples was  $0.3028 \pm 0.2584$   $\text{mg}/\text{kg}$  ranged from 0.0107-0.9278  $\text{mg}/\text{kg}$ . These values were below the tolerable limit of 10 ppm for fumonisin (B1+B2). It was suggested that although mycotoxin residues were detected in the collected feeds, these values remained below the tolerable values. The result of the study will be a helpful parameter in protecting human and animal health.

**Key words: Keywords:** Aflatoxin B<sub>1</sub>, fish, feed, residue, total AF, total fumonisin, Turkey.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli danışman hocam Doç. Dr. Ebru YILDIRIM' a, ayrıca ikinci danışman hocam Prof. Dr. Emine BAYDAN'a, aldığımız eğitim aşamasında engin bilgilerini bizimle paylaşan Prof. Dr. Ender YARSAN' a, yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Hüsamettin EKİCİ'ye ve Doç. Dr. Begüm YURDAKÖK'e teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca verdikleri destek için Merve KEÇELİ, Özgür ERDOĞAN, İlker Zafer ÖREN ve Burak ÖZBEK'e teşekkür ederim. Ayrıca tüm hayatım boyunca desteklerini ve şefkatlerini üzerimden hiç eksik etmeyen aileme sonsuz teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

|   |             |
|---|-------------|
| <b>KABUL VE ONAY</b> .....                    | <b>ii</b>   |
| <b>ÖZET</b> .....                             | <b>iv</b>   |
| <b>ABSTRACT</b> .....                         | <b>v</b>    |
| <b>TEŞEKKÜR</b> .....                         | <b>vi</b>   |
| <b>İÇİNDEKİLER</b> .....                      | <b>vii</b>  |
| <b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....                | <b>viii</b> |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....                  | <b>ix</b>   |
| <b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....   | <b>x</b>    |
| <b>1. GİRİŞ</b> .....                         | <b>1</b>    |
| Balık Yemi ve Beslenmedeki Önemi .....        | <b>2</b>    |
| Mikotoksinler .....                           | <b>5</b>    |
| <b>1.3 Mikotoksikozis</b> .....               | <b>11</b>   |
| Aflatoksinler .....                           | <b>12</b>   |
| Aflatoksin B <sub>1</sub> .....               | <b>14</b>   |
| Fumonisinler .....                            | <b>17</b>   |
| Çalışmanın Amacı .....                        | <b>20</b>   |
| <b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....               | <b>21</b>   |
| Kullanılan Yem Materyali.....                 | <b>21</b>   |
| Kullanılan Cihaz ve Malzemeler .....          | <b>23</b>   |
| Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler ..... | <b>23</b>   |
| Yöntem .....                                  | <b>24</b>   |
| Total AF analizi .....                        | <b>24</b>   |
| AFB <sub>1</sub> Analizi .....                | <b>26</b>   |
| <b>2.4.3.Total Fumonisin Analizi</b> .....    | <b>27</b>   |
| Verilerin Değerlendirilmesi .....             | <b>29</b>   |
| <b>3. BULGULAR</b> .....                      | <b>31</b>   |
| <b>4. TARTIŞMA</b> .....                      | <b>35</b>   |
| <b>KAYNAKLAR</b> .....                        | <b>41</b>   |
| <b>EK- 1</b> .....                            | <b>49</b>   |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....                         | <b>49</b>   |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                     |   |    |
|---------------------|---|----|
| <b>Çizelge 1.4.</b> | Balıklarda aflatoksikozise ilişkin yapılmış önceki çalışmalar   | 17 |
| <b>Çizelge 2.1.</b> | Toplanan yem numunelerinin illere göre dağılımı   | 22 |
| <b>Çizelge 2.2.</b> | Toplanan yem tipleri  | 23 |
| <b>Çizelge 3.1.</b> | Balık yemlerindeki total AF düzeyleri ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )                                       | 31 |
| <b>Çizelge 3.2.</b> | Yavru ve ergin balık yemlerinde tespit edilen total aflatoksin kalıntılarının düzeylerine göre dağılımı | 32 |
| <b>Çizelge 3.3.</b> | Balık yemlerindeki AFB <sub>1</sub> düzeyleri ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )                               | 33 |
| <b>Çizelge 3.4.</b> | Yavru ve ergin balık yemlerinde tespit edilen AFB <sub>1</sub> kalıntılarının düzeylerine göre dağılımı | 33 |
| <b>Çizelge 3.5.</b> | Balık yemlerindeki total fumonosin düzeyleri ( $\text{mg}/\text{kg}$ )                                  | 34 |
| <b>Çizelge 3.6.</b> | Yavru ve Ergin Balık Yemlerinde tespit edilen fumonisin kalıntılarının düzeylerine göre dağılımı        | 35 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Şekil 1.1. | Aspergillus mantarı  | 5  |
| Şekil 1.2. | Başlıca 6 aflatoksin türevinin kimyasal yapısı                   | 13 |
| Şekil 1.3. | Fumonisin fraksiyonlarının kimyasal yapısı                       | 18 |
| Şekil 2.1. | Numunelerin toplandığı il ve sayıların harita üzerinde gösterimi | 22 |
| Şekil 2.2. | Numunelerin çözücü ile muamele edilmesi                          | 24 |
| Şekil 2.3. | Numunelerin gözelerden plate kabına aktarılması.                 | 25 |
| Şekil 2.4. | Plate yıkayıcıda yıkama işlemi                                   | 27 |
| Şekil 2.5. | Ekstratın filtre kağıdından geçirilerek süzütünün elde edilmesi  | 28 |
| Şekil 2.6  | Fumonisin ELISA test solüsyonları                                | 28 |



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

|                |  |
|----------------|--|
| AF             | Aflatoksin   |
| As-Aw          | Su aktivitesi  |
| FAO            | Gıda Tarım Örgütü  |
| FCR            | Yemden Yararlanma Oranı  |
| FDA            | Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi  |
| FUM            | Fumonisin  |
| IARC           | Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı   |
| mg             | Miligram   |
| mL             | Mililitre  |
| mM             | Milimolar  |
| NOAEL          | Gözlenebilen toksik etkinin olmadığı doz                                     |
| ppb            | Karışımdaki maddenin milyarda biri   |
| Ppm            | Karışımdaki maddenin milyonda biri   |
| RASSF          | Gıda ve Yem Hızlı Alarm Sistemi  |
| O <sub>2</sub> | Oksijen  |
| TÜBİTAK MAM    | Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu<br>Marmara Araştırma Merkezi |
| µg             | Mikrogram  |
| µL             | Mikrolitre   |



## 1. GİRİŞ.

Su ürünleri yetiştiriciliğinin büyüyen ve gelişen bir endüstri olması sebebiyle, balık refahı günümüzde önemli bir konu haline gelmiştir. Stres, hastalık, gibi verimi düşüren faktörlerin görülmemesi, yeterli bir büyüme ve direnç için balıklar iyi beslenmeli, ve diyet ihtiyaç kalemleri karşılanmalıdır (Oliva-Teles 2012). Balık yemi, su ürünleri endüstrisinde ana maliyet kalemlerinden en önemlisidir (Chavanne, Janssen ve Hofherr, 2016; Enyidi, Pirhonen, Kettunen ve Vielma, 2017). Büyük ticari su ürünleri türleri için uygun maliyetli yemler formüle edilebilir (Lovell, 1991). Su ürünleri yetiştiriciliği Türkiye’ de 1965-1970 yıllarında sazan üretimi ve daha sonra alabalık üretimi ile başlamıştır. Daha sonra çipura ve levrek üretimi uygulamaya konmuş ve giderek kendini geliştiren bir sektör haline gelmiştir (Emiroğlu İşgören, Tolon, Günay ve Yapıcı, 2019). Bu sektör geliştikçe sektörün ihtiyacını karşılamak için gerekli kaliteli, temiz ve ekonomik yem üretim ihtiyacı da artmıştır. Gerçekten de yetiştiricilikte iyi bir verim ve kaliteli ürün için kaliteli yeme ihtiyaç vardır. Bu da yemdeki hammaddenin seçiminden, taşıma ve depolama da dahil tüm şartların optimize edilmesiyle sağlanabilir (Kop ve Korkut, 2002).

Mikotoksinler toksik ve karsinojenik maddeler olup, birçok mantar türü tarafından üretilirler ve zirai ürünlerin üzerinde çoğalabilirler. Aflatoksinler, fumonisinler, okratoksin A, deoksinivalenol, patulin ve zearelenon gibi birçok mikotoksin türü bulunmaktadır (Whitaker, Slate ve Johansson, 2005). Mikotoksinler ilk olarak 1960’ lı yıllarda İngiltere’de hindilerde karşılaşılan toplu zehirlenme ile ciddi ve önemli bir problem olarak değerlendirilmeye başlanmıştır (Kaya, 2014). Mikotoksinler kanser oluşumunun en önemli nedenlerinden biridirler. Yem ve yem ham maddeleri ile alınması karaciğer ve böbrek hastalığına ve bağışıklık sisteminin baskılanmasına neden olan kronik nitelikli bozukluklara neden olabilir (Anater vd, 2016). Mikotoksinlerin su ürünleri yetiştiriciliğindeki önemi ilk olarak Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) kuluçhanede yetiştirilen gökkuşağı alabalıklarında (*Onchorynchus mykiss*) ortaya çıkan endemi ile ortaya çıkmıştır. Balıklarda meydana gelen ölümlerin aflatoksikozis nedenli olduğu, aflatoksikozisin kaynağının ise aflatoksinlerle kirlenmenin şekillendiği pamuk tohumu küspesinin neden olduğu

ortaya konmuştur. Daha sonra okratoksin A, deoksinivalenol, fumonosin gibi mikotoksinlerde tarif edilmiştir (Manning, 2005).

Balıkların toksin üreten mikotoksinlere maruz kalması büyüme oranlarında azalma, karaciğer hasarı, bağışıklık cevabın düşmesi, ölüm oranının artması ve yetiştirilen balık kalitesinde sürekli ve kademeli düşüslere neden olup, balık yetiştiriciliği sektörünü ciddi problemlerle karşı karşıya bırakacaktır (Marijani vd 2017). Mikotoksin kirliliğinin sonuçları insan tüketimine sunulan diğer hayvan türlerinden farklı değildir; bu nedenle hayvan yemi ve üretimi, depolanması, hayvan yemlerinin kontrolü son derece önemlidir. (Anater vd, 2016).

### **Balık Yemi ve Beslenmedeki Önemi**

2011 yılı Dünya Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) paylaştığı verilere göre dünyada sazan ailesi, kum midyesi, beyaz bacaklı karides, Nil Tilapiası, Atlantik som balığı türleri kültür balıkçılığında hem üretim hacmi hem de finansal hacim bakımından başı çekmekle beraber birçok türde kültür balıkçılığı yapılmaktadır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre Türkiye' de en çok üretilen türler; alabalık, çipura, levrek, midye, sazan balığı türleridir. (TÜİK, 2021). Günümüzde araştırmacılar tarafından çeşitli türler kültür ortamında yaşam kabiliyetlerine yönelik çalışmalarla sektöre yeni türlerin kazandırılmasına çalışılmaktadır (Yavuzcan , 2010).

Kültür balıkçılığı sektöründe toplam maliyetinin % 50-70'ini kullanılan yem maliyet oluşturmaktadır. Kullanılan yem kalitesi yumurta fertilizasyon oranı, yumurtadan çıkma ve yaşama gücü, büyüme ve yemden yararlanma oranı (FCR) performansı dolayısıyla yetiştirme süresi, et kalitesi gibi üretimin her süreci için etkili olup nihai ürün maliyetini belirler (Korkut, Karamanoğlu, Kop ve Fırat, 2015).

Balık beslemede her tür kendine özgü besin ihtiyacı, beslenme davranışı gösterir. Kültür balıkçılığında yetiştirilen türlerin %85'i karnivor beslenme özelliği gösteren türlerdir. Bu türlerin beslenmesinde hayvansal protein ve yüksek enerji ihtiyaçları karşılamak için üretilen yapay yemlerde zengin formülasyon geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Bu içerik balık unu ve yağı gibi arzı sınırlı ve yüksek enerji değerlerine

sahip pahalı yem hammaddeleriyle sağlanabilmektedir. Balık unu balık yemleri için temel bileşendir. Bazı türler için rasyonda % 60'a varan oranlarda kullanılır. 2011 yılı FAO verilerine göre dünya balık unu arzının 4 te 1'ini tek başına Peru sağlamaktadır. Bunun dışında Şili ve ABD bu ürünün başlıca ihracatçısıdır. Muhteviyatında kullanılan yem hammaddelerinin pahalı olması, kültür ortamı içerisinde suda yemin fire vermemesi için yemin konsantre halde olması gerekliliği ve kullanılan özel üretim teknolojileri nedeniyle balık yemleri maliyeti diğer hayvan yemi maliyetlerinden yüksektir (Kutlu, 2010).

Balık unu ve yağının işletme maliyetlerine yüksek girdi fiyatlarına neden olması, dünya üretiminin %60'ını sağlamasıyla bir anlamda üretimde tekelleşen Güney Amerika ülkelerinde sıklıkla görülen fırtına gibi çevresel felaketler neticesinde 1950 yılından günümüze 3 kere üretimin %90'a varan oranlarda azalması gibi ürün tedarikinde ciddi istikrarsızlıkların görülmesi araştırmacıları bu ürüne bağımlılığı azaltmak için ikame ürün arayışına itmiştir. Mezbaha artıkları hayvansal protein kaynakları, maya ve bakteri gibi tek hücre proteinleri ve yağlı tohum küspeleri ve tahıllar bitkisel protein kaynakları olarak bu rasyonlarda yerini almıştır (Bilgüven ve Can, 2018).

Balık yemlerinde protein ihtiyacı için tercih edilen bitkisel ürünler; soya, pamuk, ayçiçeği, kolza ve kanola gibi yağlı tohumlu bitkilerin küspeleri ve mısır glütenidir. Bitkisel ikame yemlerin içerdikleri antibesleyici faktörlerin ısı ile ayrıştırılması, enzim ilaveleriyle sindirilebilirliğinin artırılması ve çeşitli cezbedici yem katkı maddeleriyle karnivor türlerin yeme isteksiz davranmalarının önüne geçilmesi ve önerilen ikame kullanım oranlarının aşılmaması koşuluyla yeme eklenmesinin rasyondaki balık unu noksanlığını enerji ve protein bakımından telafi edip ekonomik fayda sağlamaktadır (Erdoğan, 2008). Mısır glütenei sindirilebilirliğinin yüksek olması nedeniyle yaygın olarak tercih edilir. Bu hammaddenin balık unu alternatifi olarak tercih edildiği yem formülasyonunda sentetik lizin takviyesi şarttır (Yeşilayer, Kaymak, Gören, ve Karslı, 2013). Mısır glüteninin hangi oranda ikame olarak kullanılabilmesine yönelik bir ölçekleme çalışmasında Japon pisi balıklarının rasyonlarına %40 oranında mısır glüteninin katılmış ve bu deney grubunun canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranının, rasyonunda %75 balık unu bulunan kontrol grubu değerleriyle istatistiki olarak eşdeğer kabul edilebileceği tespit

edilmiştir (Kikuchi, 1999). Soya küspesi, soya protein konsantresi sırasıyla %45 ve % 70 oranıyla zengin bir bitkisel protein kaynağıdır. Isıl işlem uygulamalarıyla antibesin niteliğindeki maddelerin elimine edilmesiyle balıklar için sindirilebilirliği arttırılabilmektedir. Kabuksuz ayçiçeği tohumu küspesi %40 oranındaki protein değeriyle içeriğindeki ısıl işlemle antibesin faktörlerinden arındırıldığında ve rasyonun lizin içeriği yeterli düzeye taşındığında balık unu ikamesi olarak %70'e varan oranlarda kullanılabilmektedir (Erdoğan, 2008).

Balık ve hayvan yemlerinde kalite ve kontrol üzerinde durulması gereken ve her aşaması dikkat ve itina gerektiren uygulamalar bütünüdür. Yemlerin kalitesinde ve içeriğindeki olumsuzluklar hem ekonomik kayıplara hemde sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Kop ve Korkut, 2002).

## Mikotoksinler



Şekil 1.1. Aspergillus mantarı (Anon, 1).

Mantarlar tarafından oluşturulan, düşük doz maruziyetlerde dahi toksik etki oluşturabilen ikincil metabolitlerdir.(Şekil 1.1.) Yem ve gıdalarda eser miktarlarda (mg - µg) bulunurlar. *Mikotoksin* terimi etimiyolojik tanımda Yunanca'da mantar, mantara ait anlamına gelen *myco*, Latince'de organik zehir anlamına gelen *toxicium* + *in* kelimelerinden oluşmaktadır (Şahin ve Korukoğlu, 2000). Mantarlar tarafından oluşturulan bütün ikincil metabolitler mikotoksin olarak değerlendirilemez. Yararlı fungal metabolitler antibiyotik kaynakları olarak, süt ürünleri, fırıncılık ve fermente ürünlerin üretiminde kullanılır, sadece ikincil metabolitlerinin toksik etki gösterenlerine mikotoksin denilmektedir. 1930-40' lı yıllarda antibiyotik çalışmalarında kullanılan birçok mantar türü toksik etkilerinin tespit edilmesiyle günümüzde Mikotoksin olarak kabul edilmektedir (Özkaya ve Temiz, 2003). Topal Şeminur (2003) Türkiye'nin dominant fungal florasında mikotoksin yapıcı mantarların profilini çıkarmak kapsamlı TÜBİTAK MAM' da, koruma altına alınmış toplam 1317 izolat üzerinde yapılmış 4971 mikotoksin analizinde örneklerin %32.5'inin pozitif sonuç verip toksin oluşturabilme özelliğinde olduğu , % 2.5' inin

şüpheli pozitif sonuç verdiği ve % 65'inin negatif sonuç vererek toksik özellik göstermediğini bildirmiştir (Topal Şeminur, 2003)

Mikotoksin üretebilen mantarların hepsi toprak kaynaklıdır ve yer kabuğu florasında doğal kirletici olarak yaygın halde bulunur (Oğuz, 2017). Hava olaylarının etkisiyle atmosfer katmanlarında da tespit edildiği bildirilmiştir (Girgin vd 2001). Mikotoksin oluşturuçu mantarların gelişimleri için gerekli şartlar oluştuğunda bu mantarların bulunduğu gıda, yem ve yem hammaddeleri bu toksin metabolitleri ile kirlenir (Oğuz, 2017). Bu mantar bitki, hayvan hücre yüzeyi ve / veya hücrelerinin içinde saprofit yaşam özelliği gösterirler. Bu maddeler üzerinde mantarlar sporlarıyla çoğaldıklarında ve saprofit yaşam döngülerinde gösterdikleri enzimatik ve kimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan mantar florasının neden olduğu bozulmalar gerek mikroskopik incelemede gerekse gözle görülebilir yapıda tozlu ve lifli bir yapıda görünümle küflenme adıyla tanımlanmış duruma sebebiyet verirler (Kaya, 1984).

Gıda ve yem olmak üzere yetiştirilen tarım ürünlerinin yüzde 25'i hasat döneminden tüketime kadar olan her bir süreçte mantar infestasyonuna uğramış olup aşırı miktarda mikotoksinle kirlenmiş olabilmektedir (Oruç, 2006). Bu kirlenmenin % 70' i tarlada, % 30 'u depolama işlemleri sırasında gerçekleşir. Laboratuvarlarda yapılmış yemlerde mikotoksin taraması kapsamlı analizlerde kalıntı barındıran yem oranının %25-40 düzeyinde olduğu bildirilmiştir Aynı mantar türü birden fazla çeşitte Mikotoksin üretme kabiliyetine sahip olabilir. Nem oranı % 9 ve üzeri olan yem maddeleri mantar infestasyonu için uygun yaşam şartları sağladıklarından yem üzerinde farklı mantar türlerinin istilası gerçekleşmiş olabilir. Bu haliyle mikotoksin taraması kapsamlı bir yem analizinde sadece tek çeşit mikotoksine rastlamak nadir bir durumdur (Yıldız, 2017).

Bu tarım ürünlerine invaze mantarların ölümü halinde dahi, metabolitleri dayanıklılığını koruyabilmektedir. Önemli miktardaki mikotoksinler bu tarım ürünleri nihai ürünlere dönüşürken geçirdiği işlemlerde ya da tüketim öncesi pişirmede yok edilemeden kalabilmesi nedeniyle tüketicilerine hayati tehlike arz edebilecek miktarlarda uzun süre etkinliğini sürdürebilmektedir (Ekici ve Yarsan, 2009) Bu özelliklerinin yanısıra Mikotoksin bulunan yemlerle beslenen hayvanların süt, yumurta, yağlı kas dokularında kalıntı oluşturabilmeleri taşınabilir özellikte



olduklarını gösterir. Yemde mikotoksinlerle kirlenmeye birçok faktör etki eder (Öksüztepe ve Erkan, 2016).

Yem hammaddelerinde mantarlar 15 °C çoğalmaya başlar. Çoğu mantar türünün optimal çoğalma 30 °C' de gerçekleşir. Ancak *Fusarium nivale* gibi 0 °C den 55 °C derecelere kadar bu etkinliğini geniş sıcaklık aralığında sürdürebilen mantar türleri de vardır (Kaya ve Yarsan, 1995). Mantarların gelişebilmeleri için gerekli sıcaklık ile, mikotoksin sentezledikleri sıcaklık arasında bir ilişki olmamakla birlikte, mantar türlerinin üreyebilmeleri ve mikotoksin sentezleyebilmeleri için belirli sıcaklıklara bağımlı olması, buldukları bölgenin iklim özelliklerinin belirlediği ortalama sıcaklığına bağımlı olduğu, aynı mantar türü ve mikotoksinin oluşturduğu tehlike boyutlarının, buldukları farklı iklim kuşağındaki bölgelere göre değişebildiği anlamına gelir (Kundakçı ve Ak, 1993).

Mikotoksinler tropikal ve subtropikal iklim özelliklerinin görüldüğü ülkelerde gıda ve yem için yüksek tehlike gösterir. Ülkemizde yetişen tarım mahsülleri için bulunduğu iklim özellikleri bakımından nispeten bu yükseklikte tehlike göstermese de mikotoksin kirliliğine yönelik diğer faktörler nedeniyle kritik önem arz eder. Bunun yanında tarım ürünlerinin küresel dolaşımında olması konuyu küresel ölçekli bir problem haline getirmektedir. Ülkemiz için başta soya ve mısır olmak üzere birçok tahılın arzın talebi karşılamaması ya da ekonomik fayda gözetilerek ithal edilerek farklı ülkelerden tedarik edildiği bilinmektedir (Oğuz, 2017). Bunun yanında Avrupa Birliği ülkeleri arasındaki ticarete ülkelere giriş yapacak gıda ve yemdeki olumsuzlukları raporlayan ve uygunsuz ürünleri sınırdan red eden RASSF'a (Rapid Alert System For Food and Feed, Gıda ve Yem Hızlı Alarm Sistemi) göre 2012 yılında aflatoksin nedeniyle en çok bildirim alan ülke Türkiye'dir. Bu durumun Takip eden yıllarda ihracat rakamlarına negatif etkileri gözlenmiştir (Oraman, 2014).

İklim etkisinin yanında tahıllar asgari düzeyde de olsa yaşamsal faaliyetlerini sürdürmektedir. Yapmış oldukları solunumla tahıllarda kızışma adı verilen ısı ve nem artışı gözlenir. İleriki aşamalarda tahıla kirli kahverengi görüntü veren mikroorganizma aktivitesinin etkin olduğu çürüme problemi görülür. Hatta tahıllar bu etkenlerle 70 °C sıcaklıklara ulaşır yanma adı verilen kömürleşmiş bir yapıya ulaşabilir (Sumiahadi, Mülayim ve Acar, 2020).

Tahıllar ve kuru katkı maddeleri bileşenlerinde % 12 ve altındaki oranlarda su içerirler. Yemde kullanılan tahıl danelerinin içerdiği nem miktarı mahsül kalitesinin belirleyicisidir. Dane içeriğinin su oranı %13.5 olması hasat zamanının geldiğine işaret eder. Tahıllar ve katkı maddeleri bileşenlerinde % 12 ve altındaki oranlarda su içerirler. Tarla küfleri %22-25 su içeriğine sahip tahılları, depo küfleri ise %14 ve üzeri su içeren tahılları enfekte edebilir. Bu suyun bir kısmı hiçbir biyokimyasal reaksiyona girmeyen düşük aktiviteli bağlı sudur. Reaksiyona girebilen, bağlı olmayan su ise besin maddelerinin mantarların enzimatik tepkimeleriyle yıkımlamasıyla açığa çıkar. Yem hammaddeleri üzerinde mikroorganizmaların yaşamsal faaliyetlerinde gösterecekleri tüm etkinliklerinde gerekli su miktarı; su aktivitesi olarak isimlendirilir ve aw ile gösterilir. Ürünün aw değeri üzerindeki mikroflora çeşitliliğinde önemli bir faktördür. Mikotoksin üremesi için ürünün 0,85 aw üzeri su aktivitesi göstermesi gerekir. Balık yemlerinde kullanılan tahıllar 0,60 – 0, 85 aw (su miktarı) su aktivitesi değerleriyle orta nemli; balık unu ve diğer mezbaha kaynaklı unlar 0,90 – 1,00 (aw) değerleriyle nemli özellik gösterir (Ergün vd, 2004; Kara 2010; Sert, 2011).

Mikotoksinlerin sentezinde sıcaklık ve su aktivitesi için optimal koşullar türlere özgüdür. Bu değerler: aflatoksinler için 25-30 °C, 0.99 aw; fumonisinler için 15-30°C, 0.9-0.995 AS; zealerenon için 25 °C, 0.96 aw'dir (Türkeşsiz, 2020 )

Su aktivitesine yönelik bir diğer etken hasat zamanı olan Haziran-Eylül aylarının yağışlı geçmesi ve tahılda yeniden nemlenme problemini ortaya çıkarmasıdır (Oğuz, 2017). Havadaki bağıl nem temas ettiği substratı aynı nem oranına ulaştırarak denge durumu alma eğilimindedir. Atmosferik bağıl nemin fazla olduğu durumda su buhar basıncı artarak substratın su aktivitesini yükseltir ve mikotoksin sentezi için uygun ortam oluşur (Tunail 2000). Yüzde 50 üzerindeki bağıl nem mantarlarda spor oluşumu için yeterlidir. Bağıl neme karşı fungal etkinliklerin hassasiyeti türe özgü değiştiğinden mikolojik tanımlamada tür tayini için ayırıcı tanıma önemlidir. Örneğin aflatoksin için %85 ve üzeri bağıl nem gereklidir. Bağıl nem arttıkça sentezlenen mikotoksin de artar (Ayhan, 2000).

Diener ve Davis'in yaptıkları çalışmada nispi nemin %83 ölçüldüğü deney ortamı koşullarında 84 gün boyunca bekletilen tahıllarda yapılan taramalarda AFB<sub>1</sub>+AFB<sub>2</sub> ve AFG<sub>1</sub>+AFG<sub>2</sub> tespit edilemezken, aynı yem hammaddesindenelde

edilmiş numunede nispi nemin % 85 olduğu ortamda 21. günde yapılan taramada AFB<sub>1</sub>+AFB<sub>2</sub> 1.3 µg/g ve AFG<sub>1</sub>+AFG<sub>2</sub> 1.6 µg/g ölçülmüştür. Çalışmanın devamında nispi nemin %87-92-99 olduğu deney ortamı koşullarında adı geçen toksinlerin miktarının nispi nemle beraber arttığı gözlenmiştir (Diener ve Davis, 1970).

Mantarlar aerobik mikroorganizmalar olması bakımında O<sub>2</sub>' e bağımlıdır. Ortamda %1 oranında O<sub>2</sub> olduğunda dahi küf ve mikotoksin oluşturabilir. Ortamdaki CO<sub>2</sub> yoğunluğunun %10 değerlere çıkmasıyla sayıları ve kolonileri baskılanır. Bu yoğunluk %20 olduğunda ise gelişimleri tamamen durur (Kaya ve Yarsan, 1995; Sert, 2011)

Mantarlar türlere göre çeşitlilik gösterse de pH 2 – 7.5 seviyesinde çoğalırlar Ancak bazik substratlara nazaran hafif asidik değerlerde yaşamsal faaliyetlerinde gösterdikleri biyokimyasal etkinlikleri için daha uygun ortamdır. pH değişikliklerine kolaylıkla adapte olduklarından mikotoksin kirliliği şekillenmiş gıda ve yemler tüketildiğinde mide asidi tarafından yıkımlanamaz. Ekolojik faktörlerin yanında mikotoksin oluşumuna etki eden birçok faktör de bulunmaktadır. Akar, böcek ve kemirgenler dane yapısına hasar vererek bütünlüğünü bozar. Zararlıların neden olduğu ve diğer mekanik etkilerle bütünlüğü bozulmuş danelerde mikotoksin oluşumu 5 kat fazla görülür. Gıda ve yemlerin tarlada başlayan serüveninde depolama işlemine kadar ki süreçte; kimyasal gübreleme ve ilaçlamadaki eksik uygulamalarla, doğru zamanında hasat edilmeyen mahsül, doğru ve uygun sürelerde yapılmamış kurutma, serme, işlemleri mikrofungal floranın oluşumu ve çoğalması için uygun ortam hazırlar. (Tiryaki, Seçer ve Temur, 2011)

Karma yem kullanımı, entansif yetiştiricilik uygulamalarının ortaya çıkmasıyla hayvanların besin ihtiyacını ekonomik fayda gözetilerek en zengin içerikle sağlama esasına dayanır. Üretici firmalar için doğası gereği bu yemlerin hammaddelerini en ucuz zamanlarında satın alıp, depolama stratejisi izler. Bu durum depolarda fungal mikrofloranın yaşamsal faaliyetleri için substrat zenginliği oluşturur. Bu hammaddeler katma değerli ürünler elde etmek üzere; türe, yaşa, cinsiyete, beslenme şekline, ağız morfolojisine göre değişkenlik arz eden formüllerde bir dizi fabrikasyon işleminden geçerek birbirine karıştırılır. Bu da fungal mikrofloranın sentezlediği toksinleri kaçınılmaz olarak diğer yem bileşenlerine yayar. FAO karma yemlerin %40'ının mikotoksin barındırdığını belirtmiştir (Demirel Şentürk ve Demirel, 2020).

Günümüzde tahıllar modern depolama tesislerinde genellikle çelik, sac, beton malzemeden imal edilmiş yatay ve dikey silolarda depolanmaktadır. Ancak depolamanın iklimin uygun olduğu bölgelerde açık alanlarda da yapıldığı bilinmektedir. Bu yöntemde toprak altı ve üzerinde saman, muşamba, polietilen malzemelerle dökme ve yığın halinde depolanmaktadır. Kötü şartlarda bir depolama ürün miktarında ve üründeki besin değerinde azalmayla birlikte kalite düzeyinde düşümlere neden olmaktadır. Tahıl ürünlerinde hasat ve hasat sonrası kayıplar hakkında fikir vermesi açısından; Lucia ve Assenato (1994) Güney Asya'nın geleneksel tüketiminde çok önemli bir yeri olan çeltik üzerine yaptıkları bir çalışmada ürünün tüketiciye sunulmasından önceki hasat, ambalajlama, harmandövme, kurutma, depolama, taşınma işlemlerinde tüm mahsülün %37' sine varan oranlarda miktar olarak fire verdiğini bildirmişlerdir. Uygun olmayan koşullarda depolanan tahıllarda; ısı artışıyla kızışma, embriyo kısmında kök ve yaprakçık oluşumu gözlenmesiyle çimlenme, yüksek orandaki nem ve yanlış istiflenen tanelerin birbirine yapışmasını ifade eden tutukluluk hali, çürüme ve yanma sorunlarıyla karşılaşılır (Sumiahadi vd., 2020).

Barındırdığı bu risklerle bu maddeleri depolayan gıda ve yem üretim işletmelerinde hijyene yönelik önleyici ve düzenleyici faaliyetler halk sağlığı, hayvan refahı ve ülke ekonomisinde hayati öneme sahiptir (Polat, 2012).

### 1.3 Mikotoksikozis

Mantarların hayvanlarda oluşturduğu paraziter infestasyona mikosiz, mantarların metabolitleri olan mikotoksin mazuriyetiyle şekillenen klinik tabloya ise mikotoksikozis denir. Günümüzde izole edilmiş 100 mantar türüne ait 400 farklı mikotoksin tespit edilmiştir (Nizamlioğlu ve Çon, 2010). Bunlar arasından 20-25 tanesinin insan ve hayvanlarda sıklıkla zehirlenmelere neden olduğu bilinmektedir (Kaya, 1984). Mikotoksinler tarım ürünlerinin miktar ve kalitesine verdikleri ekonomik zararların yanında, bu ürünleri tüketen hayvanlar için patojen olmalarının yanısıra hayvansal gıdalarda kalıntı bırakırlar. Bu nitelikteki ürünlerin insani tüketime sunulması konuyu halk sağlığı problemine dönüştürmektedir (Yarsan, 2012).

Mikotoksinlerin etkileri etkenin tür ve suşuna göre de farklılık göstermektedir. Gökkuşacağı alabalıklarının parenteral yolla maruz bırakıldıkları okratoksin A'nın aynı yolla maruz kalan okraoksin B' ye göre 10 kat daha toksik etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Ekici ve Yarsan, 2009).

Mikotoksikozis hayvanda maruziyet düzeyi ve süresine bağlı olarak akut, kronik ve latent (sekonder) formlarda seyreder. Akut formda mukoz membranda sarılık, kusma, ishal, iştahta azalma, vücut boşluklarında ödem, karaciğer-böbrek ve dalak deformasyonları, bağırsakta kanamalar, nörolojik anomaliler, konvülsiyon ve ölüm görülebilir (Özkaya ve Temiz, 2003). Diğer türlerden farklı olarak ratlarda intestinal tümörler, domuzlarda genital dejenerasyonlar oluşturabildiği tespit edilmiştir (Yentür ve Er, 2012).

Uzun süre, sürekli ve sub-letal dozlarda mikotoksik etkenlere maruz kalan hayvanlarda ortaya çıkan kronik ve latent karakterli formlarda yağda çözünebilen mineral ve vitaminlerin emiliminde azalma ile birlikte yemden / besinden yararlanma oranı düşer, demineralizasyon görülür. Albumin ve globulin düzeyinde azalmalar şekillenerek immunsupresif etki ortaya çıkar. Tüm bu etki mekanizmalarının yanında protein sentezinin de engellenmesiyle birlikte büyümede gerilik, canlı ağırlıkta

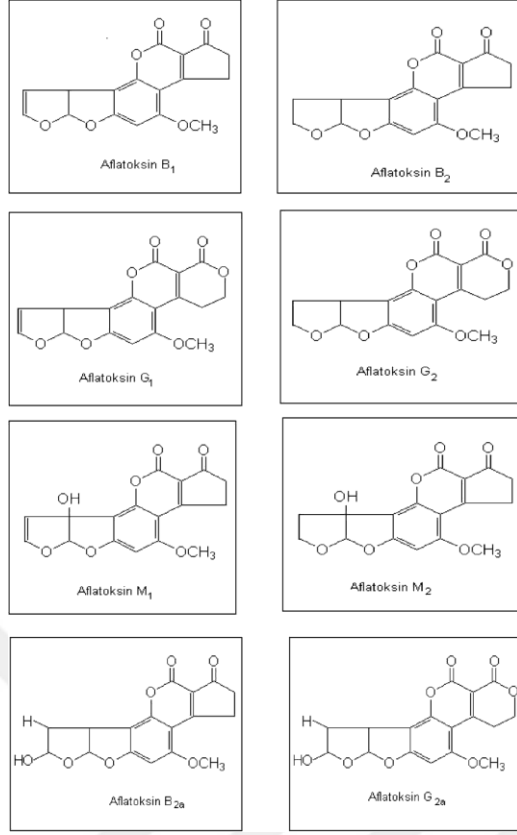
azalma şekillenir. Nekropsi bulgularında kas dokularda sararma, karaciğerin renginde açılma veya renksizleşme ve yağ birikimi gözlenir (Özkaya ve Temiz, 2003)

Mikotoksikozis etkenle maruziyet süresine, maruz kalınan miktara ve tür hassasiyetine bağlı olarak akut, kronik ve ikincil formlarıyla seyredebilir. Akut formda; hepatitis, hemoraji, nefritis, ağız ve bağırsak epitelinde nekroz, beyin ve akciğer yangısı, opistotonus, ölüm semptomları gözlenir. Kronik formda büyümede gerilik, reproduktif etkinlikte azalma, et, süt yumurta veriminde azalma gözlenir. İkincil formda ise immun sistemin baskılanması, infeksiyon duyarlılığında artış, teratojenik etkilerle karşılaşılır (Aydın 2007; Ekici ve Yarsan, 2009). Mikotoksik zehirlenmelerin sağaltımında etkili bir tedavi protokolü bilinmemektedir; bu gibi zehirlenmelerde genellikle hayvanın önündeki yemin uzaklaştırılması ve semptomatik tedavi uygulamaları yapılmaktadır (Kaya 1984, Yentür ve Er 2012). Ülkemizde Ulusal Kalıntı İzleme Programına göre gıda ve yemlerde mikotoksin kalıntısı resmi kontrol kapsamlı analizlerde Ankara, Kayseri ve Elazığ Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlükleri yetkilendirilmiştir.(Ulusal Kalıntı İzleme Planı, 2017).

### **Aflatoksinler**

Tüm dünyada yem ve gıdada bulunan mikotoksinler arasında en önemlisi aflatoksinlerdir (Yıldırım, Macun, Yalçınkaya, Kocasarı Şahindokuyucu, Ekici, 2018). Küf mantarları olan *Aspergillus parasiticus*'un tüm suşları ve *A.flavus*'un bazı suşlarının bu metabolitleri üretebilme özelliği bilinmektedir. 1987 yılında bu aflatoksin üretme özelliği gösteren iki yeni tür mantar tespit edilmiş ve *A. pseudotamarii* ve *A. nominus* isimleri ile klasifikasyonda yerini almıştır (Aktuğ ve Beklevik, 2001)

Aflatoksinlerin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> ve M<sub>2</sub> ana fraksiyonu olmakla beraber tespit edilmiş 17 farklı alt aflatoksin türevi vardır (Yaroğlu ve Gül 2007). Bu önemli 6 ana bileşimin toksik etkileri büyükten küçüğe doğru sırasıyla AFB<sub>1</sub>, M<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>2</sub> şeklindedir (Merako, 2010). (Şekil.1.2.)



Şekil 1.2. Başlıca 6 ana aflatoksin türevinin kimyasal yapısı. (Kaynak: Özkaya ve Temiz, 2003)

Total aflatoksin tanımı AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> toksinlerini kapsar. Bu mikotoksinler UV ışık altında verdikleri floresans renk özelliklerine göre gösterdikleri rengin İngilizce baş harfi kodlanarak ve toksik etkinliğini gösterecek şekilde numaralanarak adlandırılmıştır. Mavi renk gösteren AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub> den daha toksik özellik göstermektedir. Aynı şekilde yeşil renk veren AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub> den daha toksiktir. Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu'nun (International Agency for Research on Cancer; IARC) genetik, epidemiyolojik, deneysel veriler ışığında insan kanser etkenlerini listelediği gruplamaya göre aflatoksinler Grup 1 kanserojenik maddelerdir (İsmail, Riaz, Gong, Akhtar ve Sun, 2019).

## Aflatoksin B<sub>1</sub>

1993 yılında aflatoksin B<sub>1</sub>' i yeterli kanıt elde edilmiş birinci sınıf insan kanseri etkeni olarak, AFM<sub>2</sub> ise Sınıf 2B muhtemel insan kanseri grubunda tanımladığını açıklamıştır. Avrupa Birliği'nin "Gıda Maddelerinde Bazı Kontaminantların Maksimum Düzeylerini Belirleyen Komisyon Direktifi" aflatoksinlerin genotoksik etkilerinin gözlenebilir olmaması, bu etkilerin ortaya çıkışının kuşaklar arası oldukça uzun dönemi kapsaması bakımından, kabul edilebilir günlük tüketim limitlerinin tam anlamıyla belirlenmesinin mümkün olmadığını bildirmektedir (Özkaya ve Deniz, 2003). AFB<sub>1</sub> tek başına mutajenik olarak aktif değildir. Esas olarak steroidle veya ksenobiyotiklere benzer şekilde karaciğerde metabolize edilir ve aflatoksikol, aflatoksikol H<sub>1</sub> ve AFQ<sub>1</sub> gibi metabolitleri bulunmaktadır. Aflatoksinler lipofilik bileşiklerdir ve metabolizmaları 3 aşamada gerçekleşmektedir. AFB<sub>1</sub> esas olarak faz 1 metabolizmasında yer alan sitokrom P450' ye bağlı monooksijenaz (CYP) tarafından aktive edilir. AF B1-9-9-epoksid (AFBO) en toksik metabolittir. AFB<sub>1</sub>' in kanserojenik ve mutajenik etkisinin DNA gibi hücresel nükleofiller için elektrofilik ve oldukça reaktif AFBO' nun afinitesinin bir sonucu olduğu düşünülmektedir (Do ve Choi, 2007). AFB<sub>1</sub> doğal bir karaciğer kanserojenidir. Hepatit B virüsü ile kronik ile enfekte bireyler hapatosellüler karsinom riski çok daha artmaktadır. Kanama, akut karaciğer hasarı, ödem ve ölüm ile karakterize olan akut aflatoksikoz diyetle yüksek dozlarda aflatoksin bulunmasından kaynaklanabilir. 2004 ve 2005 yıllarında Kenya' da yüzlerce akut aflatoksikoz olgusu ve 125 ölüm aflatoksin ile bulaşı olmuş mısır ve mısır ürünlerinin tüketimi ile ilişkilendirilmiştir (Khlanguiset, Shephard ve Wu, 2011)

Yaygın görülen bir mikotoksin olan aflatoksinlerin balıklar arasında en duyarlı tür alabalıklardır. 1960'lı yıllarda Gökkuşuğu alabalıklarında görülen karaciğer kanserine bağlı ölümleri araştırmacılar tarafından yemlerde kullanılan pamuk tohumu küspesi ile ilişkilendirmiş ve rasyondan bu ürünü çıkararak vaka sayılarını azaltmışlardır (Aktüre, 2005).

1968 yılında hastalık etmeninin rasyonda pamuk tohumu olmadığı, pamuk tohumu küspesine kontamine olan AF B<sub>1</sub> mikotoksini olduğu tespit edilmiş ve diyetteki 1 ppm' den düşük dozlar ki mazuriyetle bu etkenin 4-6 ay içinde ölüm



oranında artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. 1 ppb miktarınca AF B<sub>1</sub> ile kirlenme gerçekleşmiş yemin gökkuşağı alabalıklarına etkisini incelediği bu çalışma aflatoksinlere alabalıkların bilinen diğer balık türlerine nispeten aşırı duyarlı olduklarını göstermektedir (Sinhuber, Wales, Ayers, Engebrecht, ve Amend, 1968).

Araştırmacılar, aflatoksinlere farklı balık türlerinin duyarlılık seviyesi ile DNA bağlanma oranları arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ileri sürmüşler. Bu kıyaslamayı saptayabilmek adına gökkuşağı alabalığı ve Coho salmonundan ekstrakte ettikleri karaciğer DNA larının üzerine yaptıkları çalışmada; gökkuşağı alabalık karaciğerinden elde edilen DNA larda anlamlı derecede daha yüksek bağlanma oranı gözlemlenmiştir. (Nakatsuru, Qin, Masahito ve Ishikawa, 1990).

Dokuz aylık 60 g ağırlığında Shasta suşu gökkuşağı alabalığında, AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> in medyan öldürücü dozlarını (ÖD<sub>50</sub>) belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, 10 günlük bir dönemde periton içi ÖD<sub>50</sub> değerleri AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub> için sırası ile 0,81 mg/kg ve 1.90 mg/kg olarak bulunmuştur. Çalışmadaki araştırmacılar oral yolla verilen aflatoksinlerin balıklar tarafından geri çıkarıldığı için pratik olarak hesaplanmadığını bildirmişlerdir (Bauer, Lee ve Sinnhuber, 1969). Kanal yayın balığına periton içi ve oral olarak 12 mg/kg verilen AFB<sub>1</sub>, 10 günlük bir periyod boyunca ÖD<sub>50</sub> değeri 11,5 mg/kg %95 güven aralığında 9,5-13.3 mg/kg olarak hesaplanmıştır. Hayvanların durumu ciddi olanların solungaçları karaciğerleri, böbrekleri, mideleri ve bağırsakları aşırı solgun bulunmuştur. Yine can çekişen hayvanların hematokritleri, hemoglobün konsantrasyonları ve eritrosit sayıları normal hayvanlarınkinin %10' u kadar bulunmuştur (Jantrarotai, Lovell, ve Grizzle, 1990).

Alabalık ÖD<sub>50</sub> değeri 0.5 mg/kg olması düşük dozların ne denli ölümcül etkili olduğunu göstermektedir. Alabalıklar akut aflatoksikozise oldukça duyarlıdır. 80 ppb düzeyinde aflatoksik kirlenmenin olduğu rasyonla beslenen alabalıkların 3-10 gün süresinde öldüğü bildirilmiştir (Merako, 2010). Yüksek doz aflatoksin ile kısa süreli maruziyetin oluşturacağı akut aflatoksikozin etkilerini balık kaslarındaki toksik kalıntılar üzerinden inceleyen bir çalışmada 50 ppb ve 100 ppb toksin içeren yemlerle 30 dakika beslenen iki grup balıktan 6 şar tanesini hemen öldürüp 48 saat içinde histopatolojik incelemeye tabi tutulmuştur. Karaciğerde solgun renk ve önemli deformasyonlar gözlemlenmiştir (Hussein, Gabal, Wilson ve Summerfelt, 1993).

Aflatoksinlerin toksik zararları karaciğer ve böbreği hedef alır. Nigethe vd 1992 yılında yaptıkları sindirim kanalı yoluyla aflatoksine maruz kalmış alabalıkların çeşitli organ ve dokularda aflatoksin konsantrasyonlarına yönelik yapmış olduğu taramada en yüksek konsantrasyonu karaciğerde tespit ederek bu durumu doğrulamıştır. Bu aflatoksinlerin karaciğer hücrelerine yüksek affinitesi olduğu ve karaciğer sindirim enzimleri ile absorbe olabilme özelliği kazanan aflatoksin türevlerinin burada yoğunlaştığı şeklinde açıklanabilir (Larsson, Ngethe, Ingebrigtsen ve Tjälve, 1992).

Mikotoksinler karsinogenik, mutajenik, teratojenik patojenilere neden olur. (Ekici, 2017). Gökkuşuğu alabalıkları, somonlar ve lepisteslerde aflatoksinlerin tümör oluşumunu uyardıkları bilinmektedir. 0.4 ppm' den daha düşük dozlarda dahi rasyonlarında bir yıldan az zamanda karaciğer kanserine neden olduğu gösterilmiştir. Sofralık balığın büyümesi ve piyasaya sunum ağırlığına ulaşmasında yani larval dönem beslemeden balığın hasat zamanına kadar olan ortalama süre alabalıkta 8 ay, çipurada 12 ay ve levrekte 20 aydır. Ekici ve Yarsan'ın belirttiği durum bu haliyle değerlendirildiğinde yetiştirilen balık ömrünün, diyetteki sub-letal dozdaki kirliliğin aflatoksikozisin karsinogen etkisini göstereceği mazuriyet süresi için yeterli olduğunu ve karşılaşılabilecek mikotoksik tehlikeyi ifade etmesi bakımından önemlidir (Ekici ve Yarsan, 2009).

Bu düzeydeki (0.4 ppm) Aflatoksin B<sub>1</sub> bulunan yemle beslenen balıklardaki hepatotoksik etkileri karaciğer parenkim hücrelerinin olağan hücre morfolojisini bozarak, görev yapamaz hale getirmesi şeklinde görülür. Bunun yanında safra kesesinde büyüme, anoreksi, yağ dejenerasyonu ve peteşiyal hemoraji belirtileri görülür (Aydın, 2007). Başka bir çalışmada rasyonda bulunan 10-20 ppm düzeyindeki aflatoksine 1-2 gün maruz kalınmasının bile hepatokarsinom oluşumunu başlatmak için yeterli olduğu gösterilmiştir (Nakatsuru vd , 1990)

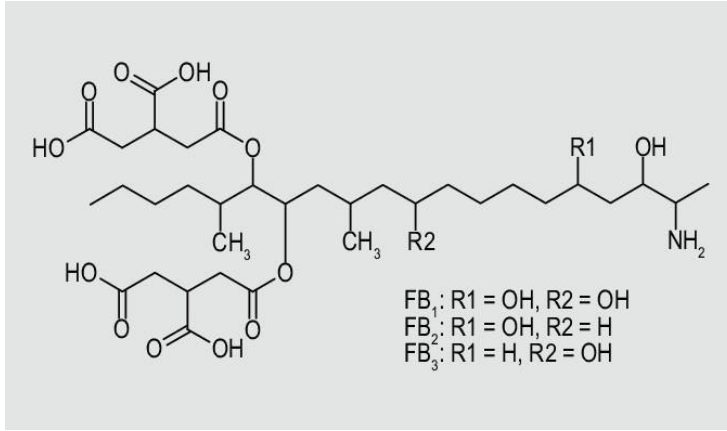
### Çizelge 1.4.1. Balıklarda aflatoksikozise ilişkin yapılan önceki çalışmalar\_

| <u>Diyetteki kirlilik</u> | <u>Maruziyet Süresi</u> | <u>Gelisen Semptomlar</u>             | <u>Kaynak</u>              |
|---------------------------|-------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| <1 ppb                    | belirtilmemiş           | Büyümede yavaşlama, İştahsızlık       | Sinhuber vd (1968)         |
| 8-20 ppb                  | 4-6 ay                  | Ölüm oranında artış                   | Sinhuber vd (1968)         |
| Belirtilmemiş             | 1 yıl                   | Hepatik tümör, Solungaçta solgun renk | Hendricks ve Barley (1989) |
|                           |                         | HCT değerinde azalma                  |                            |
| 20 ppb                    | 1 gün                   | %3 prevalansta hepatoma               | Nakatsuru vd               |
| 20 ppb                    | 5 gün                   | %12 prevalansta hepatoma              | (1990)                     |
| 20ppb                     | 10 gün                  | %10 prevelansta hepatoma              |                            |
| 20 ppb                    | 20 gün                  | %40 prevelansta hepatoma              |                            |
| 20 ppb                    | 30 gün                  | %36 prevalansta hepatoma              |                            |
| 0.4 pbb                   | 15ay                    | %14 prevalansta hepatoma              | Royes ve Yanong            |
| 20 ppb                    | 8 ay                    | %58 prevelansta hepatoma              | (2004)                     |
| 20 ppb                    | 12 ay                   | %83 prevalansta hepatoma              |                            |

Kaynak: (Aktüre, 2005)

### Fumonisinler

Fusarium (genel olarak *Fusarium verticilloides* ve *Fusarium proliferatum*) türü mantarlar tarafından üretilen mikotoksinlerden olan fumonisinler, Güney Afrika' da insanlarda ösafagus kanserinin görülmesiyle keşfedilmiştir. Oluşan kanserin nedeninin fusarium ile infekte mısırların yenmesi sonucu oluştuğu saptanmıştır (Altınok ve Dikilitaş 2011; Kaya 2014)



Şekil 1.3. Fumonisin fraksiyonlarının kimyasal yapısı (Anon, 2).

Fumonisinler 20 karbonlu propan 1,2,3 trikarboksilik asit diesteri ile primer amino grubu içeren bir pentahidroksikosan içerirler. Yapıları sfingozine benzemektedir (Yıldız ve Sert 2004). Sfinganin ve sfingozine yapısal olarak çok benzemeleri hücre membranının önemli bir bileşeni olan sfingolipidlerin biyosentezinin durmasına neden olmaktadır. Bu durum hücre ile ilgili birçok bozukluğa yol açabilir (Girgin vd. 2001). Sfingolipidler hücre membranının önemli bir yapısı olmasının yanı sıra, seramid, sfingosin ve sfingosin - 1 - fosfat gibi metabolitleri hücre büyümesi ve farklılaşması, yaşlanması ve apoptozun düzenlenmesinde yer alan biyoaktif sinyal molekülleri olarak dikkat çekmiştir (Bartke ve Hannun 2009).

Fumonisinler A, B, C ve P olmak üzere 4 ana grupta toplanmaktadır; şimdiye kadar 15 farklı fumonisin rapor edilmiştir. En sık rastlanılan fumonisin türü fumonisin B<sub>1</sub>' dir (FB<sub>1</sub>). Fumonisin B<sub>1</sub>' in neden olduğu toksik etkiler, C<sub>1</sub> atomundaki primer amin grubuna bağlanmaktadır. Bununla beraber toksisitenin altındaki hücresel mekanizmalar; oksidatif stres, apoptoz, ve sitokin ekspresyonunun değişmesidir. FB<sub>1</sub> toksisitesi hücreden hücreye ve hücrenin köken aldığı dokunu türüne göre değişebilmektedir (Stockmann-Juvala ve Savolainen 2008). Fumonisin B<sub>1</sub> nedeni ile sfingolipid metabolizasyonunun kesintiye uğraması mevcut sfingoid artışına neden olabilir ve 1- fosfatlar değişebilir. Bileşik sfingolipidler ve seramidin biyosentezi bu durumda azalır. Sfingolipidler uygun miktarda olduğunda apoptoz olayı gerçekleşir ancak fumonisinler seramid sentazın inhibisyonu ile hücre ölümünü kısıtlayabilir. FB<sub>1</sub> nedeni olduğu kanserojen etki ve apoptozun nedeni oksidatif stres

ve lipid peroksidasyon olabilir. Bu durum karaciğer ve böbrek tümörlerinin de ana nedeni olabilir (Farhadi, Nowzori ve Kachuei, 2019).

Fumonisin kalıntısının bulunduğu yemle beslenen çiftlik hayvanlarında çeşitli morfolojik, hücrel ve biyokimyasal bozukluklar oluşmaktadır. Domuzlarda, kümes hayvanlarında, gastrointestinal sistem, beyin ve akciğerlerde lezyonlar çiftlik hayvanların bağışıklık sisteminin baskılanması gibi etkiler belli başlı bilinen bulgulardır (Marin, Magan, Ramos ve Sanchis, 2004; Braun ve Wink 2018). FB<sub>1</sub> atlarda lökoensefalomalaziye, domuzlarda ise akciğer ödemeine neden olmaktadır. En ciddi toksik etki ise kanserdir. Bu yüzden *F. moniliforme* kaynaklı toksinler insanlar için Grup 2B kanserojen olarak sınıflandırılmıştır (Shier, 2000). FB<sub>1</sub> kanseri indüklemesine karşı genotoksik değildir. Maruz kalan hayvanlarda hem akut hem de kronik zehirlenmeye sebep olur. Etkilenen başlıca organlar karaciğer ve böbrektir, ancak enfeksiyonun şiddeti mantarın suşuna ve hayvanın türüne bağlıdır. Bağırsaklarda fumonisin için başlıca hedef organlardan biridir. İnsanlarda nöral tüp hasarı, karaciğer ve ösafagus kanseri, kemirgenlerde karaciğer ve nefron toksisitesine neden olmaktadır (Kamle vd. 2019). Yavru somonlarda fumonisin etkilerini araştıran Carrera Garcia (2013) 0, 1, 5, 10 ve 20 mg/kg FB<sub>1</sub> uygulaması yaptığı somonlarda büyüme performansı, yem alımı, ölüm oranları ve karaciğer histopatolojisini değerlendirmiş 10 haftalık çalışmanın sonucunda değerlendirilen parametreler arasında bir fark bulamamıştır. Başka bir çalışmada kanal yayın balığı *Ictalurus punctatus* 0,7; 2,5; 5, 10, 20, 40, 80 ve 240 mg / kg FB<sub>1</sub> sağlayan moniliforme kültürlü mısır küfünü içeren sekiz diyetle 12 hafta beslenmiş, 40 mg/kg ve üzeri FB<sub>1</sub> beslenenlerde büyüme, yem tüketimi ve yemden yararlanmada azalmalar, karaciğer glikojeninde artış, sinir liflerinde vakuolizasyonda artış; 80 ve 240 mg/kg FB<sub>1</sub> ile beslenenlerde hemotokrit değerlerde düşüş saptanmıştır (Li, Raverty ve Robinson 1994). Lumbertdacha vd (1995), 1 yaşlı kanal yayın balığına 10 hafta ve 2 yaşlı kanal yayın balığına 14 hafta boyunca 0,3, 20, 80, 320 ve 720 mg /kg FB<sub>1</sub> içerecek şekilde *Fusarium moniliforme* içeren mısır kültürünü diyetle vermiş; sonuçta 20 mg/kg' dan yüksek diyetle beslenen balıklarda FB<sub>1</sub>' in toksik olduğunu göstermişlerdir. Tuan, Manning, Lovell ve Rottinghaus (2003) Nil tilapi' ye 8 hafta boyunca 0, 10, 40, 70, ve 150 mg/kg FB<sub>1</sub> içeren diyet vermişler; 40 mg/kg veya daha yüksek FB<sub>1</sub> içeren diyetle beslenen balıkların daha düşük ortalama ağırlık kazanımı

olduğunu; hemotokrit değerlerin 150 mg/kg FB<sub>1</sub> içeren yemle beslenen balıklarda düştüğünü saptamışlardır.

Fumonisinlerin optimum üreme şartları 10 ila 30°C sıcaklık ve 0,93 aw su aktivitesi (serbest su miktarı) ile sağlanır (Marin vd 1999). Hayvan yemlerinde istenmeyen maddeler tebliğine göre total Fumonisin (FB<sub>1</sub>+FB<sub>2</sub>)' nin kabul edilebilir en çok miktarı %12 rutubet içeren yeme göre: Mısır ve mısır ürünlerinde 60 ppm, tam ve tamamlayıcı maddelerde domuzlar, tektırnaklılar, tavşanlar ve ev ve ss hayvanlarının yemlerinde 5 ppm, balık yemlerinde 10 ppm, kanatlılar, kuzular, oğlaklar ve 4 aydan küçük buzağılar yemlerinde 20 ppm, 4 aydan büyük yetişkin gevişgetiren hayvanlar ve vizon yemlerinde 50 ppm olarak belirlenmiştir (Tarım ve Orman Bakanlığı 2014)

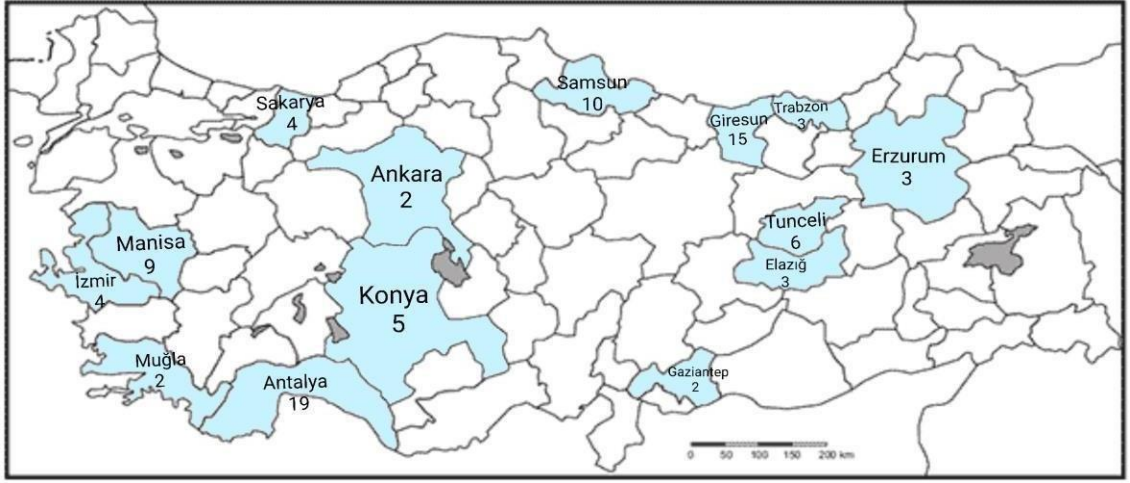
### **Çalışmanın Amacı**

Mikotoksinler karsinojenik, mutajenik, teratojenik etkileri olan hayvanlarda verimde azalma, hatta ölümle sonuçlanan durumlara neden olan, mantarların oluşturduğu toksinlerdir. Mantarlar yem ve yem hammeleri üzerinde uygun koşullarda hızla rer ve canlı organ ve sistemlerinde bozukluklara neden olur. Hayvancılıkta birçok sektör (kanatlı, büyükbaş sektörü vs) bu durumdan etkilenebilir. Balıkçılık sektörü de ülkemizde gittikçe büyüyen ve önem kazanan bir sektördür. Bu çalışmanın amacı Ankara, Antalya, Elazığ, Erzurum, Gaziantep, Giresun, İzmir, Konya, Manisa, Muğla, Sakarya, Samsun, Trabzon, Tunceli illerinden toplanan balık yemlerindeki total AF, AFB<sub>1</sub> ve total fumonisin düzeyini belirlemektir. Çalışmanın sonucu insan ve hayvan sağlığını korumada yardımcı bir parametre olacaktır.

**Kullanılan Yem Materyali**

Balık yemleri 2019-2021 yıl aralığında Ankara, Antalya, Elazığ, Erzurum, Gaziantep, Giresun, İzmir, Konya, Manisa, Muğla, Sakarya, Samsun, Trabzon, Tunceli olmak üzere 14 farklı ilden 500 g'lık numuneler halinde toplanarak 87 adet yem materyali oluşturulmuştur. Numuneler 17.12.2011 tarihli 28145 sayılı Ulusal Kalıntı İzleme Planı Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler ile Bunların Kalıntılarının İzlenmesi İçin Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik ve 21.01.2017 tarihli 29955 sayılı Yemlerin Resmi Kontrolü için Numune Alma ve Analiz Metodlarına Dair Yönetmelik ile tariflenmiş kıstaslar ve örnekleme stratejileri göz önüne alınarak toplanmıştır. (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2011, Resmi Gazete No. 28145, Tarih: 17.12.2011) , (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2017, Resmi Gazete No. 29955, Tarih: 21.01.2017) Numuneler ele geçer geçmez ultraviyole ışınların zararlarından korumak üzere mat renklerde poşetlere koyulmuştur ve analiz aşamasına gelene kadar -20 °C muhafaza edilmiştir.

Yem numuneleri Türkiye piyasasına sunulmuş ithal ve yerel menşeli toplam 13 üretim onaylı markanın balık türü ve yaşına özel formülasyonlarla çeşitlendirilmiş ürün varyantları ve bir işletmenin kendi ihtiyacı için düzenli olarak ürettiği yemlerden oluşmaktadır. Üretim Onay izin belgeli numunelerin marka, üretim tarihi, son kullanma tarihi ve parti numaraları kayıt altına alınmıştır. Toplanan yem materyali 50 çeşit alabalık, 14 çeşit çipura-levrek, 21 çeşit levrek, 2 çeşit sazan yeminden oluşmaktadır. Bu numunelerin 34 tanesi yavru balık yemi, 53 adedi ise ergin balıkların beslenilmesinde kullanılan yemdir (Çizelge 2.1.; Çizelge 2.2, Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Numunelerin toplandığı il ve sayıların harita üzerinde gösterimi

Çizelge 2.1. Toplanan yem numunelerinin illere göre dağılımı

| İller        | Örnek sayısı |
|--------------|--------------|
| ANKARA       | 2            |
| ANTALYA      | 19           |
| ELAZIĞ       | 3            |
| ERZURUM      | 3            |
| GAZİANTEP    | 2            |
| GİRESUN      | 15           |
| İZMİR        | 4            |
| KONYA        | 5            |
| MANİSA       | 9            |
| MUĞLA        | 2            |
| SAKARYA      | 4            |
| SAMSUN       | 10           |
| TRABZON      | 3            |
| TUNCELİ      | 6            |
| <b>Total</b> | <b>87</b>    |



## Çizelge 2.2. Toplanan yem tipleri

| Yem Türü                   | Örnek sayısı |
|----------------------------|--------------|
| Balık Yemi (Adult) (Ergin) | 53           |
| Büyütme/Anaç/Tam Yem       |              |
| Yavru Balık Yemi           | 34           |
| <b>Total</b>               | <b>87</b>    |

## Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Çalışmada; kırılımları belirtilmiş cihaz ve malzemeler kullanılmıştır.

- Hassas Terazı (KERN EMB 500-1 )
- Otomatik Pipetler (ExpellPlus 10 µL-200µL)
- Mikrosantrifüj tüp (Tarsons 1.5 mL)
- Distile Su Cihazı (mindray MW-12A)
- Mikroplate
- Erlen Mayer, Beher. Balon Joje
- -20°C Buzdolabı (Beko BK9610)
- Cam tüpler
- Bilgisayar, mikroplate okuyucu (BIOTEK 800 TS, USA)

## Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Metanol (EMSURE 2.5 LT)
- Distile Su
- Fumonisin Standartları (helica ) ( 6 farklı konsantrasyon : 0.0 – 2.5 -7.5-20.0-50.0-150.0 ng/m L)
- Konjugant A ( helica : Green: Streptavidin conjugated to peroxidase)
- Konjugant B ( helica : Clear/White : Biotinylated Fumonisin)

- Substrat (helica : BLUE:TMB SUBSTRATE)
- Stop solüsyonu (helica : RED)
- Yıkama solüsyonu konsantrasyonu (helica : PBS-T POWDER, 1 Liter packet Ph:7.4)
- Asetonitril (SIGMA-ALDRICH)
- Total aflatoksin Standartları ( helica ) (6 farklı konsantrasyon 0 -0.02 – 0.05 – 0.1- 0.2- 0.4)
- Aflatoxin HRP Konjugat solüsyonu (helica)

### Yöntem

Total AF analizleri HELICA Biosystems, Inc., HELICA: total aflatoxin-981AFL01LM-96, AFB<sub>1</sub> analizi Ridascreen® Aflatoxin B<sub>1</sub> 30/15 Art, No. R1211 ve Fumonisin analizi HELICA: fumonisin 951FUM01C-96 ticari kitleri kullanılarak yapılmıştır. Metotta prospektüslerde yazan prosedür takip edilmiştir.

### Total AF analizi

Numuneler kahve telvesi görünümü alana kadar porselen havanda dövülmüş ve her bir numune 2 g'lık miktarda porsiyonlanmıştır. Ekstrat çözeltisi 160 mL asetonitril ve 40 mL distile su ile % 80 lik konsantrasyonda hazırlanmıştır. Bu şekilde her 2 g numune için 200 mL %80'lik asetonitril olacak şekilde; 1:100 oranında çözelti oluşturulmuştur. (Şekil 2.2).

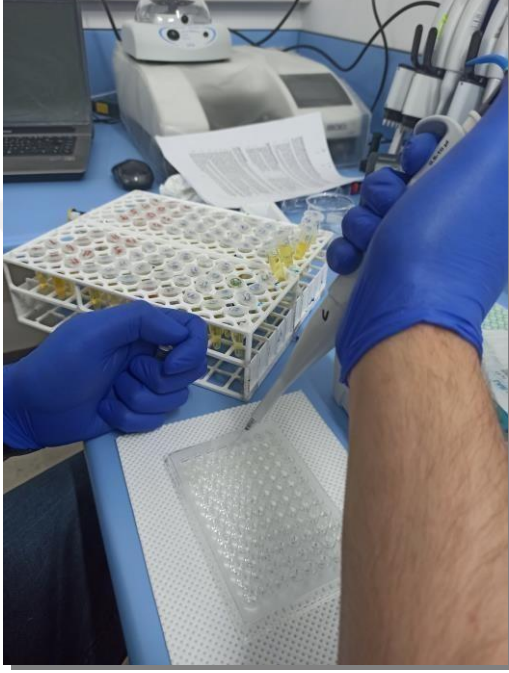


Şekil 2.2. Numunelerin çözücü ile muamele edilmesi

Çözelti 10 dk boyunca çalkalanmıştır. Ardından filtre kağıdından geçirilip elde edilen ekstrakt gözelerle aktarılmıştır.

Gözelerden mikropipet aracılığıyla 10 µL ekstrat mikrolate kabına aktarılmıştır. (Şekil 2.3.) Üzerine 90 µL distile su eklenerek mikrolate kabında 1:10 çözelti elde edilmiştir.

Son hesaplama ekstrakt 1:1000 oranında seyreltilmiştir.



**Şekil 2.3. Numunelerin gözelerden plate kabına aktarılması.**

Her bir numune için farklı pipet kullanarak 100 µL miktarında ekstrakt antikor kaplı mikrolate kuyucuklarına aktarılmış ve 30 dk oda sıcaklığında inkubasyona bırakılmıştır.

Ardından mikrolate PBS-yıkama solüsyonu ile plate yıkayıcıda 3 kere yıkanmıştır.

Her antikor kaplı kuyucuğa 100 µL aflatoxin HRP- konjugant eklenmiş ve oda sıcaklığında 30 dk inkubasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda mikrolate plate yıkayıcıda tekrar 3 kere yıkanmıştır.

Devamında her bir kuyucuğa 100 µL substrat solüsyonu eklenmiş ve 10 dk inkubasyona bırakılmıştır. Her inkubasyon süresince plate üzeri ışık geçimeyen nitelikte plastik materyal ile örtülmüştür.

İnkubasyon bitiminde her bir kuyucuğa 100 µL stop solüsyonu eklenmiştir. Mikroplate 450 nm opak dansitede okunmak üzere ELISA cihazına yerleştirilmiş, yapılan ölçüm sonrası sonuçlar kaydedilmiştir.

### **AFB<sub>1</sub> Analizi**

Balık yemi numuneleri her bir numune için etanolla yeniden yıkanan havanda dövülmüş ve 5'er gram şeklinde porsiyonlanmıştır.

Herbir numuneye erlen mayer içinde 25 mL %70 lik metonelle muamele edilmiştir.

Tüm çözeltiler 3'er dk boyunca kuvvetlice çalkalanmıştır.

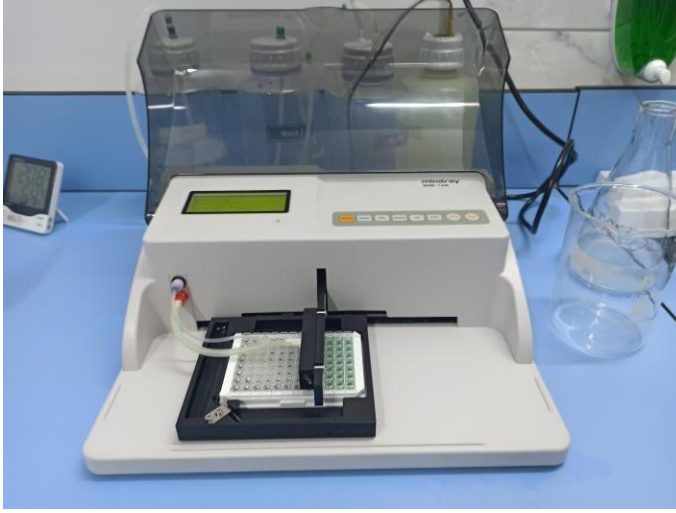
Extrat filtre kağıdından geçirilerek süzüntü elde edilmiştir.

Süzüntü her bir numune için 1 mL distile suya ve 1mL süzüntü eklenerek seyreltilmiştir.

Mikroplate kabında her bir kuyucuk için farklı pipet kullanarak ilk 6 kuyucuğa test standartları eklendiklendikten sonra seyreltilmiş süzüntüler 50 µL halinde kuyucuklara konulmuştur.

Ardından her kuyucuğa 50 µL konjugat ve 50 µL antikor eklenmiştir. Plaka elle sallanarak içeriğin iyice karışması sağlandıktan sonra oda sıcaklığında ve plaka ışığın zararlı dalga boylarından örtü ile korunarak 30 dk inkübasyon için beklenilmiştir.

Sonrasında mikoplate kabına kuvvetlice vurularak kuyucuklarında bulunan sıvı boşaltılmıştır. Emici kağıtlar ile kalan sıvı tahliye edilmiştir. Ardından yıkama tamponu ile plate yıkayıcıda 3 kere yıkanmıştır. (Şekil 2.4.)



**Şekil 2.4. Plate yıkayıcıda yıkama işlemi**

Bu işlemleri takiben her kuyucuğa 100 µL subusrat eklenmiştir. Hafifçe sallayarak karıştırılmış ve 15 dk inkübasyona bırakılmıştır.

Son olarak her bir kuyucuğa stop solüsyonu eklenerek takip eden 15 dk içinde plate ELISA cihazına koyulup 450 nanometre opak dansitede okundu. Sonuçlar kayıt altına alınmıştır.

### **2.4.3.Total Fumonisin Analizi**

Ekstraksiyon işlemi için numuneler poselen havanda ezilmiştir. Ezme işleminde örneklerin birbiriyle bulaşmasına sebebiyet vermemek için porselen dövecek kullanılmış ve her işlem sonrası sırasıyla distile su, etanol ve tekrar distile su ile yıkanıp kurulanmıştır.

Ardından numuneler hassas terazi kullanılarak 20 şer gram şeklinde porsiyonlanmıştır. Bu porsiyonlar 36 mL metanol ve 4 mL distile su ile hazırlanmış çözücü ile muamele edilmiştir. Bu haliyle çözelti 1:2 oranında oluşturulmuştur. Çözücü olarak kullandığımız %90'lık metanol etkinliğini arttırmak için oluşturulan çözelti bir miktar çalkalanmıştır. Çözücüden geçen kısım filtre kağıdı ile süzülükten sonra oluşan ekstrakt mikropipet aracılığıyla gözelerle taşınmıştır. (Şekil 2.5.)

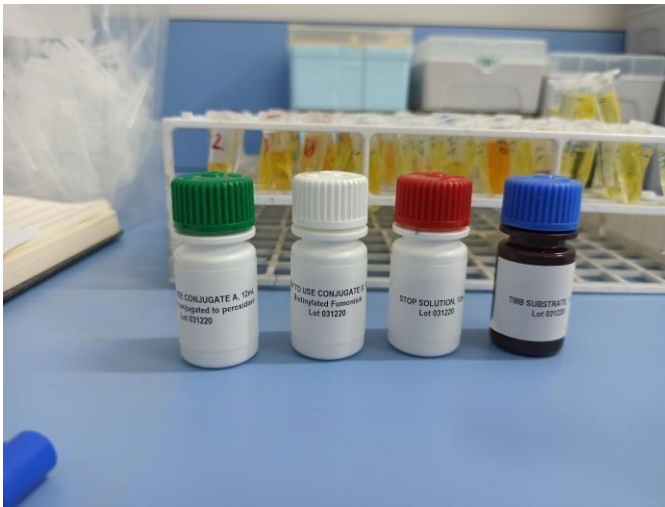


Şekil 2.5. Ekstratın filte kağıdından geçirilerek süzütünün elde edilmesi

Her bir gözeden 10  $\mu$ L ekstrakt plate kuyucuklarına aktarılmıştır. Üzerine 190  $\mu$ L distile su konularak çözelti 1:20 oranında dilue edilmiştir.

Fumonisin A Test Prosedürü uyarınca;

Yeni bir plate kabına 100 $\mu$ L Konjugat A (Green: Streptavidin conjugated to peroxidase) eklenmiştir. Üzerine 100  $\mu$ L Konjugat B (Clear/White: Biotinylated Fumonisin) koyulmuştur. Platedeki ilk 6 kuyucuğa sırasıyla 0.0 - 2.5 - 7.5- 20.0 - 50.0- 150.0 ng/mL fumonisin standartları koyulmuştur.



Şekil 2.6. Fumonisin ELISA Test Solüsyonları

Ardından plate içinde 1:20 oranında dilue edilmiş ekstrattan her bir kuyucuk için ayrı pipet kullanılarak 100 µL ekstrat 2 tip konjugat eklenmiş plate'e koyuldu.

Hazırlanan yeni plateden her bir kuyucuk için ayrı mikropipet kullanılarak 100 µL antikor kaplı plate aktarılmıştır. Oda sıcaklığında 10 dk inkübe edilmiştir.

PBS-T POWDER Ph:7.4 1L Yıkama solüsyonu hazırlandı. İnkübasyon sonrasında platewasher cihazında 5 kere yıkanmıştır.

Ardından plate kuyucuklarına mikro pipet yardımıyla 100 µL substrat (BLUE:TMB SUBSTRATE) eklenmiştir . 10 dk inkübasyon için beklenilmiştir.

Antikor-Antijen-konjugat-substrat tepkimelerini durdurmak için bir çeşit zayıf asit olan Stop solüsyonu (RED) her bir kuyucuğa 100 µL miktarında eklenmiştir.

Son olarak içerisinde ekstrat (antijen) , antikor, konjugat, substrat ve stop solüsyonu olan mikrotiter plate 450 nanometrede optik dansite ölçekli olarak okunmak üzere ELİSA cihazına yerleştirilmiştir. Standartlarla kıyaslanarak kantitatif miktar tespiti yapılmıştır.

### **Verilerin Değerlendirilmesi**

Örnekler mikrolaka okuyucuda (Biotek 800 Ts, ABD) 450 nm de okundu. İlgili firma tarafından sağlanan yazılımdan elde edilen standart eğriye göre standartlarla karşılaştırılarak nicel doğrulama yapıldı. Elde edilen veriler Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı' nın (2014) hayvan yemlerinde istenmeyen maddelere ilişkin yayınladığı toplam fumonisin (balık yemleri için 10 mg/kg) için açıklanan mevcut kabul edilebilir sınırlara göre yorumlanmıştır. (Resmi Gazete No. 28977, Tarih: 19.04.2014). Aflatoksin B<sub>1</sub> için balık yemlerinde belirlenmiş özel bir limit bulunamamıştır. Bu yüzden bulunan değerler yine Tarım ve Orman Bakanlığı' nın (2014) hayvan yemlerinde istenmeyen maddelere ilişkin tebliğde tam ve tamamlayıcı yemler için belirtilmiş üst limit ve Ulusal Kalıntı izleme Planı'nda yemlerde AF B<sub>1</sub>

için limit değeri adı altında bildirilmiş 10 µg/kg üst sınır düzeyine göre yorumlanmıştır. Total AF için ülkemizde belirlenmiş bir sınır limit yoktur. Bu sebepten dolayı total AF FDA (Food Drug Administration, 2019)'nın belirlediği tüm hayvan yemleri için önerilen 20 µg/kg göre değerlendirilmiştir. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma değerleri olarak sunuldu ve değerlerin en küçük ve en büyük değerler kaydedilmiştir.





### 3. BULGULAR

Yapılan analizler sonucunda total AF uygulanan standartlarının  $r^2$  değeri 0,985 olarak saptanmıştır. Analiz edilen 87 yemin 86 sı (%98.85) aflatoksin kalıntısına rastlanmıştır. Tüm pozitif olarak ölçülen (86 yem) yemlerin ortalama± standart sapma değeri  $8.776 \pm 4.178 \mu\text{g/kg}$ ' dir. En küçük düzey  $1.023 \mu\text{g/kg}$ , en yüksek düzey  $17.566 \mu\text{g/kg}$  olarak ölçülmüştür. Bu değerlerden hiçbiri 20 ppb değerinin üstünde bulunmamıştır. Analiz edilen 34 yavru yemlerinin hepsinde aflatoksin bulunmuştur. Bu yemlerde total AF ortalama ± standart sapma değeri  $9.697 \pm 4,276 \mu\text{g/kg}$ , en küçük miktarı  $2.388 \mu\text{g/kg}$ , en yüksek düzeyi ise  $16,709 \mu\text{g/kg}$  olarak ölçülmüştür. Ergin balık yemlerinde ise 53 yemin 52 (%98,11) inde total AF kalıntısına rastlanmıştır. Ergin balık yemlerinin ortalama ± standart sapma değeri  $8.174 \pm 4.040 \mu\text{g/kg}$ 'dir ve en küçük düzey  $1.023 \mu\text{g/kg}$ , en yüksek düzey  $17.566 \mu\text{g/kg}$  olarak ölçülmüştür (Çizelge 3.1). Yavru ve ergin balık yemlerinde tespit edilen total aflatoksin kalıntılarının miktarlarına göre dağılımı Çizelge 3.2' de sunulmuştur.

**Çizelge 3.1. Balık yemlerindeki total AF düzeyleri ( $\mu\text{g/kg}$ )**

| Yem Örneği       | Test Edile n | Pozitif n         | Belirlenebilir Düzeyde Kalıntı ( $\mu\text{g/kg}$ ) |                                     |                         |
|------------------|--------------|-------------------|---|-------------------------------------|-------------------------|
|                  |              |                   | min-max   | Ortalama±SD                         | Yasal sınırı aşan n (%) |
| Yavru balık Yemi | 34           | 34(%100)          | 2.388-16,709  | $9.697 \pm 4,276$                   | -                       |
| Ergin balık yemi | 53           | 52(%98.11)        | 1.023-17.566  | $8.174 \pm 4.040$                   | -                       |
| <b>Toplam</b>    | <b>87</b>    | <b>86(%98.85)</b> | <b>1.023-17.566</b>                                 | <b><math>8.776 \pm 4.178</math></b> | -                       |

n: örnek sayısı SD: Standart sapma. Total AF için yasal bir sınır yoktur, FDA ya göre total AF için tolere edilebilir sınır  $20 \mu\text{g/kg}$ ' dir.

**Çizelge 3.2. Yavru ve ergin balık yemlerinde tespit edilen total aflatoksin kalıntılarının miktarlarına göre dağılımı**

| Yem Örneği Test Edilen(n) | 0         | 0 < - < 5<br>ppb | 5 ≤ - < 10<br>ppb | 10 ≤ - < 15<br>ppb | 15 ≤ - < 20ppb |
|---------------------------|-----------|------------------|-------------------|--------------------|----------------|
| Yavru balık               | 34        | -                | 7                 | 13                 | 7              |
| Yemi                      |           |                  |                   |                    |                |
| Ergin balık yemi          | 53        | 1                | 11                | 29                 | 7              |
| <b>Toplam</b>             | <b>87</b> | <b>1</b>         | <b>18</b>         | <b>42</b>          | <b>14</b>      |

Total aflatoksin yönünden yapılan taramada kalıntıya rastlanılmamış bir numunenin AFB<sub>1</sub> yönünden taranmasına gerek görülmemiştir. Yapılan ölçümde kalan 86 numunenin tamamının AFB<sub>1</sub> barındırdığı tespit edilmiştir. Bunlar arasından 6 adet numunenin kalıntı düzeyi 1 µg/kg düşük olması nedeniyle taramada okunabilir değer altında sonuç vermiştir. Bu kalıntı düzeyinin sayısal verisi elde edilememiş örneklemeler ortalama ve standart sapma hesaplamalarında deneyin sonuç verilerinde yanıltıcı etkisi oluşturmaması için verilerin işlenmesinde sadece kalıntı düzeyinin net sayısal verilerle tespit edilmiş 80 adet numune değerlendirilmiştir. Bu haliyle düzeyi tespit edilebilir yemlerin ortalama± standart sapma değeri 4,292±2,952 µg/kg, dir. En küçük düzey 1,08 µg/kg, en yüksek düzey 17,48 µg/kg, olarak ölçülmüştür. Bu yemlerin 4 adedi (%4,95) 10 ppb düzeyini aşmıştır. Yavru balık yemlerinde (30 adet) ortalama± standart sapma değeri 3,58±3,164 µg/kg olarak hesaplanmıştır. Bu yemlerin en düşük kalıntı düzeyi 1,08 µg/kg iken, en yüksek değer ise 14,75 µg/kg tir. 2014 tarihli Yemlerde İstenmeyen Maddeler Tebliğinde balık yemlerini kapsayan bir sınırlamaya rastlanılmaması üzerine üst limit değeri yine aynı tebliğde belirtilen tamamlayıcı yem ve tam yemlerde sunulan sınır olan 10 µg/kg referans alınarak değerlendirmeler yapılmıştır. Yavru balık yemlerinde numunelerin 3 tanesinin (%8,82) yasal üst limit olan 10 µg/kg değerini aştığı belirlenmiştir. Ergin balık yemlerinde (50 adet) ortalama± standart sapma değeri 4,719±2,761 µg/kg,

ölçülen en yüksek kalıntı düzeyi 17,48 µg/kg, en düşük kalıntı düzeyi 1,13 µg/kg belirlenmiştir. Numunelerin 1 (%2) tanesinin yasal sınırı aştığı tespit edilmiştir. (Çizelge 3.3). Kalıntı düzeylerinin yem türlerine göre dağılımı çizelgede gösterilmiştir.(Çizelge 3.4).

**Çizelge 3.3. Balık yemlerindeki AFB<sub>1</sub> düzeyleri (µg/kg)**

| Yem Örneği       | Test Edilen<br>n | Ölçülebilir örnek<br>N (%) | Belirlenebilir Düzeyde Kalıntı (µg/kg) |                    | Yasal sınırı Aşan<br>n (%) |
|------------------|------------------|----------------------------|--|--------------------|----------------------------|
|                  |                  |                            | min-max                                | Ortalama±SD        |                            |
| Yavru balık yemi | 34               | 30(%88,24)                 | 1,08-14,75                             | 3,58±3,164         | 3 ( %8,82)                 |
| Ergin balık yemi | 52               | 50(%96,15)                 | 1,13-17,48                             | 4,719±2,761        | 1 (%2)                     |
| <b>Toplam</b>    | <b>86</b>        | <b>80(%93,02)</b>          | <b>1,08-17,48</b>                      | <b>4,292±2,952</b> | <b>4 (%4,65)</b>           |

*n*: örnek sayısı , SD: Standart sapma. Resmi Gazete No: 2014/11, 10 µg/kg (10ppb)

**Çizelge 3.4. Yavru ve ergin balık yemlerinde tespit edilen AFB<sub>1</sub> kalıntılarının düzeylerine göre dağılımı**

| Yem Örneği       | Test Edilen(n) | <1ppb    | 1 ≤ - < 5 ppb | 5 ≤ - < 10 ppb | 10 ≤ - < 15 ppb | 15 ≤ - < 20ppb |
|------------------|----------------|----------|---------------|----------------|-----------------|----------------|
| Yavru balık yemi | 34             | 4        | 27            | -              | 3               | -              |
| Ergin balık yemi | 52             | 2        | 31            | 18             | -               | 1              |
| <b>Toplam</b>    | <b>86</b>      | <b>6</b> | <b>58</b>     | <b>18</b>      | <b>3</b>        | <b>1</b>       |

Yapılan analizler sonucunda total fumonisin uygulanan standartlarının  $r^2$  değeri 0,994 olarak saptanmıştır. Analiz edilen 86 yemin 49'unda (**%56,98**) fumonisin kalıntısına rastlanmıştır. Tüm pozitif olarak ölçülen (49 yem) yemlerin ortalama± standart sapma değeri  $0.3028 \pm 0.2584$  mg/kg, en küçük düzey 0.0107 mg/kg en yüksek düzey -0.9278 olarak ölçülmüştür. Bu değerlerden hiçbiri 10 mg/kg değerinin üstünde bulunmamıştır. Analiz edilen 33 yavru yemlerinin 16 sında (%48,48) fumonisin varlığı bulunmuştur. Bu yemlerde ortalama ± standart sapma değeri  $0.3002 \pm 0.2638$  mg/kg, en küçük miktarı 0,0139, en yüksek miktarı 0.9278 mg/kg olarak ölçülmüştür. Ergin balık yemlerinde ise 53 yemin 33' ü (%62.26) inde total fumonisin kalıntısına rastlanmıştır. Ergin balık yemlerinin ortalama ± standart sapma değeri  $0.3040 \pm 0.2597$  mg/kg'dir ve en küçük düzey 0,0107 mg/kg ve en yüksek düzey 0.9134 mg/ kg olarak ölçülmüştür (Çizelge 3.5). Yem türlerine göre kalıntı düzeyi dağılımı çizelgede sunulmuştur. (Çizelge 3.6).

**Çizelge 3.5. Balık yemlerindeki total fumonosin düzeyleri (mg/kg)**

| Yem Örneği       | Test Edile<br>n | Pozitif<br>n       | Belirlenebilir Düzeyde Kalıntı Bulunan (mg/kg) |               | Yasal sınırı Aşan<br>N(%) |
|------------------|-----------------|--------------------|--|---------------|---------------------------|
|                  |                 |                    | min-max  | Ortalama±SD   |                           |
| Yavru balık yemi | 33              | 16(%48.48)         | 0,0139-0.9278                                  | 0.3002±0.2638 | -                         |
| Ergin balık yemi | 53              | 33 (%62.26)        | 0,0107-0.9134                                  | 0.3040±0.2597 | -                         |
| <b>Toplam</b>    | <b>86</b>       | <b>49 (56.98%)</b> | 0.0107-0.9278                                  | 0.3028±0.2584 | -                         |

n: örnek sayısı, SD: Standart deviation. Resmi Gazete No: 2014/11, 10 mg/kg (10ppm)

**Çizelge 3.6. Yavru ve ergin balık yemlerinde tespit edile total fumonisin kalıntılarının düzeylerine göre dağılımı**

| Yem Örneği       | Test Edilen(n) | 0         | 0< - < 0,5 ppm | 0,5 < - <1 ppm |
|------------------|----------------|-----------|----------------|----------------|
| Yavru balık      | 33             | 17        | 13             | 3              |
| Yemi             |                |           |                |                |
| Ergin balık yemi | 53             | 20        | 25             | 8              |
| <b>Toplam</b>    | <b>86</b>      | <b>37</b> | <b>38</b>      | <b>11</b>      |

#### 4. TARTIŞMA

Mikotoksinle kirlenmiş yem ve yem hammaddelerinin hayvan tarafından tüketimi büyüme geriliği, bağışıklığın gerilemesi, hastalıklara karşı direncin azalması, kronik ve akut zehirlenme ve hatta ölümle sonuçlanabilir. Bu durum hayvancılık endüstrisini küresel olarak etkiler. Mikotoksinler hayvansal üretim sistemleri için önemli bir tehdit haline gelmiştir (Santos Pereira, Cunha ve Fernandes, 2019). Mikotoksinler direk ya da indirek yollarla yem kaynağına bulaşır. Direk bulaşma küfün yem maddesinde üremesi sonucu oluşur. Hemen hemen tüm yem maddelerinde üretim, depolama ve taşıma sırasında küf üremesi meydana gelebilir (Abdel-Wahhab ve Kholif, 2008).

Hayvan yemlerinde en sık rastlanılan mikotoksin aflatoksinlerdir. Aflatoksinler *Aspergillus flavus* veya *A. parasiticus* suşları, toksin oluşumuna elverişli koşullarda ürerler. Aflatoksinler AF B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> gibi türleri bulunmaktadır (Nibbelink Stuart, 1986). Aflatoksinler temel olarak hayvanlarda karaciğer hasarına neden olmaktadır. Zehirlenme durumu hayvanı türünü, yaşına, cinsiyetine ve beslenme durumuna göre değişir. Aflatoksinler karaciğer fonksiyon bozukluğu hayvan veriminde düşme, bağışıklığın baskılanmasına neden olur. Uzun süre düşük konsantrasyonlarda aflatoksin içeren yemlerin tüketilmesi embriyoda

toksositeye neden olmaktadır. Genç hayvanlar aflatoksine daha duyarlıdır. Aflatoksikosisin klinik belirtileri sindirim bozuklukları, yem veriminin düşmesi ve anemidir (Dhanasekaran, Shanmugapriya, Nooruddin ve Panneerselvam, 2011).

Balıklarda aflatoksikoz 1960'lı yıllarda Gökkuşuğu alabalığında yüksek oranda aflatoksin içeren pamuk tohumu yağı içeren kuru peletlenmiş gıdaların kullanılmaya başlanmasından dolayı ortaya çıkmıştır. Kültürlenmiş alabalıkta yaygın hepatokarsinom oluşumundan sorumlu güçlü bir karsinogen olarak tanımlanan AF B<sub>1</sub> doğal olarak meydana gelen en güçlü hayvan kanserojenidir. 0,01 ppb kadar düşük aflatoksin seviyeleri, kısa bir süre içinde alabalıkta neoplastik değişikliklere neden olur (Royes, 2001). Aflatoksinin etkisini deneysel olarak değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada Nil tilapia *Oreochromis niloticus* lara 6 veya 12 hafta boyunca 20 veya 100 ppb AFB<sub>1</sub> bulunan yem verilmiş; 100 ppb AFB<sub>1</sub>' in *O. niloticus* ağırlık kazancı, yem verimliliği, hemotolojik profili ve karaciğer histopatolojisini olumsuz yönde etkilediği ortaya konmuştur. Balıkların hastalıklara karşı direncinde düşme olabileceği gösterilmiştir (Mahfouz ve Sherif, 2015). Başka bir deneysel çalışmada *Dicentrarchus labrax L* (levrek balığı) ' a AFB<sub>1</sub> in oral ÖD<sub>50</sub> (96 saat ÖD<sub>50</sub>) değeri olan 0,18 mg/kg verilmiş ve anormal davranış ve zehirlenme belirtileri gözlemlenmiştir. 42 gün boyunca uygulanan 0,018 mg/kg AFB<sub>1</sub> serum transaminazlarda ve alkalın fosfataz aktivitelerinde artış, plazma proteinlerinde düşmeye neden olmuştur. Araştırmacılar balık kaslarında yüksek seviyede (5ppb) AFB<sub>1</sub> kalıntısı saptamış, bu durumun insan sağlığını olumsuz etkileyebileceği düşünülmüştür (El Sayed ve Khalid, 2009).

Yaroğlu ve Gül (2007) Erzurum ilinde topladıkları yavru alabalık yemlerinde aflatoksin düzeylerini araştırmışlar ve 24 adet numune de AFB<sub>1</sub> kalıntısının kabul edilebilir düzeyde olduğunu belirtmişlerdir. Altuğ ve Beklevik (2003) 1998-2000 yılları arasında topladıkları 85 adet balık yeminden 20 tanesinde 20 ppb ila 42,4 ppb aralığında toplam AF kalıntısı, 20 ppb'nin üzerinde total AF tespit edilen örneklerde ise 18,4 ppb – 36,3 ppb arası AFB<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. Altuğ ve Beklevik' in bulgularının aksine sunulan tez çalışmasında balık yemlerinin hiçbirinde total AF değerleri 20 ppb değerini aşmamıştır. Kaymak (2000) Türkiye'deki balık yemi üreten yem fabrikalarından alınan alabalık yemleri aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> düzeylerini immünoaffinitite kolon yöntemiyle (IAK) yüksek performanslı sıvı kromatografisi

(HPLC) yöntemiyle analiz etmiştir. Analiz sonucu 59 yem örneğinin 29' unda 0,48-3,46 ppb düzeylerinde toplam AF ( $B_1 + B_2 + G_1 + G_2$ ) kalıntıları bulmuştur. Bu düzeyler yasal sınırı aşmamaktadır. Sunulan çalışmasında da 87 yemin 86' sında total AF kalıntısına rastlanmıştır; ancak diğer çalışmalarla uyumlu olarak saptanan düzeyler 20 ppb düzeyini altında bulunmuştur. Aktüre (2005) Adana ve ilçelerinden toplanan 33 adet balık yem örneğinde Aflatoksin  $B_1$  ve toplam AF ( $B_1 + B_2 + G_1 + G_2$ ) düzeylerini araştırmış. 8 örnekte Aflatoksin  $B_1$  bulunmasına rağmen yemlerinin hiçbirisi yasal sınırı aşmamıştır. Bintvihok vd (2003) Tayland' ın doğu ve güney bölgelerinden 150 karides yeminde yaptıkları araştırmada en yüksek 0,651 ppb düzeyinde  $AFB_1$  varlığı tespit etmişlerdir. Gonçalves-Nunes (2015) vd, Brezilya Piauí ilindeki balık çiftliklerine yönelik ham madde ve yem numunelerinde *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* türü mantarların kontaminasyonunu ve  $AFB_1$ ' in kalıntı düzeyini belirlemek amacıyla yaptıkları araştırmada, *Aspergillus flavus* ve *Penicillium citrinum* tüm örneklerden yüksek nispi yoğunlukta izole etmişlerdir.  $AFB_1$  ELİSA yöntemi ile belirlenmiş, tüm numunelerde  $AFB_1$  çıkmasına rağmen düzeyi önerilen sınırın (20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) altında bulunmuştur. Sunulan tez çalışmasında bulunan  $AFB_1$  kalıntısına rastlansa da bu değerler 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  değerinin altında bulunmuş toplanan yemlerin sadece 4 (%4,65)' ünde ise değerler 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  üstünde saptanmıştır. Barbosa vd (2013) Rio de Janeiro' dan topladıkları 60 balık yemi numunesinin %55' inde  $AFB_1$  kalıntısı bulmuşlardır. Ancak bu kalıntılar ELİSA ile ölçülebilen sınırın altında kalmıştır. Marijani vd (2017) Doğu Afrika' da topladıkları balık yemi numunelerinin %64,3' ünde aflatoksin kalıntısına rastlamışlardır. Araştırmacılar  $AFB_1$  düzeyini 2-806  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,  $AFB_2$  düzeyini ise 2-74,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  düzeyinde bulmuşlardır. Alinezdah vd (2011), alabalık yeminin ve bu yemin içindeki yem ham maddelerin HPLC ile analizlerini yapmış ve pelet yem ve gluten dışında test edilen tüm bileşenlerin 1,83-67,35  $\mu\text{g}/\text{kg}$  aralığında farklı seviyelerde  $AFB_1$  ile kirlenme düzeyinde olduklarını göstermişlerdir. Soya fasülyesi, balık unu ve buğdayda  $AFB_1$  düzeyleri yasal sınırın üstünde bulunmuştur. Portekiz' de toplanan 87 levrek yeminde  $AFB_1$  düzeylerine HPLC ile bakılmış ve yemlerde aflatoksin kalıntısına rastlanmamıştır (Almeida vd 2011).

Fumonisin B<sub>1</sub> en zehirli fumonisindir. *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proleferatum* ve *Fusarium nygamai* tarafından sentezlenir. Fumonisin kalıntı problemi en çok mısır ve yan ürünlerinde meydana gelir. Yıldırım, Manning, Lovell, Grizzle ve Rottinghaus (2007), kanal yayın balıklarına 10 hafta boyunca 20 ve 40 mg/kg FB<sub>1</sub> uygulamışlar ve 20 mg/kg da yemden balıkların ağırlık kazancında düşüşler tespit edilmiştir. 40 mg/kg FB<sub>1</sub> balıklarda hemotokrit değeri düşürmüştür. Fumonisin B<sub>1</sub> karaciğerde serbest sfingonin serbest sfingozine oranında artışa neden olmuştur.

Balıklar için yemlerde fumonisin düzeyi 10 mg/kg aşmamalıdır (Oliveira vd 2020). Barbosa vd (2013) Rio de Janeiro 'dan topladıkları 60 balık yemi numunesinin %90' ında FB<sub>1</sub> kalıntısı bulmuşlardır. Bu kalıntılar 0,3-4,94 µg/g arasında olup medyum düzeyi 2,6 µg/g olarak bulunmuştur. Marijani vd (2017) araştırmalarında balık yemlerinin %57,1' inde 33,2-3970 µg/kg arası fumonisin kalıntısı saptamışlardır. Sunulan tez çalışmasında analizi yapılan 86 yem numunesinin 49'unda (%56,98) fumonisin kalıntısı saptanmış bulunan düzeyler limit değerin (10mg/kg) çok altında bulunmuştur (en küçük değer 0.0107 mg/kg, en yüksek değer 0.9278 mg/kg).



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mikotoksinlerle kirlenmiş yem ve yem hammaddelerinin hayvanlar tarafından tüketimi hem hayvan sağlığına hem de bunları tüketen insan sağlığına zarar verebilir. Sunulan tez çalışmasında analiz edilen yemlerde total aflatoksin ve total fumonisin kalıntısına rastlansa da bulunan değerler kabul edilebilen sınırların (total AF için 20 µg/kg, total fumonisin için 10 mg/kg) altında kalmıştır. AFB<sub>1</sub> söz konusu olduğunda ise sadece toplanan yemlerin sadece yemlerin sadece 4 (%4,65)'ünde ise değerler 10 µg/kg üstünde saptanmıştır; yemlerde 20 µg/kg üstünde AFB<sub>1</sub> kalıntısına rastlanmamıştır.

Çalışmanın sonuçları son zamanlarda yem ve gıda üretiminde mikotoksin önlenmesi ve detoksifikasyonu maksadıyla yıkama, elle daneleri ayırma gibi fiziksel önlemlerin yanında yüksek absorpsiyon gösteren toksin tutucuların ve probiyotik laktik asit bakterilerinin yeme ilavesi, ozon uygulamaları, yapı bozucu olarak enzimlerin kullanmasının nispeten başarılı olduğunu göstermektedir. Ancak yine de mikotoksin kalıntı kirliliğini önlemek için uygulanan koruma kontrol programları devam ettirilmeli; toplumda bu konuda farkındalık oluşturulmalıdır.

Mikotoksinler tarım, hayvancılık, veteriner hekimlik ve tıp hekimliğini ilgilendiren çoklu disiplini ilgilendiren bir sorundur. Mikotoksin üreten mantarlar bitkiler için fitoparazittir. AB ile yapılan başta tahıl ve sebzeler olmak üzere gıda ve yem ticaretinde ülkemiz menşeli ürünlerde mikotoksine yönelik uygunsuzluklar sorun olmaktadır. Ülkemiz dış ticaretinde gıda ve yem sektöründe kaliteye yönelik güven inşa etmenin yolu başta aflatoksin olmak üzere mikotoksin probleminin bertarafı ile gerçekleşebilir. Bu amaçla küçük ve orta boy işletmelere ve hatta geleneksel aile işletmelerine ürün ve yem muhafazasında modern teknik olan silo tipi muhafaza yöntemleri hibe ve teşvikleri ile yaygınlaştırılmalıdır. Tahıl depolarında toprak üstü ve altı dökme halde ürün muhafazası engellenmeli, bu yerlerin mimarileri, ürün ve iş akış şemaları; farklı tahılların birbirlerine teması sonucu oluşabilecek büyük mikotoksinlerle kirlenmenin önleyici faaliyet kapsamında yeniden değerlendirilmesinde fayda vardır. Mikotoksinlerle kirlenmede üründe

görsel ve kozmetik bir kusur olmaksızın toksin üremesi olabilir. Karma yem fabrikalarında üretilen ürünler için son kullanım tarihleri, reyon ömürlerinin belirlenmesinde mikotoksinlerin varlığı, miktarı ve artış hızı asli parametre olarak değerlendirilmelidir.

Mikotoksin kalıntılarının söz konusu olduğu yemlerle beslenen balık etlerinde kalıntı taraması, mevzuatta geçen limit değerlerin altındaki düşük dozların kuşaklar arası genotoksik etkilerinin olup olmadığı henüz bilinmemekle beraber araştırılmaya değer konulardır. Bunların yanında aynı bölgelerden farklı zamanlarda toplanılacak yem numunelerinde mevsim etkisinin araştırılması mikotoksinler ile atmosferik olaylar arasındaki ilişkiyi daha net ortaya koyacaktır. Farklı iklim özelliği gösteren bölgelerden toplanmış numunelerde mikotoksinlere yönelik tarama yapılması mikotoksinle mücadelede yol gösterici olacaktır. Bu çalışmada taranan mikotoksinlerden farklı olarak daha önce başka çalışmalarda balık yemlerinde varlığı tespit edilmiş zearalenon ve okratoksin A toksinlerinin çalışılması piyasadaki yemler için bir durum raporu özelliği taşıyacaktır. Balık işletmelerinde işletme maliyetlerinin %70'ini yemler oluşturmaktadır. Kalite problemi bulunan yemler verim kaybı, hastalıkların görülmesi ve ölümler şeklinde ekonomik ve hayvan refahına olumsuz etkiler meydana getirecektir. Bu bağlamda üretimden tüketime kadar her aşamada kalite ve kontrol uygulamalarını devam ettirmek gerekmektedir.

Günümüzde Hepatit C, Hepatit B hastalıkları ile aflatoksikozis arasında anlamlı ilişkiler tespit edilmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda anne sütünde AFM<sub>1</sub> ve plasenta sıvısında okratoksinlere rastlanılmıştır. Bu durum maruziyetin doğumdan hemen sonra başladığını göstermekle beraber önlemlerin yeterince alınmadığı şartlarda maruziyetin ömür boyu süreceğine işaret etmektedir. Hekimlikte mikotoksikozisin tanısı, ayırıcı tanı olarak belirtilebilecek spesifik bir semptomunun olmaması nedeniyle oldukça zordur. Bu nedenle hastalık epidemiyolojisinde dökümantasyonel anlamda veri eksikliği önlemek amacıyla Sağlık Bakanlığı ile Tarım ve Orman Bakanlığı'nın bu konu özelinde müşterek yapılanmış hızlı alarm ve veri bildirim sistemi kurmaları önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

Abdel-Wahhab, M. A. ve Kholif, A. M. (2008). Mycotoxins in animal feeds and prevention strategies: A Review. *Asian Journal of Animal Sciences*, 2, 7-25.

Aktüre, A. (2005 ) Adana ve ilçelerinde kullanılan alabalık yemlerinde *Aspergillus flavus* ve aflatoksin araması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Tez No: 198125

Alinezhad, S., Tolouee, M., Kamalzadeh, A., Motalebi, Nazeri A.A., Yasemi, M., Shams-Ghahfarokhi, M, Tolouei, R., ve Razzaghi-Abyaneh, M. (2011). Mycobiota and aflatoxin B<sub>1</sub> contamination of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feed with emphasis to *Aspergillus* section. *Flavi Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(3), 363-374

Almeida, I. F., Martins, H. M., Santos, S. M., Freitas, M. S., da Costa, J. M., ve Almeida Bernardo, D. F. M. (2011). Mycobiota and aflatoxin B<sub>1</sub> in feed for farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Toxins*, 3(3), 163–171.

Altınok, H.H. ve Dikilitaş, M. (2011). Mısırdaki (*Zea mays* L.) fungal enfeksiyonlar sonucu oluşan fumonisinlerin insan ve çevre sağlığı açısından değerlendirilmesi. *HR.Ü.Z.F. Dergisi*, 15(3), 9-19.

Altug, G. ve Beklevik, G. (2003). Level of aflatoxin in same fish feeds from fish farming processes, feed factories and imported feeds. *Turkish J. Vet. And Anim. Sci.*, 27(6),1247-1252.

Anater, A., Manyes, L., Meca, G., Ferrer, E., Luciano, B. F., Pimpão, C. T. ve Font, G. (2016). Mycotoxins and their consequences in aquaculture: A review, *Aquaculture*, 451, 1-10.

Anonim 1: [https://www.aspergillus.org.uk/zcombined\\_images/sem-of-aspergillus-fruiting-body/](https://www.aspergillus.org.uk/zcombined_images/sem-of-aspergillus-fruiting-body/) Erişim tarihi: 27.06.2021

Anonim 2: [https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structures-of-the-main-fumonisins\\_fig1\\_250302458](https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structures-of-the-main-fumonisins_fig1_250302458) Erişim tarihi: 17.07.2021

Aydın, N. (2007). Hayvan sağlığında mikotoksinler ve mikotoksikozisler. *İnfeksiyon Dergisi*, 21, 37-46.

Ayhan, K. (2000) Gıdalarda mikroorganizma gelişmesini etkileyen faktörler, *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat

Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara, 522 s 02. Bölüm, 02. Kısım

Barbosa, T.S., Pereyra, C.M., Soleiro, C.A., Dias, E.O., Oliveira, A.A., Keller, K.M., Silva, P.P.O., Cavaglieri, L.R. ve Rosa, C.A.R. (2013). Mycobiota and mycotoxins present in finished fish feeds from farms in the Rio de Janeiro State, *Brazil. Int. Aquat. Res.*, 5. 1-9

Bartke, N. ve Hannun, Y.A. (2009). Bioactive sphingolipids: metabolism and function. *Journal of Lipid Research*, 50, 91–96.

Bauer, D. H., Lee, D. J. ve Sinnhuber, R. O. (1969). Acute toxicity of aflatoxins B<sub>1</sub> and G<sub>1</sub> in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*), *Toxicology and Applied Pharmacology*, 15(2), 415-419.

Bilgüven, M. ve Can G., (2018). Balık yemlerinde balık unu yerine tavuk ununun kullanılma olanakları. Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 32(2), 189-200

Bintvihok, A., Ponpornpisit, A., Tangtrongpiros, J., Panichkriangkrai, W., Rattanapanee, R., Doi, K. ve Kumagai, S. (2003). Aflatoxin contamination in shrimp feed and effects of aflatoxin addition to feed on shrimp production. *J Food Prot.* 66(5), 882-5.

Braun, M.S. ve Wink, M. (2018). Exposure, occurrence, and chemistry of fumonisins and their cryptic. *Derivatives Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17: 769- 791

Carrera Garcia, E. (2013). Effects of fumonisin B1 on performance of juvenile Baltic salmon (*Salmo salar*) [thesis]. Finland: Master of Science in Sustainable Management of Inland Aquatic Resources. DOI: 10.13140/RG.2.1

Demirel Şentürk, D. ve Demirel, R. (2020). Hayvansal ürünlerde yem kaynaklı toksik maddeler. *OKU Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(2), 185-192.

Dhanasekaran, D., Shanmugapriya, S., Nooruddin, T ve Panneerselvam, A. (2011). Aflatoxins and aflatoxicosis in human and animals. In: *Aflatoxins - Biochemistry and Molecular Biology* 10.5772/22717.s. 221-254.

Diener, U.L., ve Davis, N. D. (1970). Limiting temperature and relative humidit for aflatoxin production by *Aspergillus ilavus* in stored peanuts. *J. Amer. Oil Chem. Soe.* 47, 347-351.

Do, J. H. ve Choi, D. K. (2007). Aflatoxins: Detection, toxicity and biosynthesis. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 12, 585-593

Ekici, H., Yarsan E., (2009). Akuakültür canlılarında zehirli etki oluşturabilecek maddeler. *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi* 26 (3), 229-233.

Ekici, H., (2017). Balıklarda yemlerden kaynaklanan olumsuzluk faktörleri. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*, 3(2),139-43.

El-Sayed, Y. S. ve Khalil. R. H. (2009). Toxicity, biochemical effects and residue of aflatoxin B<sub>1</sub> in marine water-reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Food Chem. Toxicol.*, 47, 1606-1609.

Emiroğlu İşgören, D., Tolon, M. T., Günay, D. B. ve Yapıcı, S. N. (2019). Development of Turkish fish feed industry. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 36(1), 75-80. DOI: 10.12714/egejfas.2019.36.1.09

Enyidi, U., Pirhonen, J., Kettunen, J., ve Vielma, J. (2017). Effect of feed protein: lipid ratio on growth parameters of african catfish *clarias gariepinus* after fish meal substitution in the diet with bambaranut (*Voandzeia subterranea*) meal and soybean (*Glycine max*) meal. *Fishes* 2, 1. <http://dx.doi.org/10.3390/fishes2010001>.

Erdoğan, F . (2008). Alabalık yemlerinde alternatif protein kaynakları kullanımını ve kültür balıkçılığının geleceği açısından önemi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 4 (1), 74-85

Ergün, A., Tuncer, Ş. D., Çolpan, İ., Yalçın, S., Yıldız, G., Küçükersan, K.M., Küçükersan, S. ve Şehu, A. (2004). Yemler Yem Hijyeni ve Teknolojisi. Ankara Üniv. Vet. Fak. Ders Kitabı, Ankara.

Farhadi, A., Noowzori, H. ve, Kachuei, R. (2019). Metabolism, toxicity, detoxification, occurrence, intake and legislations of fumonisins - A Review *Journal of Pharmaceutical Research*, 29 (6), 1-35.

Food and Drug Administration (2019). Sec. 683.100 Action Levels for Aflatoxins in Animal Food Compliance Policy Guide Guidance for FDA Staff.

Girgin, G., Başaran, N ve Şahin, G. (2001). Dünyada ve Türkiye’ de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 58, 97 – 118

Gonçalves-Nunes, E. M. C., Gomes-Pereira, M. M., Raposo-Costa, A. P., Rocha-Rosa, C. A. D., Pereyra, C. M., Calvet, R.M. vd (2015). Screening of aflatoxin B<sub>1</sub> and mycobiota related to raw materials and finished feed destined for fish. *Latin American Journal Aquatic Research*, 43, 595– 600.

Hussein, M., Gabal, M.A., Wilson, T. ve Summerfelt, R. C. (1993). Effect of aflatoxin-contaminated feed on morbidity and residues in walleye fish. *Vet Hum Toxicol.* Oct; 35(5): 396-8. Department of Microbiology, Immunology and Medicine, Iowa State University, Ames 50011.

Ismail A., Riaz M., Gong Y.Y., Akhtar S., Sun J. (2019) Aflatoxins in Plant-Based Foods. In: Ozturk M., Hakeem K. (eds) *Plant and Human Health*, Volume 2. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-03344-6\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-030-03344-6_13)

- Jantrarotai, W., Lovell, R. T. ve Grizzle, J. M. (1990). Acute toxicity of aflatoxin B1 to channel Catfish. *Journal of Aquatic Animal Health*, 2(4), 237-247.
- Kamle, M., Mahato, D. K., Devi, S., Lee, K. E., Kang, S. G. ve Kuma, P. (2019). Fumonisin: impact on agriculture, food, and human health and their management strategies. *Toxins*, 11(6), 328.
- Kara, S. (2010). Bazı bitki ekstraktlarının mısır ve buğday danelerinde farklı depolama şartlarında aflatoxin üreten küfler üzerine etkileri. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü., Yüksek Lisans Tezi.
- Kaya, S. (1984). Mikotoksinler: Hayvan ve insan sağlığı yönünden önemi. *Ankara Üni. Vet. Fak. Derg.*, 31 (3), 388-409.
- Kaya, S. ve Yarsan, E. (1995). Yem ve yem hammaddelerinde küflenmenin önlenmesive mikotoksinlerle kirlenmiş bu tür yemlerin değerlendirilmesine yönelik uygulamalar. *Ankara Üni. Vet Fak Derg*, 42 (2), 111-122
- Kaya, S. (2014). Mikotoksinler. Kaya S, editör. Veteriner Toksikoloji. 3. Baskı. Ankara Medisan Yayın; s. 393-433.
- Kaymak, T. (2000). Türkiye’de üretilen alabalık yemlerindeki aflatoxin düzeylerinin tespiti. Yüksek Lisans Tezi. Su Ürünleri Fakültesi. Ankara
- Khlangwiset, P., Shephard, G. S. ve Wu, F. (2011). Aflatoxins and growth impairment: A review. *Critical Reviews in Toxicology*, 41(9), 740-755.
- Kikuchi, K. (1999). Partial replacement of fish meal with corn gluten meal in diets for Japanese Flounder *Paralichthys olivaceus*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 30 (3), 357-363
- Kop, F. A. ve Korkut, A. Y. (2002). Balık yemlerinde kalite kontrol. *E.Ü Su Ürünleri Dergisi*, 19, 271-276.
- Korkut, A. Y., Karamanoğlu, A. K., Kop Fırat, A. (2015). Balık yemlerinde besin madde analiz yöntemlerinin karşılaştırılması. *E.Ü Su Ürünleri Dergisi*, 32(2), 99-104.
- Kundakçı, A. ve Ak, İ. (1993). Küfler, küf toksinleri ve kanatlı kümes hayvanlarının beslenmesi, *Ulud. Univ.. Zir. Fak. Derg.*, 10, 231 -251.
- Kutlu, İ. (2010). Balık yemi içeriğinin kalkan balığı (Psetta maxima) gelişimi üzerine etkisi ve balığın yenilebilir kısımlarının biyokimyasal analizi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.

- Larsson, P., Ngethe, S., Ingebrigtsen, K. ve Tjälve, H. (1992). Extrahepatic disposition of 3H-aflatoxin B1 in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pharmacol Toxicol.* 71(4),262-71.
- Li, M. H., Raverty, S. A. ve Robinson, E. H. (1994), Effects of Dietary Mycotoxins Produced by the Mold *Fusarium moniliforme* on Channel Catfish *Ictalurus punctatus*1. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25: 512-516.
- Lovell, R. T. (1991). Nutrition of aquaculture species, *Journal of Animal Science*, 69(10), 4193–4200.
- Lumlertdacha, S., Lovell, R. T., Shelby, R. A., Lenz, S. D. ve Kemppainen B. W. (1995). Growth, hematology, and histopathology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed toxins from *Fusarium moniliforme*. *Aquaculture*, 130, 201–218.
- Mahfouz, M. E. ve Sherif, A. H. (2015). A multiparameter investigation into adverse effects of aflatoxin on *Oreochromis niloticus* health status, *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 71, 48-59
- Manning, B. B. (2005). Mycotoxins in aquaculture. Alındı: The Mycotoxin Blue Book. Ed: Diaz D. E., Nottingham press, England, s.139-156.
- Marin, S., Magan, N., Ramos A. J., Sanchis, V. (2004). Fumonisin-Producing strains of fusarium: A review of their ecophysiology. *Journal of Food Protection*, 67 (8), 1792–1805.
- Marijani, E., Wainaina, J. M., Charo-Karisa, H., Nzayisenga, L., Munguti, J., Gnonlonfin, G. J. B., Emmanuel Kigadye, E., ve Okoth, S. (2017). Mycoflora and mycotoxins in finished fish feed and feed ingredients from smallholder farms in East Africa, *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 43, 169-176.
- Merako, K. (2010). Alabalık Yetiştiriciliğinde Kullanılan Yemlerin Ağır Metal ve Aflatoksin İçeriğinin Belirlenmesi. T.C. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. Tekirdağ
- Nakatsuru, Y., Qin, X., Masahito, P. ve Ishikawa, T. (1990). Immunological detection of in vivo aflatoxin B sub(1) – DNA adduct formation in rats, rainbow trout and coho salmon. *Carcinogenesis*, 11 (9), 1523-1526.
- Nibbelink Stuart, K. (1986) "Aflatoxicosis in Food Animals: A Clinical Review," *Iowa State University Veterinarian*, 48(1), 6.
- Nizamlioğlu M. N. ve Çon H. A., (2010). Gıda ve yemlerde önemli mikotoksinler: Sitirinin, sitreoviridin ve sterigmatosistin. *Akademik Gıda*. 8(5), 29-36
- Oğuz, H. (2017). Mikotoksinler ve önemi. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*, 3(2),113-9.

Oliva- Teles, A. (2012). Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of Fish Diseases*, 35, 83–108.

Oliveira, M ve Vasconcelos V. (2020). Occurrence of Mycotoxins in Fish Feed and Its Effects: A Review. *Toxins*, 12(3), 160.

Oraman, Y. (2014). Dış Ticarete gıda güvenliğinin önemi ve güven inşa etmenin çözüm yolları. XI. Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi 3-5 Eylül 2014. Samsun.

Oruç, H. H. (2006). Mikotoksinler ve tanı yöntemleri. *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med.* 24 (2005) 1-2-3-4, 105-110.

Özkaya, Ş. ve Temiz, A. (2003). Aflatoksinler: Kimyasal yapıları, toksisiteleri ve detoksifikasyonları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(1), 1-21

Öksüztepe, G. ve Erkan, S. (2016). Mikotoksinler ve halk sağlığı açısından önemi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 5 (2), 190-195

Polat, N., (2012). Erzurum ilindeki bazı süt sığırı işletmelerinde kullanılan kaba, konsantre ve karma yemlerde total aflatoksin, aflatoksin B1 ve okratoksin ile sütte aflatoksin M1 düzeylerinin tespiti. Atatürk Üniversitesi. Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları A.B.D. Yüksek lisans tezi.

Royes, J. A. B. (2001). Aflatoxicosis in fish. IAAAM. Alıntılama: Aflatoxicosis in Fish - IAAAM2001 - VIN Alıntılama tarihi: 23.05.2021.

Şahin, İ. ve Korukluoğlu. M. (2000). Küf-Gıda-İnsan. Bursa: Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayını. 155(31), s.122

Santos Pereira, C., C Cunha, S., ve Fernandes, J. O. (2019). Prevalent mycotoxins in animal feed: Occurrence and analytical methods. *Toxins*, 11(5), 290.

Sert, S. (2011). Mikotoksin üretimine tesir eden faktörler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16 (1-4), Alıntılama: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ataunizfd/issue/2997/41581>

Shier, W. T. (2000). The fumonisin paradox: A review of research on oral bioavailability of Fumonisin B<sub>1</sub>, A mycotoxin produced by *Fusarium moniliforme*, *Journal of Toxicology: Toxin Reviews*, 19(2), 161-187.

Sinhuber, R. O., Wales, J. H., Ayers, J. L., Engebrecht, R.H., ve Amend, D.L. (1968). Dietary factors and hepatoma in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), aflatoxins in vegetable protein feedstuffs. *J. Natl. Cancer Inst.*, 41(3),711-8.

Stockmann-Juvala, H. ve Savolainen, K. A. (2008). Review of the toxic effects and mechanisms of action of fumonisin B<sub>1</sub>. *Hum Exp Toxicol.*, 27(11), 799-809.



Sumiahadi, A., Mülâyim, M. ve Acar, R. (2020). Tahılların depolanmasında genel prensipler ve çeltiğın depolanması. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 9 (1), 102-112.

T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. Resmi Gazete (2011): Canlı hayvanlar ve hayvansal ürünlerde belirli maddeler ile bunların kalıntılarının izlenmesi için alınacak önlemlere dair yönetmelik. Resmi Gazete No. 28145, Tarih: 17.12.2011

T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. Resmi Gazete (2014): Yemlerde istenmeyen maddeler hakkında tebliğ. Resmi Gazete No. 28977, Tarih: 19.04.2014, Tebliğ No: 2014/11. Ankara, Turkey: Tarım ve Orman Bakanlığı.

T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. Resmi Gazete (2017): Yemlerin resmi kontrolü için numune alma ve analiz metodlarına dair yönetmelik. Resmi Gazete No. 29955, Tarih: 21.01.2017

Tiryaki, O., Seçer, E. ve Temur, C. (2011). Yemlerde mikotoksin oluşumu, toksisiteleri ve mikotoksin kalıntı analizler. *Anadolu, J. of AARI* 21(1), 44-58.

Topal Şeminur, R. (2003). Türkiye' nin tarımsal ürün ve bölgelerine göre dominant mikoflora dağılımları ve mikotoksin profilleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1 (12), 7-21

Tuan, N. A., Manning, B. B., Lovell, R.T. ve Rottinghaus, G. E. (2003). Responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing different concentrations of moniliformin or fumonisin B1. *Aquaculture*, 217, 515–528.

Tunail, N. (2000). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara 522 s 03. Bölüm, 13. Kısım

Türkiye İstatistik Kurumu (2021). <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Fishery-Products-2020-37252> Erişim tarihi: 01.07.2021

Türkeşsiz, K. (2020). Bazı tahıl unlarında mikotoksinlerin ve mikotoksijenik küflerin varlığı üzerine araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, T.C. İstanbul Aydın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tez No: 104378

Ulusal Kalıntı İzleme Planı (2017). <https://docplayer.biz.tr/47049496-Ulusal-kalinti-izleme-plani-turkiye.html> Erişim tarihi: 12.07.2021

Whitaker, T. B., Slate, A. B.ve Johansson, A. S. (2005). Sampling feeds for mycotoxin analysis. Alındı: The Mycotoxin Blue Book. Ed: Diaz D. E., Nottingham press, England, s.1-25.

Yavuzcan H., Pulatsü S., Demir N., Kırkağaç M., Bekcan S., Topçu A., Doğankaya L., Başınar N. (2010). Türkiye’de sürdürülebilir su ürünleri yetiştiriciliği. VII. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi. Ankara

Yaroğlu, T., ve Gül, M. (2007). Erzurum ili piyasasında tüketime sunulan yavru alabalık yemlerinde aflatoxin B<sub>1</sub> varlığının araştırılması *YYÜ Vet Fak Derg*, 18(2), 51-58.

Yarsan, E. (2012). Hayvansal gıdalarda kalıntı sorunu. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*. 6, 3-6.

Yentür, G. ve Er, B. (2012). Gıdalarda aflatoxin varlığının değerlendirilmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 69(1), 41-52.

Yeşilayer, N, Kaymak, İ, Gören, H ve Karşlı, Z. (2013). Balık yemlerinde balık ununa alternatif bitkisel protein kaynaklarının kullanım olanakları. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 4, 12-30.

Yıldırım, E., Macun, C .H., Yalçınkaya, İ., Kocasarı Şahindokuyucu F, Ekici, H. (2018). Survey of aflatoxin residue in feed and milk samples in Kırıkkale province, Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 65, 199-204.

Yıldırım, M., Manning, B. B., Lovell, R. T., Grizzle, J. M., Rottinghaus, G. E. (2007). Toxicity of moniliformin and fumonisin B<sub>1</sub> fed singly and in combination in diets for young channel catfish *Ictalurus punctatus*. *J. World Aquac. Soc.* 31, 599–608.

Yıldız, G. (2017). Türkiye’de Yem ve Yem Hammaddelerinde Mikotoksinle Kirlenme Durumu. *Yem Magazin*, 25 (80), 45-51.

**Yıldız, H ve Sert, S. (2004). Mısır ve mısır kaynaklı gıdalarda fumonisinler. Atatürk Üniv, Ziraat Fak. Derg. 35 (1-2), 111-116.**