YUMURTACI DAMIZLIK TAVUK VE ETLİK PİLİÇ YEMLERİNE BAZI YEM KATKILARI İLAVESİNİN MİKOTOKSİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİ

Yücel ERDOĞAN

Yüksek Lisans Tezi
Zootekni Anabilim Dalı
Yemler ve Hayvan Besleme Bilim Dalı
Doç. Dr. Hatice KAYA
2018
Her Hakkı Saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YUMURTACI DAMIZLIK TAVUK VE ETLİK PİLİÇ YEMLERİNE BAZI YEM KATKILARI İLAVESİNİN MİKOTOKSİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİ

Yücel ERDOĞAN

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI
Yemler ve Hayvan Besleme Bilim Dalı

ERZURUM
2018

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ ONAY FORMU

YUMURTACI TAVUK VE ETLİK PİLİÇ YEMLERİNE BAZI YEM KATKILARI İLAVESİNİN MİKOTOKSİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİ

Doç. Dr. Hatice KAYA danışmanlığında, Yücel ERDOĞAN tarafından hazırlanan bu çalışma, **28/09/2018** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Zootekni Anabilim Dalı - Yemler ve Hayvan Besleme Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği / ~~oy çokluğu~~ (3./3)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Muhlis MACİT *İmza* :

Üye : Doç. Dr. Hatice KAYA *İmza* :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Aydın ALTOP *İmza* :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 18/10/2018 tarih ve 41/42 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YUMURTACI DAMIZLIK TAVUK VE ETLİK PİLİÇ YEMLERİNE BAZI YEM KATKILARI İLAVESİNİN MİKOTOKSİN OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİLERİ

Yücel ERDOĞAN

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı
Yemler ve Hayvan Besleme Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hatice KAYA

Mevcut çalışmada, normal oda şartlarında 15, 30, 45 ve 60 gün depolanan yumurtacı damızlık (165-450 günler) ve etlik piliç (2-3 hafta) karma yemlerine bitkisel ekstrakt (kekik ekstraktı, 500 mg/kg), organik asit (propiyonik asit, % 0. 2) ve toksin bağlayıcı (MTX, 250 mg/kg) ilavesinin aflatoksin B1 ile fumonisin B1 ve B2 oluşumu üzerine etkileri araştırılmıştır.

Çalışmada yumurtacı tavuk yemlerinde görülen aflatoksin ve fumonisin oluşumlarının, etlik piliç yemlerine nazaran daha az olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, mikotoksin önleyici ilavesi olmadan (kör) yapılan analizlerde daha fazla toksin oluştuğu tespit edilmiştir. Gerek yumurtacı tavuk gerekse etlik piliç yemlerinde mikotoksin önleyicilerin aflatoksin ve fumonisin oluşumu üzerine benzer etkileri olduğu saptanmıştır. Ancak, uzun dönem depolama (45 ve 60 gün) sonrası yapılan analizlerde en etkili katkının bitkisel extrakt olduğu sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak, kekik ekstraktının, hem ekonomik olması hem de sağlık açısından daha güvenilir olması nedeniyle damızlık yumurtacı tavuk ve etlik piliç rasyonlarında mikotoksin (Aflatoksin B1, Fumonisin B1 ve B2) inhibitörü olarak kullanılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

2018, 60 sayfa

Anahtar kelimeler: Kanatlı yemi, mikotoksinler, organik asit, bitkisel ekstrakt, toksin bağlayıcı

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTS OF SOME FEED ADDITIVES SUPLEMENTATION INTO LAYER AND BROILER DIETS ON MYCOTOKSIN FORMATION

Yücel ERDOĞAN

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Animal Science
Division of Feeds and Animal Nutrition

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hatice KAYA

This study, was carried out to determine the effects of mycotoxin inhibitors plant extract (thyme extract, 500 mg/kg), organic acid (propionic acid, % 0. 2) and toxin binder (MTX, 250 mg/kg) suplementation into breeder hen (165-450 days) and broiler chickens (2-3 weeks) diet, stored at 15, 30, 45 and 60 days under room conditions on alfatoxin, fumonisin B1 and B2 formation.

In present study, it was determined that the formation of aflatoxin and fumonisin in laying hen diet was less than that of broiler diet. In addition, more toxin formations were performed in the samples taken from diets without mycotoxin inhibitor addition (blind). It was determined that mycotoxin inhibitors had similar effects on the formation of aflatoxin and fumonisin in both layer and broiler diets. However, the most effective additive was the plant extract after the long-term storage (45 and 60 days).

In conclusion, thyme extract can be used as an inhibitor of mycotoxins (Aflatoxin B1, Fumonisin B1 and B2) in breeder hen and broiler diets due to its economical and more reliable for health.

2018, 60 pages

Keywords: Poultry diet, mycotoxins, organic acid, plant extract, toxin binder

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimde her zaman, her konuda yardımcı olan değerli tez danışman hocam Sayın Doç. Dr. Hatice KAYA'ya teşekkürlerimi sunarım. Tez yazım aşamasında bana yol gösteren Sayın Doç. Dr. Adem KAYA'ya teşekkür ederim. Laboratuvar aşamasında bana her konuda yardımcı olan Kocaeli Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürü Sayın Hasan AKYILDIZ'a ve Mikotoksin Birimi Sorumlusu Sayın Mehmet ÜNLÜ'ye teşekkür ederim. Laboratuvar aşamasında çalışmalarımda bana yardımcı olan kıymetli arkadaşlarım Ali BALCI'ya, Dr. Evrim SARI'ya, Feridun YILMAZ'a ve Dr. Muhammed KUŞÇU'ya teşekkür ederim.

Ayrıca destekleriyle her zaman yanımda olan değerli ERDOĞAN ailesinin bütün fertlerine yürekten teşekkürlerimi sunarım.

Yücel ERDOĞAN
Eylül, 2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ vi
ŞEKİLLER DİZİNİ vii
ÇİZELGELER DİZİNİ viii
1. GİRİŞ 1
1.1. Mikotoksinler 3
1.1.1. Aflatoksinler 6
1.1.2. Fumonisinler 8
1.2. Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Unsurlar 9
1.2.1. Bağıl nem veya su aktivitesinin etkisi 10
1.2.2. Ortam sıcaklığının tesiri 11
1.2.3. Oksijen 11
1.2.4. Besin çeşidi 11
1.2.5. Diğer koşullar 12
1.3. Yemlerde Bulunan Mikotoksinlerin Kontrol Yöntemleri 12
1.3.1. Hasat öncesi 12
1.3.2. Hasat ve kurutma 13
1.3.3. Depolama 13
1.3.4. Taşıma 14
1.3.5. Eğitim 14
1.4. Yemlerde Bulunan Mikotoksinleri Azaltma Yöntemleri 14
1.4.1. Fiziksel yöntemler 15
1.4.2. Kimyasal yöntemler 15
1.4.3. Mikrobiyolojik yöntemler 15
1.4.4. Adsorbsiyon yöntemi 16
1.4.5. Enzim, vitamin ve amino asit ilavesi yöntemi 16
2. KAYNAK ÖZETLERİ 19

3. MATERYAL ve YÖNTEM 24
3.1. Yem Materyali 24
3.2. Numunelerin Homojenizasyonu ve Analize Hazırlanması 24
3.3. Kullanılan Alet ve Ekipmanlar 26
3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler 27
3.5. Ekstraksiyon ve İmmunoafiniti Kolon Uygulamaları 27
3.6. Aflatoksin Analizleri 27
3.7. Fumonisin Analizi 31
3.8. Standart Çalışma Çözeltilerinin ve Numunelerin Cihaz Okumaları 31
3.9. Mikotoksin Standart Çözeltilerinin Hazırlanması 33
3.9.1. Aflatoksin B1 kalibrasyon tablosu 34
3.9.2. Fumonisin kalibrasyon tablosu 35
3.10. İstatistik Analizler 36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 37
4.1. Yumurtacı Tavuk Yemi Mikotoksin Oluşumu 37
4.1.1. Aflatoksin B1 değerleri 37
4.1.2. Fumonisin B1 değerleri 41
4.1.3. Fumonisin B2 değerleri 43
4.2. Etlik Piliç Yemi Mikotoksin Oluşumu 46
4.2.1. Aflatoksin B1 değerleri 46
4.2.2. Fumonisin B1 değerleri 49
4.2.3. Fumonisin B2 değerleri 51
5. SONUÇ 56
KAYNAKLAR 57
ÖZGEÇMİŞ 61

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AFB1	Aflatoksin B1
AOAC	Association of Analytical Chemists
FB1	Fumonisin B1
FB2	Fumonisin B2
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IAK	İmmunoaffiniti Kolon
LC/MS/MS	Sıvı Kramatografisi Kütle-Kütle Spektrometresi
PPB	Milyarda Bir (µg/kg)
PPM	Milyonda Bir (mg/kg)
TDB	Tespit Edilebilir Düzeyde Bulunmadı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Aflatoksinlerin yapıları 6
Şekil 1.2. Fumonisin B1 ve B2'nin yapıları 9
Şekil 3.1. Numunenin öğütücüde öğütülmesi 26
Şekil 3.2. Numunenin hassas terazide tartılışı 28
Şekil 3.3. Tartılan numunelerin ekstrakte edildikten sonra blendırlarda homojen hale getirilmesi 28
Şekil 3.4. Numunelerin filtre kağıtlarından süzülmesi 29
Şekil 3.5. İmmunoaffiniti kolon aşaması 30
Şekil 3.6. İmmunoaffiniti kolonda tutunan toksinlerin kimyasal çözücüsüyle cam tüplere alınışı 30
Şekil 3.7. LS/MS/MS cihazı 32
Şekil 3.8. HPLC cihazı DAD ve FLD dedektörleri 33
Şekil 3.9. HPLC cihazları 33
Şekil 3.10. Aflatoksin B1 kalibrasyon tablosu 35
Şekil 4.1. Yumurtacı damızlık yemine ilave edilen farklı katkıların zamanla birlikte AFB1 oluşumu üzerine etkileri 40
Şekil 4.2. Yumurtacı damızlık yemine ilave edilen farklı katkıların zamanla birlikte FB1oluşumu üzerine etkileri 43
Şekil 4.3. Yumurtacı damızlık yemine ilave edilen farklı katkıların zamanla birlikte FB2 oluşumu üzerine etkileri 46
Şekil 4.4. Etlik piliç yemine ilave edilen farklı katkıların zamanla birlikte AFB1 oluşumu üzerine etkileri 48
Şekil 4.5. Etlik piliç yemine ilave edilen farklı katkıların zamanla birlikte FB1 oluşumu üzerine etkileri 51
Şekil 4.6. Etlik piliç yemine ilave edilen farklı katkıların zamanla birlikte FB2 oluşumu üzerine etkileri 54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Yemlerde mikotoksin oluşturan başlıca mantarlar ve etkileri. 5
Çizelge 1.2. Yemlerde istenmeyen Aflatoksin ve Fumonisin toksinlerinin kabul edilebilir maksimum miktarları. 18
Çizelge 3.1. Denemede kullanılan yem örneklerinin kimyasal kompozisyonu ve besin içerikleri 25
Çizelge 3.2. Fumonisin analizi için LC Mobil faz gradienti 31
Çizelge 3.3. Fumonisin analizi için MS/MS iyon tablosu. 32
Çizelge 3.4. Aflatoksin analizi kromatografik şartları 32
Çizelge 3.5. Ana stok çözeltinin Aflatoksin B1 içeriği 34
Çizelge 3.6. İkinci aşama Aflatoksin B1 standart çözelti içeriği. 34
Çizelge 3.7. Aflatoksin B1 kalibrasyon tablosu (ng/ml) 35
Çizelge 3.8. Fumonisin kalibrasyon tablosu 36
Çizelge 4.1. Farklı katkılar ilave edilerek değişik sürelerde depolanan yumurtacı tavuk yemlerinde ortalama Aflatoksin B1 (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları 38
Çizelge 4.2. Farklı katkılar ilave edilerek değişik sürelerde depolanan yumurtacı tavuk yemlerinde ortalama Fumonisin B1 (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları 41
Çizelge 4.3. Farklı katkılar ilave edilerek değişik sürelerde depolanan yumurtacı tavuk yemlerinde ortalama Fumonisin B2 (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları 44
Çizelge 4.4. Farklı katkılar ilave edilerek değişik sürelerde depolanan etlik piliç yemlerinde ortalama Aflatoksin B1(µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları 47
Çizelge 4.5. Farklı katkılar ilave edilerek değişik sürelerde depolanan etlik piliç yemlerinde ortalama Fumonisin B1 (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları 49

Çizelge 4.6. Farklı katkılar ilave edilerek değişik sürelerde depolanan etlik piliç yemlerinde ortalama Fumonisin B2 (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları.....53

1. GİRİŞ

Hayvanların düzenli ve sağlıklı yaşayabilmeleri ayrıca insanların tükettikleri et, süt, yumurta gibi gıdaları yapabilmeleri dengeli ve sağlıklı beslenebilmelerine bağlıdır. Hayvanlar beslendikleri bu yemlerdeki vitamin, protein, mineral, yağ ve karbonhidratların sayesinde yaşamalarını ve verimliliklerini devam ettirirler. Dolayısıyla hayvanların dengeli ve düzenli beslenebilmesinin yanında sağlıklı yemlerle beslenmesi çok önemlidir (Concon 1988; Steyn and Stander 1999).

Ancak yem maddeleri içerikleri nedeniyle mikroorganizmalar için çok uygun ortamlar sunmaktadır. Hayvanların beslenmesinde kullanılan bu yemler üretim aşamasından depo edilene kadar geçen bütün aşamalarda mikroorganizmalarla bulaşma ihtimali vardır. Bu durum yemlerin bozulmasına ve bu yemlerle beslenen hayvanların sağlıklarının olumsuz anlamda etkilenmesine sebep olur. Yemin mikrobiyolojik ve mikotoksikolojik yönden hijyeni hayvan sağlığının yanında bu hayvanların ürettikleri hayvansal gıdalarla beslenen insanlar içinde oldukça önemlidir. Aspergillus, fusarium gibi bazı küfler üredikleri ortamda kimyasal yapıları farklı olan mikotoksin denilen toksinleri oluştururlar (Steyn and Stander 1999).

Bugün dünya üzerinde 200'ün üzerinde mantar türünün mikotoksin oluşturduğu bunların da yaklaşık olarak 15'inin zehirlenmelere yol açtığı yapılan laboratuvar çalışmalarıyla tespit edilmiştir. Mikotoksinleri oluşturan bu mantarlarda rüzgar ve hava dolaşımlarıyla bütün ortamlarda bulunabilirler (Concon 1988). Mikotoksin bulaşma oranları iklim şartlarına, mevsimlere ve coğrafi konumlara göre de her yıl farklılık gösterebilir (Steyn and Stander 1999).

Farklı ürünlerde olduğu gibi tahıllarda da mikotoksin bulaşmalarını önlemek önemli bir konu halini almıştır. Temiz tohum kullanımı, hastalık kontrolü, zamanında ve doğru teknikler kullanılarak hasat etme gibi yöntemler mikotoksin oluşumunu önleyebilir (Tunail 2000).

Aromatik bitkilerden üretilen bitkisel ekstraklardaki aktif bileşenler antimikrobiyal ve antifungal aktiviteden sorumludur. 1880 yılında bitki ekstrakları ile ilgili ilk çalışmayla bitki ekstraklarının Şarbon bakterisi sporları üzerine antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Yine aynı yılda kekik, fesleğen, soğan ve sarımsağın önemli antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Tanackov and Dimle 2013).

Kekiğin ayrıca yemdeki kötü kokuyu giderdiği ve yumurta kabuk kalitesini olumlu yönde artırdığı da görülmüştür (Demirel vd 2010).

Mikotoksinlerin oluşmasına sebep olan mantarlar yeryüzünün her yerinde bulunabilirler. Tarımsal ürünler tarlada, hasat zamanında, hasat sonrasında ve depolama aşamasında sıcaklık ve rutubet gibi etkenlerle mikotoksinlerle bulaşabilirler (Ayçiçek 2004). Bu bulaşmalar genelde hayvanlarda hastalık belirtisi göstermemesi, hayvan sağlığını ve ekonomisini etkilemesinin yanında insan sağlığı açısından da üzerinde hassasiyetle durulması gereken bir konudur (Kaya 2007).

Mantar küflerinin yeryüzünün her bir yerinde olabilmeleri pek çok yem ve gıda maddelerinde toksin üretebilmeleri nedeniyle mikotoksinler çok önemli doğal toksinler olarak kabul görürler. Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO), 1985 yılı verilerine göre dünyadaki gıda üretiminin dörtte biri mikotoksinlerle bulaşmanın söz konusu olduğunu bildirmektedir. Bu da tarımsal ürün kaybından tutunda hayvansal ürünlerdeki kayıplara, üretim ve tüketim maliyetlerinin artışına ayrıca sağlık harcamalarında artışlara sebep olarak ekonomik zararlara sebep olmaktadır (Özkaya 2003).

Birçok mikotoksinin insan ve hayvanlarda toksik zehirlenmelere sebep olduğu tespit edilmiştir. Günümüzde 350 fungus türünün 400'den fazla mikotoksin ürettiği bilinmektedir. *Aspergillus, Penicillium, Fusarium, Alternaria, Rhizopus ve Cladosporium* cinsleri mikotoksin üreten küf funguslarının çoğunluğu içinde bulunmaktadır (Şahin ve Şehu 2015).

1.1. Mikotoksinler

Mikotoksinler farklı mantar türlerinin oluşturduğu farklı kimyasal özellikleri olan toksinler olup, bu toksinlerle bulaşık yem ve gıdaları tüketen insanlarda ve hayvanlarda toksik etkilere sebep olabilirler (Hussein and Brasel 2001; Gilbert 2002). Mikotoksinler kimyasal olarak aromatik yapıda ve küçük molekül yapısında olup yüksek sıcaklıklara dahi dayanıklıdır (Tunail 2000).

Mikotoksin ifadesi mantar ve zehir kelimelerinin birleştirilmesiyle oluşmuştur (De Vries 2002). Mikotoksinler mg-ug seviyelerinde oluşmaktadır (Charles 1995).

Aflatoksinlerin ortaya çıkmasıyla toksik etkisi olan ikincil metabolitlerde gündeme gelmiş ve günümüze kadar birçok araştırmaya konu olmuştur. İnsanları mikotoksinlerin zararlarından korumak için yasal düzenlemelerle mikotoksinlerin gıda ve yemlerde bulunabilecek maximum düzeyleri belirlenmiştir (Tunail 2000).

Bulunuşundan günümüze kadar, mikotoksinlerin miktarları bazı yöntemlerle analiz edilerek tespit edilebilmektedir. Yüksek performanslı likit kromatografisi (hplc), ince tabaka kromatografisi (tlc), sıvı kromatografisi, kütle-kütle spektrometresi lc-ms-ms, günümüzde kullanılan analiz yöntemleridir (Gilbert 2002).

Mikotoksinler, mikotoksinli yemlerle beslenen hayvanlarda mikotoksin zehirlenmelerine neden olur. Ayrıca bu yemlerle beslenen hayvanlardan elde edilen gıdaların tüketilmesi sonucu insan sağlığı açısından çok önemli bir konudur (Şener 2000; Herrman 2002).

Mikotoksinler bulaşıcı değildir, genellikle ilaç ve antibiyotik tedavisine cevap vermezler. Salgın olarak yayılmazlar. Zehirlenmenin etkisi insan veya hayvanın yaşı ve beslenme şekline göre değişiklik arzedebilir (Goyal 2011).

Bazı faktörler mikotoksinlerin bulaşma ve küflerdeki oranı veya miktarlarının artmasına zemin hazırlayabilir. Küflerin oranı, iklimsel şartlar, yanlış hasat teknikleri, ürünlerin hasattan sonra gereğinden fazla bekletilmesi bunlardan bazılarıdır. Ürünün olgunlaşmasındaki gecikmelerde buna sebep olabilir (Kaya 2002).

Kanatlılar başta olmak üzere tüm çiftlik hayvanlarında önemli verim kayıpları, hastalıklar ve çeşitli toksikasyon belirtileri ile karakterize bozukluklara neden olmaktadırlar. Yem veya tarımsal gıdalarla mikotoksin alımı akut belirtilerinden ziyade kronik özellikte zehirlenmelere neden olmakta ve başta karaciğer olmak üzere, böbrek ve immun sistem organ ve dokularında ciddi bozukluklar yapmaktadırlar. Protein sentezini engellemesi vücuttaki tüm doku ve organlarda kısa veya uzun vadede ciddi toksik etkiler gösterebilmektedir. Mikotoksinlerin karsinojenik olmaları ve küflü yemleri yiyen hayvanların et, süt, yumurta gibi ürünlerinde kalıntılarına rastlanması sebebiyle ciddi bir sağlık problemi olmanın yanında ekonomik yönden de önemini korumaktadır. Vakaların kronik ve çoğunlukla da gizli seyretmesi yetiştiricililikte hayvansal ürün kayıplarının sonradan farkına varılmasına neden olmaktadır (Oğuz 2017).

Binlerce mantar türünün takriben %30-40 kadarının insan ve hayvanlar için mikotoksin salgıladığı bilinmektedir. Yemlerde mikotoksin oluşturan mantarlar ve bunların hayvanlar üzerine olan etkileri Çizelge 1.1'de gösterilmiştir (Şahin ve Şehu 2015).

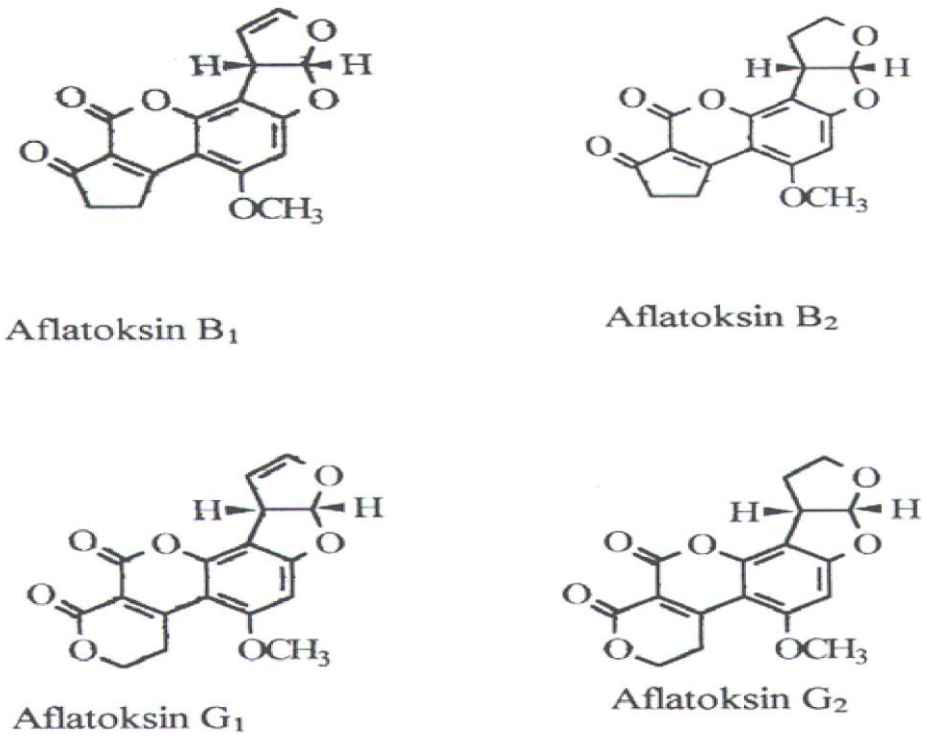
Mikotoksinler; aflatoksinler, aspergillik asit, okzalik asitten oluşan Aspergillus toksinlerinden rugulosin, okratoksin, patulinden oluşan penisilyum toksinlerinden ve zearalenon, trikotesen, fusarin C'den oluşan fusarium toksinleri olarak sınıflandırılabilir (Kök 2006).

Çizelge 1.1. Yemlerde mikotoksin oluşturan başlıca mantarlar ve etkileri

Mantar türü	**Mikotoksin**	**Etkili olduğu hammaddeler**	**Hayvanlardaki etkileri**	**Etkili olduğu hayvan türleri**
Aspergillus	Aflatoksin (B1, B2, G1, G2)	Mısır, diğer tahıllar, pamuk küspesi, sorgum, yerfıstığı	Karaciğer tahribatı, bağışıklık sisteminde tahribat, kanserojenik etki, kanama	Tüm türler
Aspergillus, Penicillium	Okratoksin	Mısır ve diğer tahıllar, pirinç	Böbrek tahribatı	Kanatlı ve domuz
Aspergillus, Penicilluum	Siklopiazonik asit	Yerfıstığı, Mısır ve diğer tahıllar	Böbrek tahribatı, kabuk kalitesinde azalma	Kanatlı ve domuz
Fusarium	Deoksinivalenol (DON, Vomitoksin)	Mısır ve diğer tahıllar	Sindirim ve dolaşım sistemi bozuklukları, iştah azalması, kusma, sinirsel tahribat	Sığır, kanatlı ve domuz
Fusarium	T-2	Mısır ve diğer tahıllar	Yumurta veriminde azalma, kabuk kalitesinde kötüleşme	Kanatlı
Fusarium	Zearalenon	Mısır, diğer tahıllar, çayırotu, saman	Üreme sisteminde tahribat	Koyun ve domuz
Fusarium	Fumonisin	Mısır, tahıl	Sinir sisteminde tahribat	At, kanatlı,domuz
Claviceps	Ergot	Sorgum	Büyümede gerileme	Tüm türler
Penicillum	Patulin	Buğday	Deri lesyonları, sinirsel sendromlar	Sığır
Penicillum	Rubratoksin	Mısır	Hepatik sendrom, kanama	Sığır ve domuz
Penicillum	Sitrinin	Mısır, arpa ve karma yemler	Böbrek ve karaciğer tahribatı, ödem	Kanatlı, koyun ve at

1.1.1. Aflatoksinler

Üzerinde en çok çalışılmış mikotoksin grubu olan aflatoksinler, güçlü hepatotoksik etki gösterir. Başlıca *Aspergillus flavus, A. parasiticus, A. nomius, A. pseudotamarii* ve *A. bombycis* ve *Penicillum (Penicillum Puberulum, Penicillum Citrinum vb)* tarafından sentez edilmektedir (Şahin ve Şehu 2015; Türel ve Calapoğlu 2017). Aflatoksinler insan gıdalarında, tahıl ve yemlerde, her türlü kuru yiyeceklerde, rutubetin çok olduğu ve sıcaklığa bağlı olarak doğada bulunan toksik zehirlenmelere sebep olan ve kanser etkisi bulunan metabolitlerdir (Sabuncuoğlu 2008).



Şekil 1.1. Aflatoksinlerin yapıları (Girgin vd 2001)

Küflerin aflatoksin üretebilmeleri bazı faktörlere bağlıdır. Genetik potansiyel, çevre şartları, sıcaklık, ph bunlardan bazılarıdır (Tunail 2000). Aflatoksin sentezleyen toksijenik Aspergillus türleri başta tropikal ve subtropikal bölgeler olmak üzere bütün dünyada yaygın bir şekilde bulunurlar. Aflatoksinlerin üreyebilmeleri için 12-42°C

sıcaklığa ihtiyaçları varken istedikleri en uygun sıcaklık 25-35°C'lerdir (Ünlütürk 2002). Aflatoksinler düşük ve yüksek pH'larda (3'den küçük-10'dan büyük), oksijen alabilen ortamlarda UV ışığında etkinliklerini kaybetmeye başlarlar (Özkaya 2003).

Aspergillus türleri %9-14 arasında veya daha yüksek oranlarda rutubet içeren bütün tarımsal ürünlerde ve hazır besinlerde 3-4 gün gibi kısa bir sürede küflenmeye yol açabilirler. Aflatoksinler içerisinde en önemlileri sırasıyla aflatoksin B1, B2, G1, G2, M1, M2 olarak ifade edilebilir. Yem ve besinlerde en sık bulunan aflatoksin B1'dir. Bunu G1, B2 ve G2 izler. Aflatoksin M1 ve M2 ise sütle atılan türevleridir (Şahin ve Şehu 2015).

En yüksek toksisite AFLB1, en düşüğü ise AFLG2 ve M2 de görülmüştür (Tunail 2000).

Vücuda giren toksinin %85-90'ı ilk 24 saat içinde gaita, idrar ve sütle atılır. Sütle atılan miktarı alınan toksinin %0,1-0,18'i arasındadır. Ayrıca yemdeki toksin düzeyinin %0,5 kadarı yumurtaya geçer. Yumurtaya geçen toksin miktarı özellikle damızlık kanatlı işletmeleri açısından önem taşır. Yumurta sarısında %50 embriyo ölümüne yol açabilen aflatoksin miktarı yaklaşık 0,9 ppb'dir (Şahin ve Şehu 2015). Hayvan yemlerinde bulunan aflatoksinlerin azda olsa ete, süte ve yumurtaya geçmeleri vasıtasıyla insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadır (Gürses 2004).

Aflatoksinlerin sebep olduğu zehirlenme vakalarına aflatoksikoz denir (Busby 1984). Aflatoksinler protein yapımını yavaşlatıp karaciğerde doku ölümlerine ve tümörlere sebep olurlar. Uzunca bir süre ve yoğun miktarda aflatoksin alınması durumunda organizma vücuda zararlı olan toksik maddeleri yeterince temizleyemeyeceğinden önemli sağlık sorunlarına yol açacaktır (Şanlı 2000).

Aflatoksinler karaciğerlerde hasarlara, böbreklerde zehirli etkilere, bağışıklık sisteminin bozulmasına, hastalıklara karşı direnç koymada zafiyetlere, büyümede ve besinlerden faydalanmada kayıplara yol açmaktadır (Sabuncuoğlu 2008). Bahsedilen toksik etkiler

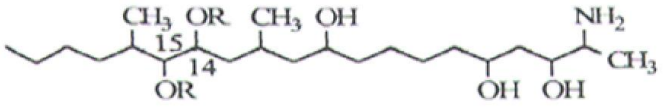
bazı faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Bu faktörleri toksinin tüketilme sıcaklığı ve tüketilen miktarı, tüketicinin yaşı, çevre ve sağlık durumu olarak sayabiliriz (Kaya 2007). Aflatoksinler tüketilen toksinin miktarıyla alakalı olarak akut ve kronik zehirlenmelere sebep olabilirler. Aflatoksinlerin toksik etkilerine mukavemetli bir hayvanın olmadığı tespit edilmiştir (Şanlı 1993; Steyn 1999).

En hassas olanlar ise civcivler, piliçler ve tavuklar olarak bilinmektedir. Memeli hayvanlar içinde ise domuzlar, sığırlar ve koyunlar hassastırlar. Ayrıca alabalıklarda aflatoksinlere karşı çok hassastırlar (Smith 1985).

1.1.2. Fumonisinler

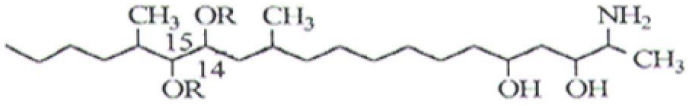
Fumonisinler doğal olarak *Fusarium moniliforme, F. proliferatum, F. nygamai, F. anthophilum, F. dlamini* ve *F. napiforme* türleri tarafından sentezlenmektedirler. Fumonisinler genellikle aflatoksinler ile birlikte kontaminasyon özelliği gösterir ve aflatoksinlerin karsinojenik etkisini artırırlar (Türel ve Calapoğlu 2017). Farklı tipleri olmakla beraber en çok bilineni Fumonisin B1'dir (Pitt 2000; Sadler 2002). En çok da mısır ve mısır türevli ürünlerde bulunurlar (Seefelder 2002; Abdel-Wahhab 2004). Fumonisinler metabolik aktivasyon olmaksızın toksin üretebilirler (Steyn 1999). FB1'ler tavuklarda karaciğer, böbrek ve kalpte değişikliklerin yanı sıra ani ölüm vakalarının görülmesine neden olmuştur (Steyn 1999). Ayrıca karaciğerde, akciğerde, beyin ve böbreklerde toksik etkileri görülmüştür (Solfrizzo 1997; Wang 1999).

Yapılan çalışmalar fumonisinlerin mısır tohumunun kabuğunda konsantre olduklarını göstermiştir (Steyn 1999).



R = $COCH_2CH(COOH)CH_2COOH$

Fumonisin B_1



R = $COCH_2CH(COOH)CH_2COOH$

Fumonisin B_2

Şekil 1.2. Fumonisin B1 ve B2'nin yapıları (Girgin vd 2001)

Fumonisinler (B1 ve B2 başta olmak üzere) hayvanlarda böbreklerde, beyinde, karaciğerde toksik zehirlenmelere, gelişim bozukluklarına ve karaciğerde kanserlere yol açmaktadır (Hsueh 1999; Razzai-Fazeli 1999).

1.2. Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Unsurlar

Tarımsal ürünlerde mantarların gelişmesi, çoğalması, küflenme olgusunun şekillenmesi ve mikotoksin çeşitlerinin sentezlenebilmesi;

a) Mantar çeşitlerinin fiziksel varlığına ve bileşimine,
b) Gelişip çoğalma yönünden uygun besinsel ortamın varlığına ve
c) Uygun çevresel koşullara bağlıdır (Şahin ve Şehu 2015).

Bitkilerin mantarlarla bulaşmaları ve toksinlerin bitki ve hayvanlar tarafından doğal olarak sentezlenmeleri bazı çevre faktörlerine bağlıdır. Bu faktörlerden bazıları bitkinin

hasat öncesi durumu, hasat tekniği, iklim şartları, deponun nemi ve sıcaklığıdır (Yiannikouris 2002).

Bitkisel hücrelerin çoğunda bulunan küflere karşı doğal koruma metabolizmaları sayesinde hasattan önce küf bulaşığından korunabilirler. Bu da tohum kabukları, dış kabukları ve çekirdekleri sayesinde olmaktadır. Ayrıca kabukta bulunan ve ürettikleri fitosit denilen antibakteriyel doğal maddeler buna yardımcı olmaktadır. Fakat tarlada, hasat esnasında ve sonrasında, depolama aşamalarında ürünlerde meydana gelen ezikler, kırılmalar, farklı nedenlerle oluşabilen mekanik hasarlar ürünün savunma mekanizmasında tahribatlara yol açabilmektedir. Tarımsal ürünün küf bulaşığının mikotoksin üretebileceği durumu önemlidir. Bulaşık küflerin mikotoksin üretebilme potansiyeli varsa bile toksin sentezinde tarımsal ürünün nem durumu, sıcaklık, hasat ve depolama esnasındaki havanın bağıl nemi, atmosferik oksijen, atmosferdeki diğer gazlar, ışık ve pH gibi faktörlerin de durumu söz konusudur (Tunail 2000).

1.2.1. Bağıl nem veya su aktivitesinin etkisi

Sıcaklık ve bağıl nem, mantar sporlarının çimlenmesi ve toksinlerin oluşmasını sağlayan en etkili faktördür. Bunun nedeni ise tarımsal ürünün nem yüzdesinin atmosferin bağıl neminden etkilenmesidir. Atmosferdeki bağıl nem yüzdesinin artması mantarların tarımsal ürünlerdeki toksin oluşturabilme olanaklarını kolaylaştırır. Mantarların tarımsal ürünlerde toksin oluşturabilmeleri ürünün düşük su aktivitesi ile sınırlandırılabilir. Bağıl nem oranı arttığında ürün üzerindeki su buharı basıncıda artacağından ürünün su aktivitesi de yükselecektir. Örneğin nem oranı %13-14 olan kurutulmuş tahıllar uzunca bir süre depo edilecekse aflatoksin oluşturan mikotoksinlerin gelişebilmesi için deponun bağıl neminin artmasının yanında dane nem oranında %17-19 civarına yükselmesi gerekir (Tunail 2000).

1.2.2. Ortam sıcaklığının tesiri

Mantarların gelişebilmeleri geniş sıcaklık aralığında gözlenebilmektedir. Örneğin aflatoksine yol açan küfler 6-60°C'lerde üreyebilmelerine rağmen, toksin üretebilmeleri için 10-40°C'lik ortam sıcaklığına ihtiyaçları vardır. En yüksek toksin oluşturabilmeleri ise 25-30°C'lerede görülmüştür. Penicillium ve fusarium mantarları ise aspergillusların aksine 5°C'nin altındaki sıcaklıklarda dahi gelişebilmektedir (Tunail 2000).

Mikotoksinler hayvanlarda ve insanlarda zehirlenmelere sebep olmaları, kanser hastalıklarına yol açması, her türlü tarımsal ürüne bulaşabilmeleri, küflenmiş yemlerle beslenen hayvanların et, süt ve yumurtaları vasıtasıyla insanlarda kanser oluşumuna neden olabilmeleri dolayısıyla günümüze kadar gelen çalışmalara konu olmaktadır (Kaya 2002).

1.2.3. Oksijen

Mantar türleri oksijenli ortamda iyi gelişirler. Ortamdaki CO_2 derişimi %10'un üzerine çıktığında mantar mikroflorası hızla inhibasyona uğrar (Şahin ve Şehu 2015).

1.2.4. Besin çeşidi

Besin çeşidi ile karma yem ve yem hammaddeleri fungal gelişme ve mikotoksin üretilmesinde etkili olabilmektedir. Özellikle yağlı tohumlar fungal etkinlik yönünden çok uygun ortam oluşturduğu bilinmektedir. Kullanılabilir karbonhidrat ve yağ içeriğince zengin olan tarımsal ürünler ile besin çeşitleri hızla küflenerek bozulabilmektedir (Şahin ve Şehu 2015).

1.2.5. Diğer koşullar

Mantarlar ortamın pH değişikliklerine kolayca uyum sağlayabilirler. Yapılan çalışmalarda mantarların çoğunlukla pH 2,0-7,5 arasında germinatif etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir. Asit ortam fungal etkinlik için daha iyi üremeye neden olur. pH'nın 7,5'un üzerine çıktığı durumlarda fungal üreme ve spor şekillenmesi inhibisyona uğrar. Metal iyonları, fungusid maddeler ve radyasyonda fungal yaşamı olumsuz yönde etkiler (Şahin ve Şehu 2015). Mantar üremesi için çok uygun olan koşulların toksin üremesi için de uygun koşullar olduğu anlamı taşımadığı bilinmelidir (Şahin ve Şehu 2015).

1.3. Yemlerde Bulunan Mikotoksinlerin Kontrol Yöntemleri

Yemlerin hasatından depolanması ve hatta hayvanın önüne gelinceye kadar tüm aşamalarda alınacak bir takım önlemlerle hijyenik açıdan kaliteli yem üretimine özen gösterilmesi mikotoksin kontrolünün temel ilkesidir (Basmacıoğlu ve Ergül 2003). Mikotoksinlerle zehirlenmelerin etkili bir tedavisi yoktur. Kontamine yem, yem hammaddeleri ve gıdaları tüketimden kaldırmanın dışında yapılabilecekler de sınırlıdır. Bu yüzden tarımsal gıdalarda, yem ve yem hammaddelerde henüz mikotoksin oluşmadan önlemlerin alınması ve bulaşmanın önlenmesi gerekmektedir (Oğuz 2017). Mikotoksin oluşumunun önlenmesine yönelik tedbirler aşağıdaki gibi sıralanabilir (Basmacıoğlu ve Ergül 2003; Patil *et al.* 2014; Şahin ve Şehu 2015; Oğuz 2017).

1.3.1. Hasat öncesi

Ürünlerde küf ve mikotoksin oluşumunu korumaya yönelik tedbirlere hasat öncesinden başlanması gerekmektedir. Tarla şartlarında hasattan önce ürünler iç ve dış etkilerle insektisitlerin hücumuna uğrar. İnsektisitler tarafından meydana getirilen mekanik hasarlar ve diğer artropodlar büyük ölçüde mantar enfeksiyonundan sorumlu unsurlardır. Hasat öncesi alınacak tedbirler arasında ürünlerin toprağın yapısına ve üretim kapasitesine uygun olarak seçilmesi, mantar ve böceklere dirençli ürünlerin

kullanılması, gübreleme, sulama, böcek mücadelesi gibi önlemler ifade edilmektedir (Şahin ve Şehu 2015; Oğuz 2017).

1.3.2. Hasat ve kurutma

Ürünler uygun zamanda olgunlaşınca hasat edilmeli, hasat edilirken mekanik hasar oluşturulmamalıdır. Rutubet oranı yüksek bölgelerde hasat edilmiş ürünler derhal kurutulmalıdır. Hasat sırasında hububatlar ve aynı şekilde yeni üretilen yağlı tohum küspeleri depolama için gerekli olandan daha yüksek oranda rutubet içerirler. Normal olarak hububattaki rutubet oranı %12 veya daha aşağı olmalıdır. Silo koşulları iyi olduğunda %14'e çıkan rutubet tolere edilebilir. Küspelerde ise tolere edilebilir rutubet oranı daha da düşüktür, bu durumda ürünün kurutulması sorunun çözümünde en önemli faktördür. Yine bu kapsamda ürün harmanda uzun süre bekletilmemeli, kuru ve kapalı taşıyıcılar kullanılmalıdır (Şahin ve Şehu 2015; Oğuz 2017).

1.3.3. Depolama

Küf üremesi ve mikotoksin sentezinde en riskli aşama depolamadır. Zira gerekli önlemler alınmazsa depolar iyi bir üreme ortamı olabilmektedirler. Siloların mantar ve böceklere karşı ilaçlanmış olması, ortam sıcaklığının 18 ^{0}C'den aşağıda tutulması, paketlenmiş yemlerin doğrudan duvar veya yere temasının önlenmesi; depoların ve depo zemininin kuru olması, zeminden ıslanma veya nem alma riskine karşı yerlere tahta ızgaralar konulması önemlidir. Hava sirkülasyonunun sağlanması, yüksek istiflemelerde nem göçü riskine karşı depolarda izolasyon yapılması ve gece-gündüz sıcaklık değişikliklerinden etkilenmemesi gereklidir. Yine depo nispi rutubetinin %50'nin altında olması, ürün bütünlüğüne zarar verebilecek böceklere karşı ilaçlamalar yapılması ve küflenme riski bulunan yem ve yem hammaddelerine antifungal maddelerin (formik, propiyonik, sorbik, asetik asit ve bunların Na-Ca tuzları) katılması da bu kapsamda değerlendirilen önlemlerdir (Oğuz 2017).

1.3.4. Taşıma

Tarımsal ürünlerin taşınma aşamasındaki önlemler miktotoksin açısından en çok ihmal edilen konudur. Mümkünse kuru, kapalı ve antifungal maddelerle ilaçlanmış taşıyıcılar kullanılması, yağmur ve ıslanma riskine karşı araçların kapatılması, gemi taşımacılığında teknik donanım ve imkânlar ölçüsünde ürün ve/veya depolarda rutubet, ısı veya oksijenden en az birinin küf oluşumunun gerçekleşemeyeceği bir sınıra indirilmesi gerekmektedir (Oğuz 2017).

1.3.5. Eğitim

Mikotoksin oluşumunun önlenmesi bağlamında sektörün tüm bileşenlerine yönelik sürekli eğitim programlarının yanı sıra yem fabrikaları, bitkisel ve hayvansal üreticileri ile analiz laboratuvarı arasındaki bilimsel işbirliğinin sağlıklı ve sürekli bir şekilde devam etmesi önemlidir. Ürünlerdeki kontaminasyonun mümkünse hiç olmaması, eğer varsa da bunun ulusal ve uluslararası izin verilen limitlerin altında olması gerekmektedir (Oğuz 2017).

1.4. Yemlerde Bulunan Mikotoksinleri Azaltma Yöntemleri

Asıl olan ve arzu edilen gerekli önlemlerin alınarak tarımsal gıdalarda, yem ve yem hammaddelerinde mikotoksin üremesinin engellenmesidir. Mevcut gelişmiş teknolojilerle bile hem hasat öncesi ve depolama esnasında hem de yem işleme sırasında mikotoksin oluşumundan korunma oldukça zordur (Oğuz 2017). Oğuz (2017)'nin bildirdiğine göre; FAO, mikotoksinle kontamine yemlerin detoksifikasyonu veya dekontaminasyonunda kullanılacak yöntemlerin etkili, ekonomik ve pratikte uygulanabilir olması; ürünlerde ve uygulanan yemleri tüketen hayvanlardan elde edilen hayvansal ürünlerde toksik, karsinojenik ve mutajenik kalıntı bırakmaması; yemlerin besleyici değerini ve özelliklerini değiştirmemesi gibi özelliklernin olması gerektiği ifade edilmiştir. Yemlerin detoksikasyonunda uygulanan yöntemleri aşağıdaki şekilde gruplamak mümkündür (Basmacıoğlu ve Ergül 2003; Şahin ve Şehu 2015; Oğuz 2017):

1.4.1. Fiziksel yöntemler

Mikotoksinlerin yıkımlanması amacıyla bugüne kadar yapılan çalışmalarda temizleme, yıkama, ısı, öğütme, eleme ve ışınlama gibi fiziksel yöntemler uygulanmıştır.

1.4.2. Kimyasal yöntemler

Yemde bulunan toksinlerin kimyasal yolla detoksifiye edilmesinde kalsiyum hidroksit, sodyum bisülfit, monometilenamin, klorin gazı, amonyak, hidrojen peroksit, amonyum hidroksit, hidroklorik asit ve formaldehit gibi bazı oksitleyici ve hidrolitik ajanlar kullanılmaktadır. Bu yöntemle her ne kadar etkili sonuçlar alınabilse de uygulama güçlüğü ve kalıntı problemi gibi bir takım olumsuzluklarla karşılaşılabilmektedir (Basmacıoğlu ve Ergül 2003).

Mantarların kontrolü amacıyla birçok kimyasal madde kullanılmıştır. Bunlar arasında organik asitler ve tuzları, bordo bulamacı, capton, thiram, ortofenilfenol, bakır sülfat, jansiyan moru, sıvı amonyak yer almaktadır. Organik asitler arasında propiyonik asit, laktik asit, sorbik asit, gibi maddeler fazlaca kullanılır. Bunlar arasında irritan olmayan ve kalıntı bırakmayan maddeler tercih edilmelidir. Buna göre en uygun madde olarak propiyonik asit görülmektedir (Şahin ve Şehu 2015).

1.4.3. Mikrobiyolojik yöntemler

Fiziksel ve kimyasal yöntemlerin uygulama zorluğu, pahalı olması ve yemde oluşturdukları organoleptik ve fiziksel bozukluklar biyolojik ürünlerin kullanılmasına neden olmuştur. Bazı bakteri türleri (Lactobasiller) ile Saccaromyces cerevisae türü mayalar ve maya hücre duvarından elde edilen glukomannan'ın esterleşmiş şekli mannanoligosakkarit (MOS) maddesi de bir aflotoksin giderici olarak yeme ilave edilerek çalışmalar yapılmıştır (Basmacıoğlu ve Ergül 2003; Şahin ve Şehu 2015).

1.4.4. Adsorbsiyon yöntemi

Mikotoksinlerle bulaşık yemlerin değerlendirilmeleri üzerine yapılan en son çalışmalar adsorban maddeler ile yapılanlarıdır. Adsorbanlar hayvan sağlığı açısından güvenle kullanılabilecek maddeler olup, toksik aflatoksin metabolitleriyle emici ve bağlayıcı özellikleri sayesinde değişik bileşikler oluşturarak emilimlerini önlerler (Şahin ve Şehu 2015) 1990'lı yılların başından beri adsorban killer gibi zeolitler ve alüminosilikatlar ile yapılan denemelerde başarılı sonuçlar alınmıştır (Oğuz 2017). Ancak adsorban killer için yüksek düzeyde katıldığında besin maddeleriyle etkileşim göstermesi ile kil kaynakları yakınlarındaki orman-çöp yangınlarından kaynaklarının dioksin kontaminasyonu endişe kaynağıdır. Yemlerdeki mikotoksin bağlayıcılarına yönelik çalışmalar tarandığında; ağırlıklı olarak hidrate sodyum kalsiyum aluminosilikat (HSCAS), klinoptilolit, sodyum bentonit, zeolit ve aktif kömürün etkili olduğu görülmektedir (Şahin ve Şehu 2015; Oğuz 2017).

1.4.5. Enzim, vitamin ve amino asit ilavesi yöntemi

Mikotoksinlerin detoksifikasyonunda en yeni tekniklerden biri de toksinli yemlere enzim ilavesidir. Polar yapıda olmayan mikotoksinleri absorban maddeler ile inaktif hale getirmek mümkün olmamaktadır. Enzimler mikotoksin molekülleri içindeki atomik grupları parçalayarak toksik etkisi olmayan bileşiklere dönüştürürler. Mikotoksin kontrolünde yemin vitamin ve aminoasit içerikleri üzerinde yoğun olarak durulmaya başlanmıştır. Vitamin C'nin ve yemlere fazla miktarlarda metiyonin ilavesinin yapılmasının mikotoksin kontrolünde etkili olduğu belirtilmiştir (Basmacıoğlu ve Ergül 2003; Şahin ve Şehu 2015).

Sözü geçen yöntemlere ilave olarak geçtiğimiz on yıl içinde antifungal ve antioksijenik özellikleri nedeniyle bitki kaynaklı bileşiklerin kullanımı, sentetik kimyasalların güvenliği ve antibiyotik dirençli mikroorganizma suşlarının ortaya çıkmasıyla ilgili artan endişeye bağlı olarak büyük ilgi görmeye başlamıştır (Yin *et al.* 2015; Gomez *et al.* 2018). Sentetik kimyasalların yerini alan bitkisel kökenli, toksik olmayan, spesifik

etkili ürünler propolis, kimyon, fesleğen, sardunya, dereotu gibi bitkiler ve bunların esansiyel yağları ile anti fungal etkili karanfil, tarçın, sarımsak, hardal, mercanköşk ve kekik tarımsal ürünlerde küf kontaminasyonu ve mikotoksin oluşumunun engellenmesi veya azaltılması amacıyla kullanılmaktadırlar (Günaydın ve Karaca 2015).

Kekik (*Tymus* ssp) ülkemizde yaygın olarak üretilen ve ticareti yapılan baharat bitkisi olup ana bileşenlerini kavrakrol ve timol'un oluşturdurğu uçucu yağ içerir. Bu maddeler kekiğe özgü kokuyu ve antimikrobiyal ile antifungal özellik kazandırırlar (Günaydın ve Karaca 2015).

Bayram (2018), Türkiye tüketim gereksinimlerinin (ihracat ve ülke içinde) önceleri "Thymus" ve "Thymbra" cinslerine bağlı türlerin doğadan toplanmasıyla karşılandığını, daha sonra kültüre alınmasıyla ("Origanum" cinsine bağlı türlerin) üretilen kekik miktarının yıllar içinde giderek artış gösterdiğini ve yıllık yaklaşık 13 bin tonluk üretimle (TÜİK, 2015) Türkiye'yi Dünya üretiminde ilk sıraya taşıdığını bildirmiştir.

Mikotoksinli ürünlerin toksin maddelerden temizlenmesinde tam etkili yöntem yoktur. Ayrıca, tarımsal ürünleri ihraç eden ülkelerde ürünlerde mikotoksin bulaşmaları olmaktadır. Bu sebeplerle gıda ve yem maddelerinin kontrolü kaçınılmaz olmuştur. Şu anda 50'den fazla ülke mikotoksinlerin gıda ve yemlerde olabilecek en fazla miktarlarını yasal olarak belirlemiştir (Tunail 2000).

Çizelge 1.2. Yemlerde istenmeyen Aflatoksin ve Fumonisin toksinlerinin kabul edilebilir maksimum miktarları (Anonim 2014).

İstenmeyen maddeler	**Hayvan yemi olarak kullanılan ürünler**	**Kabul edilebilir en çok miktar mg/kg (ppm)(%12 rutubet içeren yeme göre)**
Aflatoksin B1	Yem maddeleri	0,02
	Tamamlayıcı ve tam yemler; aşağıdakiler dışında: -Süt sığırları ve buzağılar, süt koyunları ve kuzular, süt keçileri ve oğlaklar, domuz yavruları ve genç kanatlı hayvan karma yemleri -Sığır (süt sığırları ve buzağılar hariç), koyun (süt koyunları ve kuzular hariç), keçi (süt keçileri ve oğlaklar hariç), domuz (domuz yavruları hariç), kanatlı (genç kanatlılar hariç) karma yemleri	0,01 0,005 0,02
Fumonisin B1+B2	Yem maddeleri: -Mısır ve mısır ürünleri	60
	Tam ve tamamlayıcı yemler: -Domuzlar, tek tırnaklılar, tavşanlar, ev ve süs hayvanları -Balık -Kanatlılar, kuzular, oğlaklar ve 4 aydan küçük buzağılar -4 aydan büyük yetişkin geviş getiren hayvanlar ve vizon	 5 10 20 50

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Yemlerde görülen mikotoksin kontaminasyonları; hayvansal ürünlerde ekonomik ve toksikolojik açıdan gelişen bir problem yaratmaktadır. Ürünlerin mikotoksin kontaminasyonu ve mikotoksinleri kontrol etmek için araştırma ve izleme faaliyetleriyle ilgili ekonomik kaybın yılda 500 milyon ile 1,5 milyar dolar arasında değişeceği tahmin edilmektedir (Yin *et al.* 2015). Bu nedenle yemlerde mikotoksin oluşumunu engelleme veya kontrol altına almak için rasyona ilave edilen mikotoksin önleyicilerin etkilerini incelemek üzere araştırmalar yapılmış ve halen daha devam etmektedir.

Mantar ve mikotoksinlerin gelişmelerini engellemek amacıyla yemlere organik asitler, organik boyalar ve bunlara benzeyen kimyasal bileşiklerin kullanıldığı ve bu maddelerin mikotoksinlerin sebep olduğu verim kayıpları ve sağlık problemlerini kısmen de olsa önlediği bildirilmiştir (Şenköylü 1990).

Yem koruyucular içinde organik asitler, yemlerin hijyenik durumlarını düzeltmek amacıyla, özellikle küf gelişimini kontrol altına almakta etkili ve ekonomik oldukları için son yıllarda kullanılmaktadır. Organik asit karışımları da küf oluşumunu ve olası mikotoksin üretimini önlemektedir (Şamlı vd 2005).

Yapılan bir çalışmada kekik bitkisinden elde edilen 22 uçucu bileşenin 4 küf türü üzerinde oldukça fazla antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Karaman 2001).

Yin *et al.* (2015), genel olarak güvenli doğal bitki bileşikleri, yani carvakrol (CR) ve transcinnamaldehyde (TC)'nin patates dekstroz brothunda (PDB) ve kümes hayvanı yeminde *A. flavus* ve *A. parasiticus* büyüme ve aflatoksin (AF) üretimi üzerine inhibitör etkisi araştırmışlardır. Bu amaçla herhangi bir toksin bağlayıcı içermeyen yumurtacı tavuk yemine *A. flavus* ve *A. parasiticus* (6 log CFU/mL) inokule edilmiştir. Daha sonra bu yeme %0, %0.4, %0.8 ve %1.0 CR ve TC eklenerek 0, 1, 2, 3, 4, 8 ve 12 hafta depolanarak yem örneklerindeki AF belirlenmeye çalışılmıştır. Deneme sonunda test

edilen tüm CR ve TC konsantrasyonları tavuk yemlerinde AF üretimini, kontrollere göre en az %60 azalttığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, kümes hayvanı yeminde AF kontaminasyonunu kontrol etmek için CR ve TC'nin yem katkı maddeleri olarak potansiyel kullanımını önermişlerdir.

Perez-Alfonso *et al.* (2012), in vitro (tüp, PDA(patates dekstroz agar) plakası ve disk mantar büyümesi) ile invivo (limon) ortamlarda timol ve carvacrol maddelerinin *Penicillium digitatum* ve *Penicillium italicum* üzerine etkilerini incelemişlerdir. 10, 25, 50, 100, 250 ve 500 µL/L seviyelerinde karvakrol ve timolün PDA içeren petri kutularındaki test sonuçları timolün *Penicillium digitatum* üzerine daha etkili olduğu ve 100 µL/L seviyesinde timolün *Penicillium digitatum* ve *Penicillium italicum* gelişimini sırasıyla %68 ve %47 oranında inhibe ettiği tespit edilmiştir. İnvivo olarak limonlar içerisine 10, 25, 50, 100, 250 ve 500 µL/L düzeylerinde karvakrol ve timol bulunan balmumu çözeltileri ile muamele edilip bir çubuk yardımıyla yaralanmış ve *Penicillium digitatum* spor süspansiyonuyla (10^7 kob/mL) inokule edilmiştir. Sonuç olarak, 250 µL/L ve üzeri timol ile 500 µL/L karvakrolun fungal gelişmeyi önemli derecede inhibe ettiği tespit edilmiştir.

Organik asitlerin hayvansal ve bitkisel protein kaynaklarına ilavesinin yem mikrobiyolojisi üzerine etkileri araştırılmak üzere 2 farklı depolama ortamı (22°C sıcaklık, %57 Nem ve 41°C sıcaklık, %65 Nem), 2 farklı depolama süresi (1 veya 2 ay), organik asit karışımı ilavesi ile 5 adet hammadde (soya fasulyesi küspesi, tam yağlı soya, ayçiçeği küspesi, balık unu, tavuk unu) kullanılmıştır. Araştırma sonucunda hayvansal ve bitkisel kökenli hammaddelerin sahip oldukları besin madde bileşimleri ile mikroorganizma sayılarının, kökenlerine ve elde edilme yöntemlerinin farklılığından dolayı büyük değişkenlik gösterdiği gözlenmiştir. Balık ununa organik asit ilavesi küf gelişimini önlemiş, fakat tavuk ununda benzer etki tespit edilmemiştir. Organik asit ilavesinin ele alınan bitkisel protein kaynaklarının (tam yağlı soya, soya küspesi ve ayçiçeği küspesi) tümünde küf gelişimini azalttığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, organik asit karışımlarının ilave edildiği yemlere koruyucu etki yaparken, bu etkinin her tür

depolama şartlarında istenen düzeyde olmadığı, sürenin ve hammaddenin nitelikleriyle de ilgili olduğu tespit edilmiştir (Sırcı 2007).

Mennitti *et al.* (2010), invitro olarak ve suni enfekte edilmiş mısır tanelerinde toksin oluşumunu (*Fusarium verticillioides*) inhibe etmek amacıyla Trans-2-hegzanol, karvakrol ve ojenol standart maddelerinin etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada, invitro sistemde incelenen maddelerin 6.2-147.6 µL/L konsantrasyonları konidiyum çimlenmesinde, 3.1-49.2 µL/L konsantrasyonları ise misel gelişiminin engellenmesinde test edilmiştir. Mısırda ise doğal enfekte ve yapay enfekte edilmiş mısır taneleri önce petri kutusu içinde 24.6 µL/L trans-2-hegzanol, 43.1 µL/L kavrakrol ve 147.6 µL/L ojenol ile muamele edilmiş sonra etken maddeler içinde en iyi aktivite gösteren Trans-2-hegzanol (92.3-369 µL/L) ile muamele edilmiştir. Deneme sonunda, en yüksek inhibitör etkinin trans-2-hegzanol tarafından gösterildiği, onu sırasıyla kavrakrol ve ojenolün takip ettiği tespit edilmiştir. Mısır taneleri üzerinde yapılan çalışmad, Trans-2-hegzanol, 369 µL/L konsantrasyonunda küf gelişimini ve toksin oluşumunu etkin bir şekilde inhibe ederken mısırda kötü kokunun oluşmasına yol açmış, 246 µL/L düzeyinde ise en iyi toksin *(Fusarium verticillioides)* kontrolünü sağladığı ancak toksin oluşumunu engellemediği belirlenmiştir.

İnvitro olarak yapılan bir çalışmada, su destilasyonuyla elde edilmiş kekik (*T. vulgaris)* uçucu yağının küf gelişimi ve aflatoksin (*A. flavus)* oluşumu PDA bileşimine farklı oranlarda ilave edilerek incelenmiştir. Deneme sonunda kekik ekstraktı 0.7 µL/mL düzeyinde küf gelişimini, 0.6 µL/mL düzeyinde ise aflatoksin B1 gelişimini tamamen durdurmuştur (Kumar vd 2008).

Propiyonik, sorbik, laktik ve asetik asit tuzlarının karışımı sıvı haldeki bir küf önleyici kullanılarak (1kg/ton) yapılan bir çalışmada, küf önleyici kullanılmayan yeme göre daha az küf oluştuğu tespit edilmiştir (Adams 1987).

Patil *et al.* (2014), %1 propiyonik asitin depolanmış mısırda mikotoksin üretimini ve mikotoksijenik *A. flavus, A. parasiticus, A. ochraceus* ve *P. viridicatum*'yi inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Sorgum tohumlarına, %0.25, %0.75, %1.5, %3.0 ve %4.0 oranında asetik asit ve propiyonik asit ilave edilmesinin farklı depolama koşulları üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, fungal hastalıklar, dayanıklılık indeksi, tohum kuru ağırlığı, filiz boyu ve kök gelişiminde %4.0'lük asetik asit uygulamasının en iyi sonuçları sağladığı ifade edilmektedir (Tonapi *et al.* 2004).

Sırcı (2007)'nin Eidelsburger *et al.* (2001)'a atıfta bulunduğu bir çalışmada, sütten yeni kesilmiş domuz yavrularının yemlerine organik asit katılması ile ishal olaylarında azalma meydana geldiğini ve en başarılı uygulamanın organik asitlerin sıvı formunda olduğu bildirilmektedir. Beslenmeye etkili olduğu kadar yemlerin bakteri, maya ve küflere karşıda formik + propiyonik asit karşımının en iyi yöntem olduğu saptanmıştır.

Yapılan bir çalışmada, organik asit ilavesinin yem üretimi ve yemlerin korunması üzerine etkileri incelenmiş ve organik asit kullanılmayan gruplarda bakteri kolonilerinin arttığı, %5'lik propiyonik asit uygulamasının yemlerin korunmasında etkili olduğu tespit edilmiştir. En iyi sonuçların ise %3'lük organik asit ilavesi ile elde edildiği ancak ıslanmış ya da aşırı nemli yemlerde organik asitlerin düşük dozlarda (%5) kullanıldığında etki gösterdiği belirlenmiştir (Lowe 1999).

Amacı bazı organik asitlerin varlığında aflatoksin B1 üretimi ve fungal büyümeyi inhibe etme olan bir çalışmada (Hassan *et al.* 2015), propiyonik, asetik, formik, laktik, tartarik, sitrik, oksalik ve malik asitlerin 4 funginin (*Aspergillus flavus, Penicillium purpurogenum, Rhizopus nigricans and Fusarium oxysporum*) büyümesi üzerine etkileri incelenmiştir. Deneme sonunda, *A. flavus* üzerinde en yüksek inhibitör etkiye asetik asit (%10) %45,21 oranla sahip olduğu tespit edilmiştir. *Rhizopus nigricans*'ın inhibisyonu üzerinde formik asit (%10), propiyonik asit (%10), asetik asit (%10), laktik asit (%10), tartarik asit (%10) ve sitrik asit (%10)'in sırasıyla %28.65, %26.57, %26.38,

%26.19, %23.53 ve %24.48 oranlarında güçlü bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. %10 seviyesinde laktik asit'in *F. Oxyspor'*um varlığında toksin üretiminin inhibisyonunu %35 oranında azalttığı ifade edilmiştir.

Japon bıldırcın yemlerinde bulunan 2mg/kg aflatoksinin 50g/kg clineptilolite ilavesi ile aflatoksinlerin olumsuz etkilerininin kaybolduğu görülmüştür (Parlat vd 2005).

Toksin bağlayıcı olarak kullanılan bentonit, etlik piliç yemlerinde %0,5 ve 1 oranında kullanıldığında aflatoksinlerin gelişimini önemli oranda azalttığı ifade edilmiştir (Araba 1991).

Etlik piliç yemlerinde bulunan 7,5 mg/kg oranındaki Aflatoksin B1'in, %0,5 oranında Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate ilavesiyle aflatoksinlerin gelişiminin önemli seviyede engellendiği görülmüştür (Philips 1988).

Kolestiramin polimerinin, Zearalenon ve Fusarium mikotoksinlerini kesinlikle bağlayabildiği bildirilmiştir (Soffrizzo 2001).

Mevcut çalışmanın amacı, normal işletme şartlarında 0-15-30-45 ve 60 gün depolanan yumurtacı tavuk ve etlik piliç karma yemlerinde mikotoksin önleyici olarak kullanılan toksin bağlayıcı (MTX), organik asit (propiyonik asit) ve bitkisel ekstrakt (kekik)'ın aflatoksin B1 ve fumonisin B1 ve B2 oluşumu üzerine etkilerini incelemektir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Yem Materyali

Bu çalışmada yem materyali olarak, Sakarya ilinde bulunan tavukçuluk işletmesindeki etlik piliçler için 2.-3. hafta aralığında ve yumurtacı damızlıklar için 165-450 gün aralığında yedirilen yemlerden alınan yem örnekleri kullanılmıştır. Yemlerin geldiği araçtan sonda yardımı ile 8 ayrı yerden numuneler alınmıştır. Alınan yem numuneleri bir kovaya boşaltılarak iyice karıştırıldıktan sonra numune poşetlerine konulmuştur. Araştırmada kullanılan yemlerin bileşimi ve besin madde kompozisyonları Kocaeli Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü Kimyasal Analiz Laboratuvarında belirlenmiştir. Protein analizinde AOAC 990.03 (Anonim 2003), yağ analizinde TS324 (Anonim 2015), kül, selüloz, kalsiyum ve fosfor analizlerinde 20.08.2013 tarihli yem yönetmeliği metotları kullanılmış (Anonim 2013) ve elde edilen sonuçlar Çizelge 3.1'de verilmiştir. Mikotoksinlerin tespitinde numune homojenizasyonu, numunenin uygun bir çözücü ile ekstraksiyonu, temizleme ve miktar tayini aşamaları takip edilmiştir (Smith 1985).

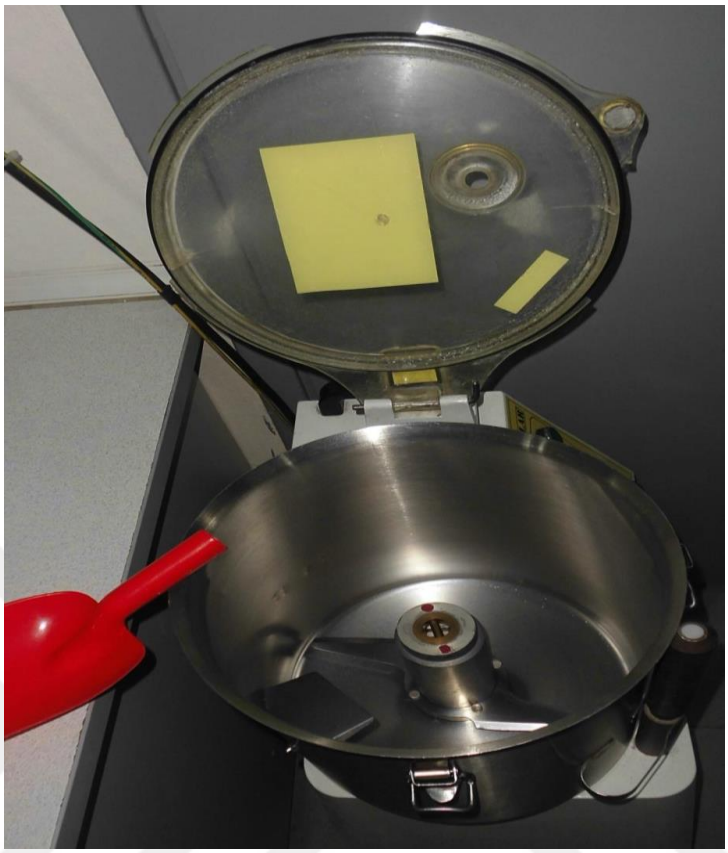
3.2. Numunelerin Homojenizasyonu ve Analize Hazırlanması

İşletmeden alınan örnekler bekletilmeden laboratuvar ortamına alınarak öğütücülerde ince toz haline getirilene kadar öğütülerek homojenize edilmiştir. Daha sonra 1 tanesi kontrol (kör), diğer 3 yem örneği grubuna mikotoksin önleyici olarak üretici firmaların işletmeye tavsiye ettiği düzeylerde 500 mg/kg bitksel ekstrakt (kekik ekstraktı); % 0. 2 organik asit (propiyonik asit) ve 250 mg/kg toksin bağlayıcı (MTX) ilave edilerek 4 eşit gruba ayrılmıştır. Mikotoksin önleyici maddelerin ilavesinden sonra yem örnekleri öğütücüler yardımı ile tekrar homojen hale getirilmiştir. Hazırlanan yem örneklerinin, normal oda şartlarında 15-30-45 ve 60. günlerde aflatoksin ve fumonisin analizleri yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan yem örneklerinin kimyasal kompozisyonu ve besin madde içerikleri

Yumurtacı Damızlık Yem Örnekleri		**Etlik Piliç Yem Örneklerinin Kimyasal**	
Kimyasal Kompozisyonu (%)			
Protein	14,5	Protein	22
Selüloz	4	Selüloz	3,5
Yağ	3,7	Yağ	7,5
Kül	10	Kül	5,5
Kalsiyum	3	Kalsiyum	0,9
Fosfor	0,45	Fosfor	0,65
Metabolik Enerji	2848 kcal/kg	Metabolik Enerji	3190 kcal/kg
Yem Hammaddeleri (%)			
Mısır	51	Mısır	32
Buğday	13	Buğday	25
Soya Küsp.	10,2	Soya Küsp.	20
Tuz	0,25	Tuz	0,22
ATK	9,1	ATK	5
Mermer tozu	7,4	Mermer tozu	1
Arpa	6	L-lysine sulfat	0,5
Metionin	0,16	Metionin	0,3
Monokalsiyumfosfat	0,4	Monokalsiyumfosfat	0,5
Soda	0,21	Soda	0,1
Yağ	1,5	Yağ	3,7
Salmocid	0,5	Fullfat	11,1
Premiks [1]	0,28	Premiks[1]	0,58

Premiks [(1)] (kg)= Vitamin A 3.333.333 IU, Vitamin D3 800.000 IU, Vitamin E 10.000 mg, Vitamin K3 1.333 mg, Vitamin B1 1.000 mg Vitamin B2 1.667 mg, Vitamin B3 8.333 mg, Vitamin B5 3.333 mg, Vitamin B6 1.667 mg, Vitamin B12 5 mg, Vitamin H 15 mg, Vitamin B9 333 mg, Vitamin C 16.667 mg, Kolin Klorid 100.000 mg, Kantaksantin 667 mg, Beta-apo-8-karotenoik asidin etil esterleri 167 mg, Mangan 26.667 mg, Demir 20.000 mg, Çinko 20.000 mg, Bakır 1667 mg, Kobalt 67 mg, İyot 333 mg, Selenyum 50 mg, DL-metiyonin 300.000 mg, Bacillus subtillis-3102 $167X10^9$ CFU, Endo-1,3(4)-beta-glukanaz EC 3.2.1.6 833.333 BU, Endo-1,4-beta-ksilanaz EC 3.2.1.8 2.666.667 BXU, 6-Fitaz / EC 3.1.3.26 83.333 FYT



Şekil 3.1. Numunenin öğütücüde öğütülmesi

3.3. Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

Bu çalışmada kullanılan alet ve ekipmanlar aşağıda verilmiştir;

Sartorius marka hassas terazi (Cp 3202S)
Çok amaçlı öğütücü (Yazıcılar G2)
Waring marka çelik blender
Çalkalayıcı (Heidolph Unimax 1010)
Vorteks (DLAB MX-S)
Ultrasonik su banyosu (Milli-Q)
Azot gazı uçurma düzeneği (Teknosem Tab-24-2)
Agilent marka 1100 ve 1200 seri HPLC
Thermo-Finnigan Marka LC-MS/MS

Desikatör

3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Çalışmalar sırasında kullanılan kimyasal maddeler yüksek saflıkta olup aşağıda özellikleri ile beraber verilmiştir;

%99,9'luk NaCl
Yüksek saflıkta (HPLC grade) Merck marka Metanol
Yüksek saflıkta (HPLC grade) Merck marka Asetonitril
HNO_3
Aflatoksin mix standardı
Fumonisin mix Standardı

3.5. Ekstraksiyon ve İmmunoafiniti Kolon Uygulamaları

Bu çalışmada tespit edilecek mikotoksin türleri Aflatoksin B1, fumonisin B1 ve B2 mikotoksin analizleri Kocaeli Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nde 3'er tekerrür halinde yapılmıştır. Spike yapılmış ve kör olarak ayrılan yem örneklerinde Aflatoksin B1, AOAC Official Method 991,31/1994 metodu kullanılarak, Fumonisin B1 ve B2 ise Modifiye agillent application note 00394 metodu kullanılarak ekstraksiyon işlemlerine tabi tutulmuştur (Anonim 1994; 2004).

Numuneden ekstraksiyonda Aflatoksin B1 için 70:30 (v:v) metanol: su, fumonisin B1 ve B2 için 80: 20 metanol: su (v:v) ekstraksiyon çözeltisi kullanılmıştır.

3.6. Aflatoksin Analizleri

Hazırlanan yem numunelerinde aflatoksin analizi AOAC Official Method 991,31/1994 metoduna göre aşağıdaki işlemlerle gerçekleştirilmiştir (Anonim 1994).

1- Çelik blendırlara örneklerden 25 g tartılarak üzerine 5 g NaCI ilave edildi (Şekil 3. 2)

2- Örnek-tuz karışımı üzerine %70-30 metanol- su karışımından 125 ml blendıra ilave edilerek 2 dakika yüksek devirde karıştırıldı (Şekil 3.3).



Şekil 3.2. Numunenin hassas terazide tartılışı



Şekil 3.3. Tartılan numunelerin ekstrakte edildikten sonra blendırlarda homojen hale getirilmesi

3- Örnek karışımı kaba filtre kağıdından süzüldü.

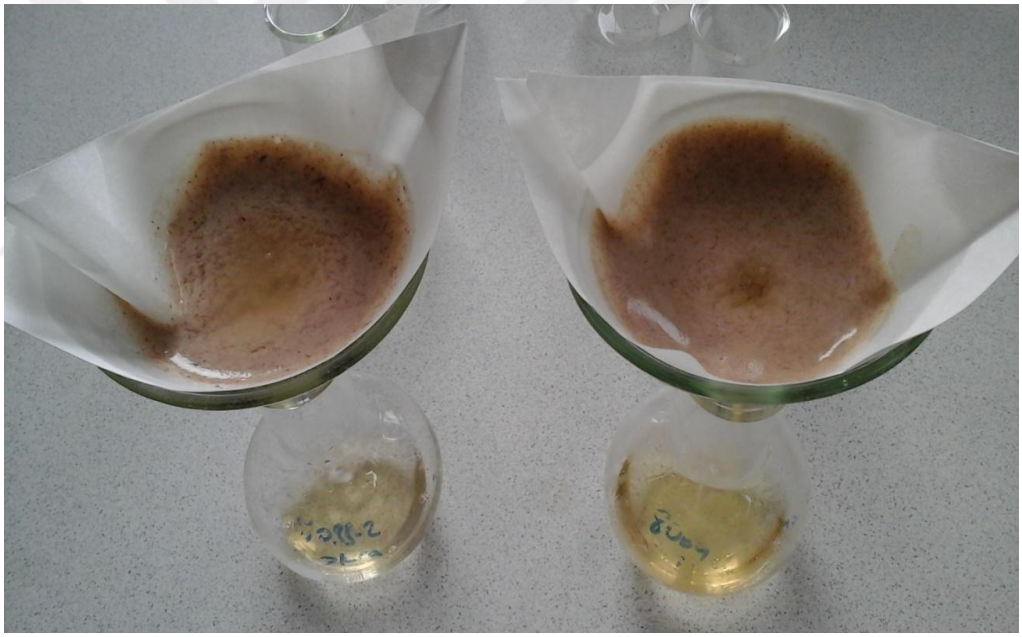
4- Süzüntüden 15 ml alınarak 30 ml bidistile su ile 45 ml hacme seyreltilerek, mikrofiber filtre kağıdından süzüldü (Şekil 3.4).

5- Süzüntüden 15 ml alınarak aflatest immunoaffiniti kolondan (IAK) saniyede 1-2 damla hızla süzülecek şekilde geçirildi (Şekil 3.5).

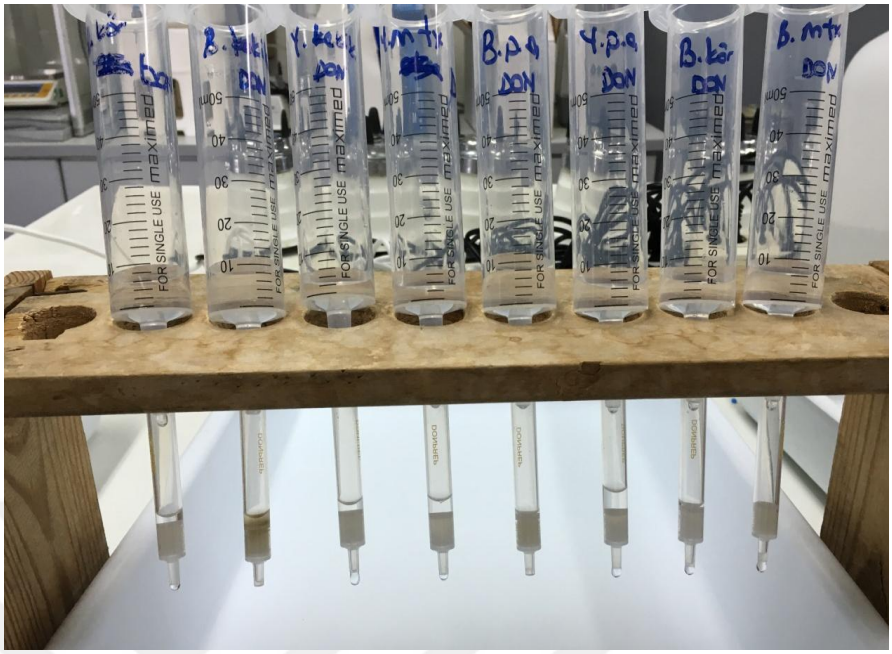
6- IAK, 10 ml ultra saf su ile iyice yıkandı.

7- Yıkama işleminden sonra, IAK temiz bir cam tüpe alınıp 1 ml HPLC saflıkta metanol ile elüsyon yapıldı (Şekil 3.6).

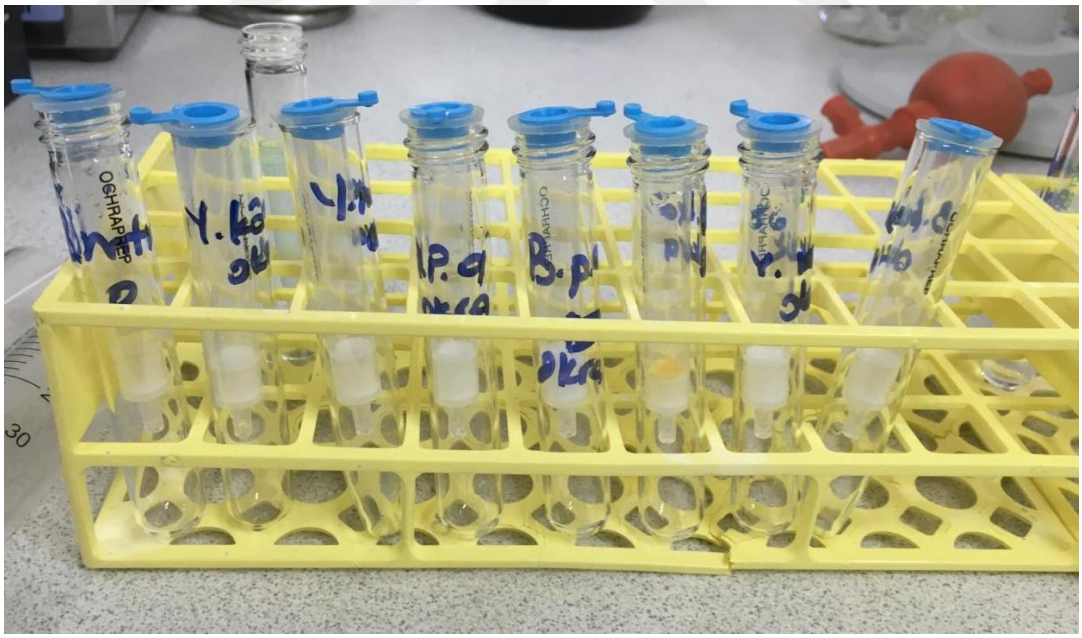
8- Eluat üzerine 1 ml ultra saf su konuldu ve cam tüpte biriken karışım iyice homojenize edilerek viallere aktarıldı.



Şekil 3.4. Numunelerin filtre kağıtlarından süzülmesi



Şekil 3.5. İmmunoaffiniti kolon aşaması



Şekil 3.6. İmmunoaffiniti kolonda tutunan toksinlerin kimyasal çözücüsüyle cam tüplere alınışı

3.7. Fumonisin Analizi

Yem numunelerinden fumonisin analizi için modifiye agillent application note 00394 metodu kullanılarak aşağıdaki işlemler kademeli olarak gerçekleştirilmiştir (Anonim 2004).

1- Örneklerden kavanozlara 25 g tartılarak üzerine 2,5 g Nacı ilave edildi.
2- 50 ml %80-20 metanol-su çözeltisi eklenerek 2 saat süreyle çalkalayıcıda yüksek hızda karıştırıldı.
3- Ekstrakt whatman no:4 filtre kağıdından süzüldü.
4- Süzüntü 0,45 µm'lik membran filtreden tekrar süzülerek viallere alındı.

3.8. Standart Çalışma Çözeltilerinin ve Numunelerin Cihaz Okumaları

Standart maddelerin ve numunelerin kantitatif analizleri için HPLC ve LC-MS/MS cihazlarında okumalar yapılmıştır. Fumonisin analizleri LC-MS/MS'de (Şekil 3.7.), aflatoksin analizleri HPLC-DAD/FLD (Şekil 3.8-9) cihazlarında gerçekleştirilmiştir. Cihazlarda okumalar sırasında metotlarda belirtilen şartlar uygulanmış olup Çizelge 3.2-3.3 ve 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Fumonisin analizi için LC Mobil faz gradienti

Zaman (dk)	%A	%B	Akış (ml/dk)
0,00	20	80	0,3
0,00	20	80	0,3
1,00	20	80	0,3
4,50	90	10	0,3
7,00	90	10	0,3
7,10	20	80	0,3
10,50	20	80	0,3

Çizelge 3.3. Fumonisin analizi için MS/MS iyon tablosu

	Parent	Product	CE (collision energy)	Polarity
Fumonisin B1	722	334	42	+
	722	352	40	+
Fumonisin B2	706	318	41	+
	706	336	39	+

Çizelge 3.4. Aflatoksin analizi kromatografik şartları

	Aflatoksin
Kullanılan Cihaz	HPLC
Kolon	Ace 5 C18
Dalga Boyu	360-430 nm
Kolon Sıcaklığı	25°C
Enj.Hacmi	100 µl
Akış	1 ml/dk
Mobil Faz (1 Litre için)	545 ml su+182 ml asetonitril +273 ml metanol +120 mg KBr + 350 µl 4 M nitrik asit



Şekil 3.7. LS/MS/MS cihazı



Şekil 3.8. HPLC cihazı DAD ve FLD dedektörleri



Şekil 3.9. HPLC cihazları

3.9. Mikotoksin Standart Çözeltilerinin Hazırlanması

Örneklerin kantitatif analizi için, her bir mikotoksin türünde standart çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan standart çözeltiler Aflatoksin B1 için Çizelge 3.4'de belirtilen

kromatografik şartlarda, Fumonisin B1 ve B2 için ise Çizelge 3. 2-3'de verilen kromatografik şartlarda okutuldu.

3.9.1. Aflatoksin B1 kalibrasyon tablosu

Aflatoksin standart çözeltileri, ticari olarak 1ml'lik cam ampullerde satılan toplam aflatoksin içeriği 2,74 g/ml olan ana stok çözeltiler kullanılarak hazırlandı. Ana stok çözeltinin aflatoksin B1 içeriği Çizelge 3.5'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. Ana stok çözeltinin Aflatoksin B1 içeriği

Bileşen	**Konsantrasyon**
Afla B1	0,99 µg/ml

Stok çözelti, 10 ml'lik cam tüpe aktarıldı ve üzerine 9 ml metanol ilave edilerek ikinci aşama stok çözelti hazırlandı. İkinci aşama aflatoksin standart çözeltisi Çizelge 3.6'da verilmiştir.

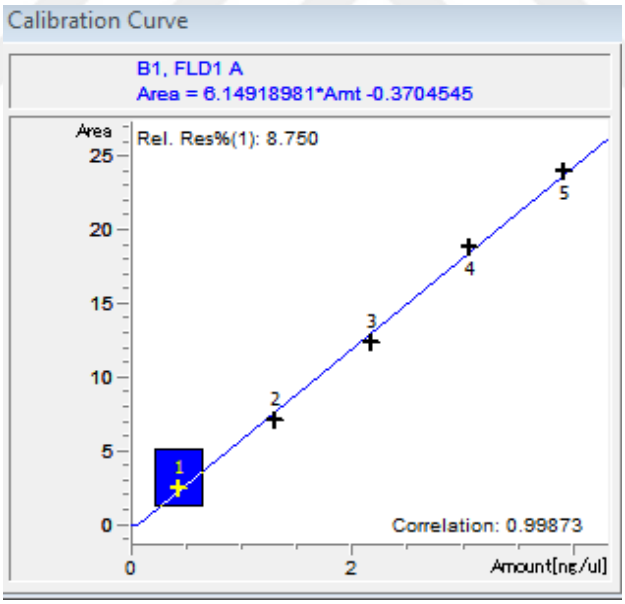
Çizelge 3.6. İkinci aşama Aflatoksin B1 standart çözelti içeriği.

Bileşen	**Konsantrasyon**
Afla B1	0,099 µg/ml

İkinci aşama standart aflatoksin çözeltisi kullanılarak, Çizelge 3.7'de belirtilen 5 farklı konsantrasyonda (0,436-1,308-2,18-3,053-3,92 µg/kg) çözeltiler hazırlandı ve viallere alındı. Vialler aflatoksin metodunda belirtilen kromatografik şartlara göre HPLC-FLD ile okutularak kalibrasyon tablosu hazırlandı (Şekil 3.9).

Çizelge 3.7. Aflatoksin B1 kalibrasyon tablosu (ng/ml)

Seviye	**Konsantrasyonu (µg/kg)**	**Hazırlanışı**
1	0,436	40 µl ikinci aşama standart+3960 µl metanol+6 ml ultra saf su
2	1,308	120 µl ikinci aşama standart+3880 µl metanol+6 ml ultra saf su
3	2,18	200 µl ikinci aşama standart+3800 µl metanol+6 ml ultra saf su
4	3,053	280 µl ikinci aşama standart+3720 µl metanol+6 ml ultra saf su
5	3,92	360 µl ikinci aşama standart+3640 µl metanol+6 ml ultra saf su



Şekil 3.10. Aflatoksin B1 kalibrasyon tablosu

3.9.2. Fumonisin kalibrasyon tablosu

Trılogy TSL-202 marka fumonisin standartı temin edilerek, 50-100-200-500-1000 ppm'lik fumonisin standart çözeltileri hazırlandı.

2 ml'lik ana stok fumonisin standart çözeltisinden 1 ml alınarak, 9 ml asetonitril-su (50-50) karışımı ile 10 ml'e seyreltilerek 2. aşama fumonisin çözeltisi elde edildi.

Elde edilen 2. aşama stok çözeltisinden uygun hacimlerde alınarak Çizelge 3.8'de verilen fumonisin standart çözeltileri hazırlandı ve viallere alındı. Vialler fumonisin metodunda belirtilen kromatografik şartlara göre LC-MS/MS ile okutularak kalibrasyon tablosu hazırlandı.

Çizelge 3.8. Fumonisin kalibrasyon tablosu

Seviye	Fumonisin B1	Fumonisin B2	Hazırlanışı
1	50	15	50 µl 2.aşama stok çözeltiden alınıp 10 ml'e asetonitril-su (50-50) ile seyreltildi.
2	100	30	100 µl 2.aşama stok çözeltiden alınıp 10 ml'e asetonitril-su (50-50) ile seyreltildi.
3	200	60	200 µl 2.aşama stok çözeltiden alınıp 10 ml'e asetonitril-su (50-50) ile seyreltildi.
4	500	150	500 µl 2.aşama stok çözeltiden alınıp 10 ml'e asetonitril-su (50-50) ile seyreltildi.
5	1000	300	1000 µl 2.aşama stok çözeltiden alınıp 10 ml'e asetonitril-su (50-50) ile seyreltildi.

3.10. İstatistik Analizler

Araştırmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 10.0 (1996) paket programı kullanılarak varyans analiz metodu ile, gruplar arası farklılığın önemlilik derecesi ise Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Normal oda şartlarında farklı sürelerde (15,30, 45 ve 60 gün) depo edilen 165-450 günler arası yedirilen damızlık yumurtacı tavuk ve 2-3 haftalar arası yedirilen etlik piliç karma yemlerine 500 mg/kg bitksel ekstrakt (kekik ekstraktı) (BE), % 0. 2 organik asit (propiyonik asit) (OA) ve 250 mg/kg toksin bağlayıcı (MTX) (TB) ilave edilerek mikotoksinlerin (Aflatoksin B1 ve Fumonisin B1-B2) oluşumu üzerine etkilerinin belirlenmeye çalışıldığı denemeye ait araştırma bulguları aşağıda ayrıntılı bir şekilde ele alınarak tartışılmıştır.

4.1. Yumurtacı Tavuk Yemi Mikotoksin Oluşumu

4.1.1. Aflatoksin B1 değerleri

Normal oda şartlarında yumurtacı tavuk yemlerine BE, OA ve TB ilave edilerek 15, 30, 45 ve 60 gün depolama sonrası yapılan mikotoksin analizlerinde ortalama aflatoksin B1 (AFB1) (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Numune alımlarından sonra yapılan analizlerde AFB1 değeri tespit edilebilir düzeyin altında kaldığı gözlenmiştir. Çizelgeden de görüleceği gibi, 15 gün depolama sonunda kontrol ve katkı ilaveli gruplarda (bitkisel ekstrakt, organik asit ve toksin bağlayıcı) oluşan ortalama AFB1 değerleri sırasıyla 0.29, 0.29, 0.26, 0.29 µg/kg bulunmuş olup gruplar arasındaki fark önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$).

Yumurtacı tavuk yemlerine değişik mikotoksin bağlayıcılarının (bitkisel ekstrakt, organik asit ve toksin bağlayıcı) ilave edilerek 30. gün depolama sonunda elde edilen ortalama AFB1 değerleri sırasıyla 0.41, 0.32, 0.30, 0.26 µg/kg olarak bulunmuştur. Gruplar arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). Yumurtacı tavuk yemine ilave edilen BE, OA ve TB'nin kontrol grubuna göre daha az aflatoksin oluşumuna neden olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı katkılar ilave edilerek değişik sürelerde depolanan yumurtacı damızlık yemlerinde ortalama Aflatoksin B1 (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları

Gruplar	**Depolama Zamanı (gün)**					
	15	**30**	**45**	**60**	**SEM**	**P**
Kontrol	0.29^{D}	$0.41^{a\text{-}C}$	$0.65^{ab\text{-}B}$	$0.81^{a\text{-}A}$	0.01	0.000
BE	0.29^{C}	$0.32^{b\text{-}C}$	$0.59^{b\text{-}B}$	$0.78^{ab\text{-}A}$	0.02	0.000
OA	0.26^{B}	$0.30^{b\text{-}B}$	$0.68^{a\text{-}A}$	$0.71^{b\text{-}A}$	0.02	0.000
TB	0.29^{C}	$0.26^{b\text{-}C}$	$0.42^{c\text{-}B}$	$0.73^{b\text{-}A}$	0.02	0.000
SEM	0.19	0.02	0.02	0.02		
P	0.531	0.025	0.003	0.050		

BE: Bitksel Ekstrakt (kekik ekstraktı); **OA:** Organik Asit (Propiyonik asit); **TB:** Toksin Bağlayıcı (MTX)
SEM: Ortalamanın Standart Hatası
A,B,C: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır
a,b,c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır.

Muamele uygulanarak (bitkisel ekstrakt, organik asit ve toksin bağlayıcı) 45 gün depolanan yumurtacı tavuk yemlerinde oluşan ortalama AFB1 değerleri sırasıyla 0.65, 0.59, 0.68, 0.42 µg/kg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1.) Gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.01$). Çizelge 4.1'den de görüldüğü gibi AFB1 oluşumu en az yeme toksin bağlayıcı ilavesi ile ve en fazla propiyonik asit ilavesi ile gerçekleşmiştir.

60 gün depolama sonunda yumurtacı tavuk yemlerinde oluşan ortalama AFB1değerleri kontrol, BE, OA ve TB gruplarında sırasıyla 0.81, 0.78, 0.71, 0.73 µg/kg bulunmuş olup gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Yeme ilave edilen toksin bağlayıcıların, kontrol grubuna göre AFB1 değerlerini daha düşük seviyede tuttuğu görülmüştür.

Organik asitler ve tuzlarının, yemlerde küf gelişimini engelleyen, yem ve yem hammaddelerinin depolama sürelerini uzatan, sindirim ve emilime yardımcı olan bileşikler olduğu ifade edilmektedir (İpçak vd 2017). Doğal olup, içerdiği uçucu yağlar nedeniyle sentetik kimyasalların yerini alan bitkisel kökenli, toksik olmayan, spesifik etkili ürünlerin (karanfil tarçın sarımsak hardal mercanköşk ve kekik) anti fungal etki

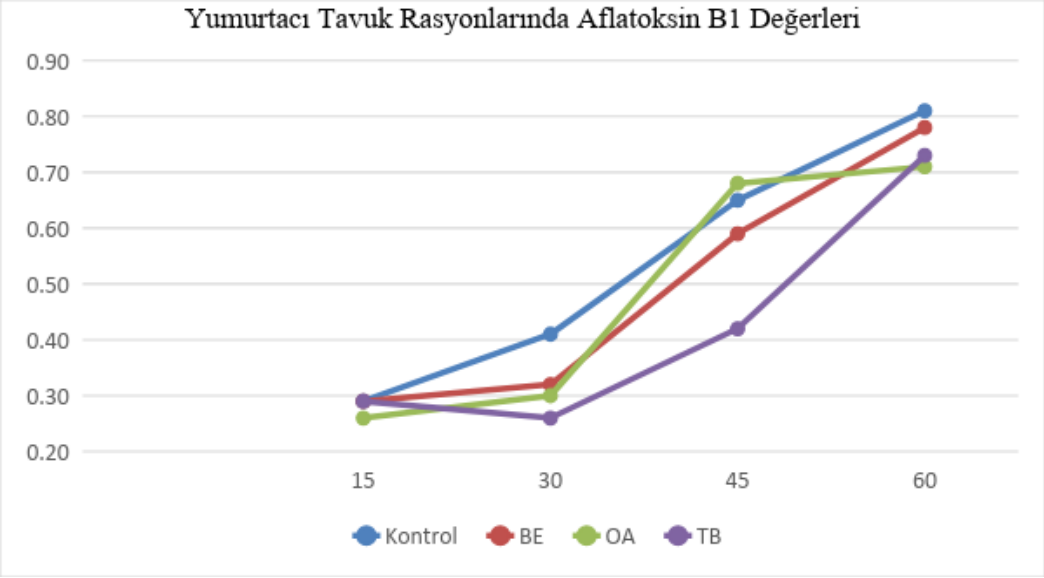
göstererek tarımsal ürünlerde küf kontaminasyonu ve mikotoksin oluşumunu engellediği veya azalttığı bildirilmektedir (Günaydın ve Karaca 2015). Kimyasal koruyucuların yem ya da yiyecekte kalıntı bırakması, sağlık açısından sorun olması ve pahalı olmaları nedeniyle doğal katkı maddeleri mikotoksin oluşumunun engellenmesinde geliştirilmeye çalışılmaktadır (Günaydın ve Karaca 2015).

Sırcı (2007), 22°C sıcaklık ve %57 nem içeren şartlarda 1 ve 2 ay süreli depolamada yem hammaddelerine organik asit karışımı (formik asit, amonyum format, propionik asit, amonyum propiyonat ve dolgu maddesi) ilavesinin mevcut çalışmada olduğu gibi gerek hayvansal gerekse bitkisel kökenli hammaddelerde küf önleyici etki yaptığını bildirmiştir.

Bitkisel ekstrakt, organik asit ve toksin bağlayıcı ilave edilerek oluşturulan yumurtacı tavuk yemi gruplarında (Kontrol, BE, OA ve TB) 15, 30, 45 ve 60 gün depolama ile birlikte meydana gelen ortalama AFB1 değerleri ve varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1'de; zamanla gruplarda olan değişim grafiği Şekil 4.1'de verilmiştir. Çizelge 4.1 incelendiğinde kontrol grubunda depolama zamanı arttıkça AFB1 değerleri artmaktadır ($P<0.01$). Numunelerin alındığı gün yapılan analizlerde AFB1değerleri tespit edilebilir değerin altında iken, zamanla artarak en yüksek değerin 60 gün depolama sonunda (0.81 µg/kg) gerçekleştiği tespit edilmiştir. Yeme bitkisel ekstrakt (kekik ekstraktı) ilavesinin depolama süresi ile birlikte değiştiği gözlenmiştir ($P<0.01$). Bitkisel ekstrakt 15 ve 30 gün depolamada AFB1 oluşumu üzerinde benzer etki gösterdiği, 45 gün depolamada daha az etki gösterdiği en az etkinin ise 60 gün depolamada açığa çıktığı belirlenmiştir. Yumurtacı tavuk yemine organik asit olarak propiyonik asit ilavesinin AFB1oluşumunun engellenmesinde 15 ve 30 gün depolamada benzer tesir ettiği, 45 ve 60 gün depolamada ise diğer depolama günlerine göre daha az etkili olarak benzer etki gösterdiği tespit edilmiştir ($P<0.01$).Elde edilen bu sonuç muhtemelen organik asitin uçucu özelliği olması nedeniyle etkisini kaybetmesinden kaynaklanmış olabilir. Sentetik olarak üretilen toksin bağlayıcının (MTX) yumurtacı tavuk yemine ilavesinin depolama zamanı ile AFB1 oluşumu üzerine etkisi yeme bitkisel ekstrakt ilavesi ile benzer şekilde

15 ve 30 günlerde aynı koruyucu etkiyi gösterdiği ve en az etkili olduğu depolama zamanının 60 gün depolamada gerçekleştiği bulunmuştur (Çizelge 4.1; Şekil 4.1).

Yin *et al.* (2015) mevcut çalışma ile paralel olarak yaptıkları çalışmada, carvakrol (CR) ve transcinnamaldehyde (TC)'nin kümes hayvanı yeminde A. *flavus* ve A. *parasiticus* büyüme ve aflatoksin (AF) üretimi üzerine inhibitör etkisini araştırdıkları çalışmalarında, herhangi bir toksin bağlayıcı içermeyen yumurtacı tavuk yemine A. *flavus* ve A. *parasiticus* (6 log CFU/mL) inokule etmişler daha sonra bu yeme %0, %0.4, %0.8 ve %1.0 CR ve TC ekleyerek 0, 1, 2, 3, 4, 8 ve 12 hafta süreyle depolamışlar ve yem örneklerindeki AF miktarlarını belirlemeye çalışmışlardır. Deneme sonunda test edilen tüm CR ve TC konsantrasyonlarının bu çalışma ile örtüşür bir şekilde tavuk yemlerinde AF üretimini kontrollere göre (en az %60) azalttığı ifade edilmiştir.



Şekil 4.1. Yumurtacı damızlık yemine ilave edilen farklı katkıların zamanla birlikte AFB1 oluşumu üzerine etkileri

4.1.2. Fumonisin B1 değerleri

Normal oda şartlarında yumurtacı tavuk yemlerine BE, OA ve TB ilave edilerek 15, 30, 45 ve 60 gün depolama sonrası yapılan mikotoksin analizlerindeki ortalama fumonisin B1 (FB1) (µg/kg) değerleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı katkılar ilave edilerek değişik sürelerde depolanan yumurtacı damızlık yemlerinde ortalama Fumonisin B1 (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları

Gruplar	**Depolama Zamanı (gün)**					
	15	**30**	**45**	**60**	**SEM**	**P**
Kontrol	$355.40^{a\text{-}C}$	$333.50^{a\text{-}D}$	$431.70^{a\text{-}B}$	$554.03^{a\text{-}A}$	2.51	0.000
BE	$324.96^{bc\text{-}B}$	$302.75^{c\text{-}B}$	$384.85^{bc\text{-}AB}$	$493.88^{d\text{-}A}$	1.43	0.000
OA	$332.07^{b\text{-}B}$	$317.14^{b\text{-}B}$	$388.35^{b\text{-}AB}$	$522.95^{b\text{-}A}$	0.70	0.000
TB	$321.02^{c\text{-}B}$	$292.47^{d\text{-}C}$	$380.29^{c\text{-}AB}$	$506.23^{c\text{-}A}$	2.19	0.000
SEM	1.96	2.39	1.64	1.89		
P	0.001	0.001	0.000	0.000		

BE: Bitksel Ekstrakt; **OA:** Organik Asit; **TB:** Toksin Bağlayıcı;
SEM: Ortalamanın Standart Hatası
A,B,C: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır.
a,b,c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır.

Numune alımlarından sonra yapılan analizlerde FB1 oluşumu 315. 60 µg/kg olarak tespit edilmiştir. 15 gün depolama sonunda yumurtacı tavuk yemlerinde oluşan ortalama FB1 değerleri kontrol, BE, OA ve TB gruplarında sırasıyla 355.40, 324.96, 332.07, 321.02 µg/kg bulunmuş olup gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.01$). FB1 oluşumu üzerine kontrole göre her 3 katkı maddesinin de daha fazla etkili olduğu, BE ve TB katkılarının benzer etki gösterdiği belirlenmiştir.

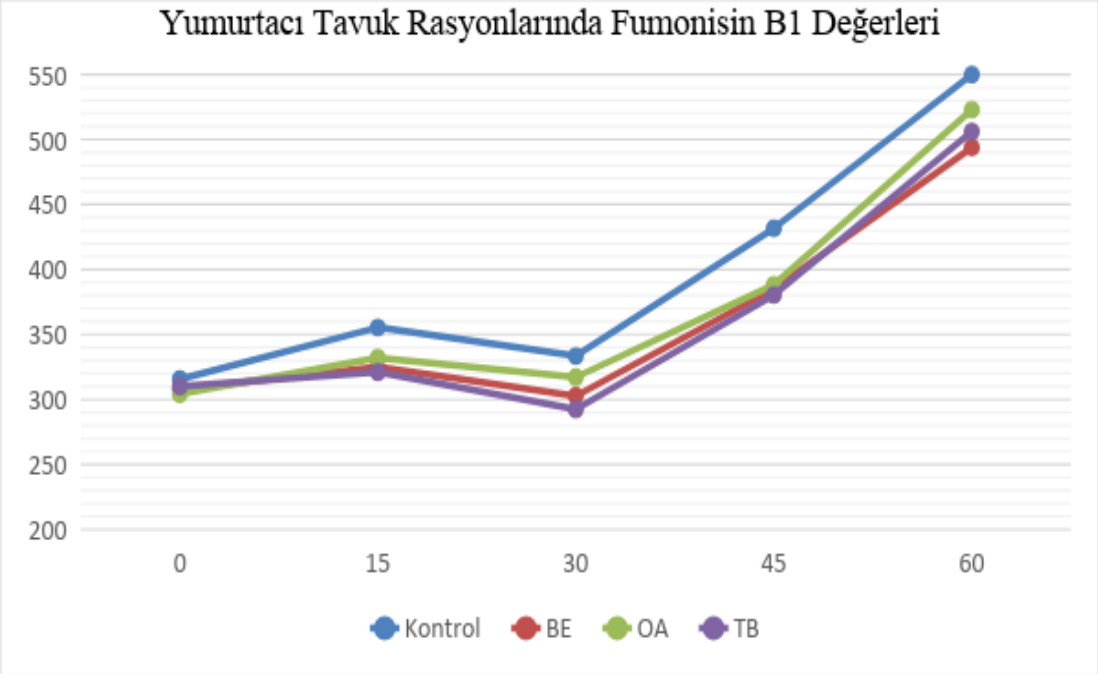
30 gün depolama sonunda yumurtacı tavuk yemlerinde oluşan ortalama FB1değerleri kontrol, BE, OA ve TB gruplarında sırasıyla 333.50, 302.75, 317.14, 292.47 µg/kg bulunmuş olup gruplar arasındaki fark önemli olmuştur ($P<0.01$). Çizelge 4.2 incelendiğinde etki sırasına göre toksin bağlayıcı, bitkisel ekstrakt ve organik asidin kontrol örneğine nazaran daha etkili oldukları görülmüştür.

Yumurtacı tavuk yemiyle oluşturulan kontrol, BE, OA ve TB gruplarında 45 gün depolama sonunda meydana gelen ortalama FB1 değerleri sırasıyla 431.70, 384.85, 388.35, 380.29 µg/kg bulunmuş olup gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.01). Çizelge 4.2 incelendiğinde FB1değerleri bakımından toksin bağlayıcı ve bitkisel ekstrakt katkılarının organik asit katkısından daha etkili olduğu ancak her 3 katkının da kontrol grubuna göre daha düşük değerlerde kaldığı bulunmuştur. Perez-Alfonso *et al.* (2012), invitro (tüp, PDA(patates dekstroz agar) plakası ve disk mantar büyümesi) ortamda timol ve carvacrol maddelerinin küf gelişimi üzerine etkilerini inceledikleri bir çalışmada, mevcut çalışma ile benzer şekilde timol ve karvakrolün fungal gelişmeyi önemli derecede inhibe ettiğini tespit etmişlerdir.

60 gün depolama sonunda yumurtacı tavuk yemlerinde oluşan ortalama FB1değerleri kontrol, BE, OA ve TB gruplarında sırasıyla 554.03, 493.88, 522.95, 506.23 µg/kg bulunmuş olup gruplar arasındaki fark önemli olmuştur (P<0.01). 60 günlük deneme sonunda FB1 önlenmesi üzerine katkısız yeme (kontrole) göre en etkili katkı maddesinin bitkisel ekstrakt olduğu onu sırasıyla toksin bağlayıcı ve organik asit katkılarının izlediği tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Kontrol, BE, OA ve TB gruplarının kendi içlerinde zamanla oluşan ortalama FB1 değişim değerleri ve varyans analiz sonuçları Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Çizelge 4.2 incelendiğinde kontrol grubunun FB1 değerlerinin zamanla arttığı tespit edilmiştir (P<0.01). Yumurtacı tavuk yemine bitkisel ekstrakt ilavesinin zamanla birlikte FB1 oluşumu üzerine etkisi incelendiğinde zamanın önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.01). Yeme BE (kekik ekstraktı) ilaveside en yüksek FB1 değerinin 60. günde gerçekleştiği gözlenmiştir (Çizelge 4.2). FB1 oluşumunu önlemek amacıyla yumurtacı tavuk yemine OA (propiyonik asit) ilavesi ile zamanla etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.01). OA'nın yeme ilavesi ile FB1 oluşumunu önleme etkisi 15, 30 ve 45 gün süreyle depolamada benzer olduğu 60 gün depolamada daha az etkili olduğu tespit edilmiştir. Yumurtacı tavuk yemine TB (TMX) ilavesinin zamanla birlikte FB1oluşumu üzerine etkisi incelendiğinde 30. gün depolamada en etkili olduğu, 15 ve

45 gün depolamada benzer etki gösterdiği en az etkiyi 60 gün depolamada gösterdiği belirlenmiştir (Çizelde 4.2; Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Yumurtacı damızlık yemine ilave edilen farklı katkıların zamanla birlikte FB1oluşumu üzerine etkileri

4.1.3. Fumonisin B2 değerleri

Yumurtacı damızlık yemlerine BE, OA ve TB ilave edilerek 15, 30, 45 ve 60 gün depolama sonrası yapılan mikotoksin analizlerinde tespit edilen ortalama Fumonisin B2 (FB2) (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir. Numune alımlarından sonra yapılan analizlerde FB2 oluşumu 129. 19 µg/kg olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı katkılar ilave edilerek değişik sürelerde depolanan yumurtacı damızlık yemlerinde ortalama Fumonisin B2 (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları

Gruplar	**Depolama Zamanı (gün)**					
	15	**30**	**45**	**60**	**SEM**	**P**
Kontrol	$134.03^{a\text{-}D}$	$137.96^{a\text{-}C}$	$150.89^{a\text{-}B}$	$175.56^{a\text{-}A}$	1.09	0.01
BE	$120.53^{c\text{-}C}$	$126.55^{b\text{-}BC}$	$132.33^{b\text{-}B}$	$151.83^{d\text{-}A}$	0.62	0.01
OA	$122.73^{b\text{-}B}$	$127.00^{b\text{-}B}$	$133.67^{b\text{-}B}$	$164.13^{b\text{-}A}$	0.19	0.01
TB	$120.5^{1c\text{-}B}$	$124.54^{b\text{-}B}$	$132.67^{b\text{-}B}$	$158.37^{c\text{-}A}$	3.82	0.02
SEM	0.49	1.73	0.51	0.38		
P	0.000	0.017	0.000	0.000		

BE: Bitksel Ekstrakt; **OA:** Organik Asit; **TB:** Toksin Bağlayıcı
SEM: Ortalamanın Standart Hatası
A,B,C: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır.
a,b,c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır.

Organik asitler ve tuzları antimikrobiyel etkilerini, mide/bağırsak içeriğini veya ilave edildikleri yemlerin pH'sını düşürerek bazik ortamda yaşayan zararlı mikroorganizmaların gelişimini inhibe etme yoluyla gösterirler (İpçak vd 2017).

Yumurtacı tavuk yemlerine katkısız veya BE, OA, TB ilavesi ile oluşturulan gruplarda 15 gün depolama sonunda oluşan ortalama FB2 değerleri sırasıyla 134.03, 120.53, 122.73, 120.51 µg/kg olarak tespit edilmiştir. Yapılan analiz sonucunda gruplar arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.01$). Kontrol grubuna göre tüm katkı maddelerinin benzer şekilde yemde FB2 oluşumuna karşı daha etkili oldukları gözlenmiştir (Çizelge 4.3).

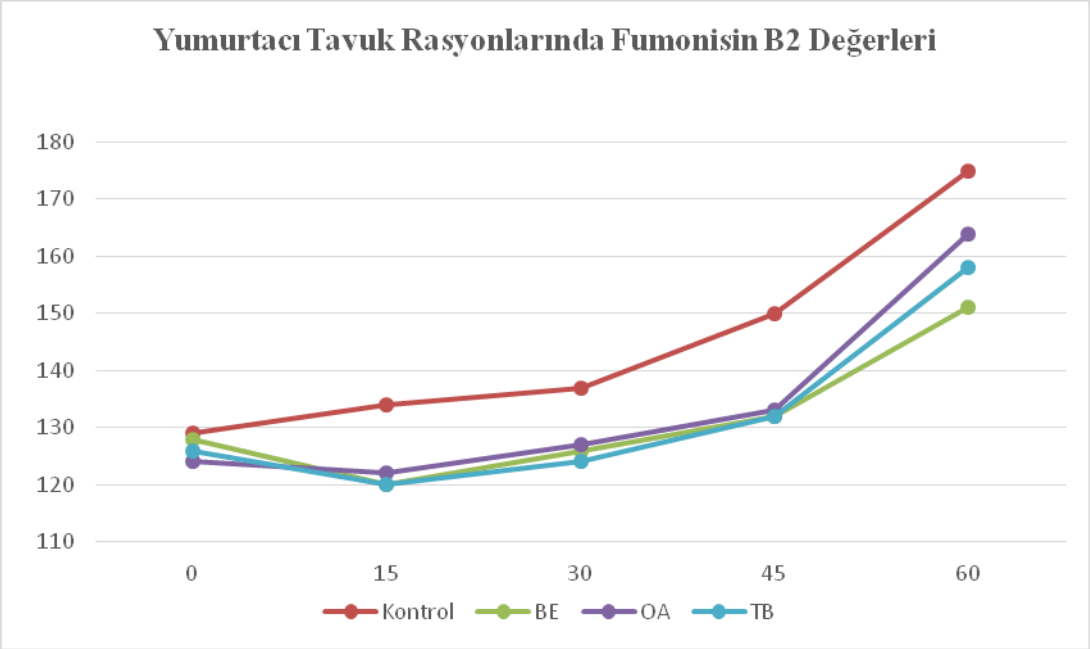
Grupların (kontrol, BE, OA ve TB) 30.gün ortalama FB2 değerleri sırasıyla 137.96, 126.55, 127.00, 124.54 µg/kg bulunmuştur. Gruplar arası farklılıkların önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$).

45 gün depolama sonunda yumurtacı tavuk yemi örneklerinden oluşturulan kontrol, BE, OA ve TB gruplarında ortalama FB2 değerleri sırasıyla 150.89, 132.33, 133.67, 132.67 µg/kg bulunmuştur (Çizelge 4.3). Gruplar arasındaki fark önemli tespit edilmiştir

(P<0.01). Çizelge 4.3 incelendiğinde her üç katkının da FB2 oluşumunu önlemedeki etkisinin benzer oldukları görülmüştür.

60 gün depolama sonunda grupların ortalama FB2 değerleri sırasıyla 175.56, 151.83, 164.13, 158.37 µg/kg tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur (0.05>P). 60 gün depolamada yumurtacı tavuk yeminde FB2 oluşumu üzerine kontrole göre en etkili katkının bitkisel ekstrakt olduğu daha sonra sırasıyla toksin bağlayıcı ve organik asit olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Bitkisel ekstrakt, organik asit ve toksin bağlayıcı ilave edilerek oluşturulan yumurtacı tavuk yemi gruplarında (Kontrol, BE, OA ve TB) 0, 15, 30, 45 ve 60 gün depolama ile birlikte meydana gelen ortalama FB2 değerleri ve varyans analiz sonuçları Çizelge 4.3'de; zamanla gruplarda olan değişim grafiği ise Şekil 4.3'de verilmiştir. Çizelge 4.3 incelendiğinde kontrol grubunun FB2 değerleri zamanla birlikte arttığı tespit edilmiştir (P<0.05). En düşük değerin 0. günde yapılan analizde en yüksek değerin ise 60. gün analizlerinde gerçekleştiği görülmüştür (Çizelge 4.3). Yumurtacı tavuk yemine bitkisel ekstrakt ilavesinin zamanla birlikte FB2 oluşumu üzerine etkisi incelendiğinde zamanın önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.05). Yeme BE (kekik ekstraktı) ilaveside 45. ve 60. günlerde etkisinin azaldığı ve en yüksek FB2 değerinin 60. günde gerçekleştiği gözlenmiştir. FB2 oluşumunu önlemek amacıyla yumurtacı tavuk yemine OA (propiyonik asit) ilavesi ile zamanla etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05). OA'nın yeme ilavesi ile FB2 oluşumunu önleme etkisi 15, 30 ve 45 gün depolamada benzer olduğu, 60 gün depolamada ise etkisinin azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Yumurtacı damızlık yemine TB (TMX) ilavesinin zamanla birlikte FB2 oluşumu üzerine etkisi incelendiğinde 15, 30 ve 45 gün depolamada benzer olduğu ve 60.gün daha az etki gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.3; Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Yumurtacı damızlık yemine ilave edilen farklı katkıların zamanla birlikte FB2 oluşumu üzerine etkileri

4.2. Etlik Piliç Yemi Mikotoksin Oluşumu

4.2.1. Aflatoksin B1 değerleri

Oda şartlarında 2-3 haftalık etlik piliç yemlerine BE, OA ve TB ilave edilerek 15, 30, 45 ve 60 gün depolama sonrası yapılan mikotoksin analizlerinde tespit edilen ortalama aflatoksin B1 (AFB1) (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir. Numune alımlarından sonra yapılan analizlerde AFB1 değeri tespit edilebilir düzeyin altında kaldığı gözlenmiştir.

15 gün depolama sonunda kontrol, BE, OA ve TB gruplarında oluşan ortalama AFB1 değerleri sırasıyla 0.33, 0.26, 0.25, 0.28 µg/kg bulunmuştur. Gruplar arasındaki fark önemli olmamıştır ($P>0.05$).

30 gün depolama sonunda deneme gruplarında (kontrol, BE, OA ve TB) oluşan ortalama AFB1 değerleri sırasıyla 0.51, 0.31, 0.34, 0.33 µg/kg bulunmuş olup gruplar

arasındaki fark önemli olmuştur (P<0.05). Etlik piliç yemine ilave edilen her 3 koruyucunun da daha az aflatoksin oluşumuna sebep olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı katkılar ilave edilerek değişik sürelerde depolanan etlik piliç yemlerinde ortalama Aflatoksin B1(µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları

Gruplar	**Depolama Zamanı (gün)**					
	15	**30**	**45**	**60**	**SEM**	**P**
Kontrol	0.33^{C}	$0.51^{a\text{-}C}$	$0.77^{a\text{-}B}$	$0.89^{a\text{-}A}$	0.01	0.000
BE	0.26^{C}	$0.31^{b\text{-}C}$	$0.75^{b\text{-}A}$	$0.70^{c\text{-}B}$	0.01	0.000
OA	0.25^{C}	$0.34^{b\text{-}C}$	$0.73^{b\text{-}B}$	$0.85^{ab\text{-}A}$	0.02	0.000
TB	0.28^{C}	$0.33^{b\text{-}C}$	$0.57^{c\text{-}B}$	$0.81^{b\text{-}A}$	0.03	0.000
SEM	0.02	0.024	0.03	0.01		
P	0.156	0.012	0.022	0.001		

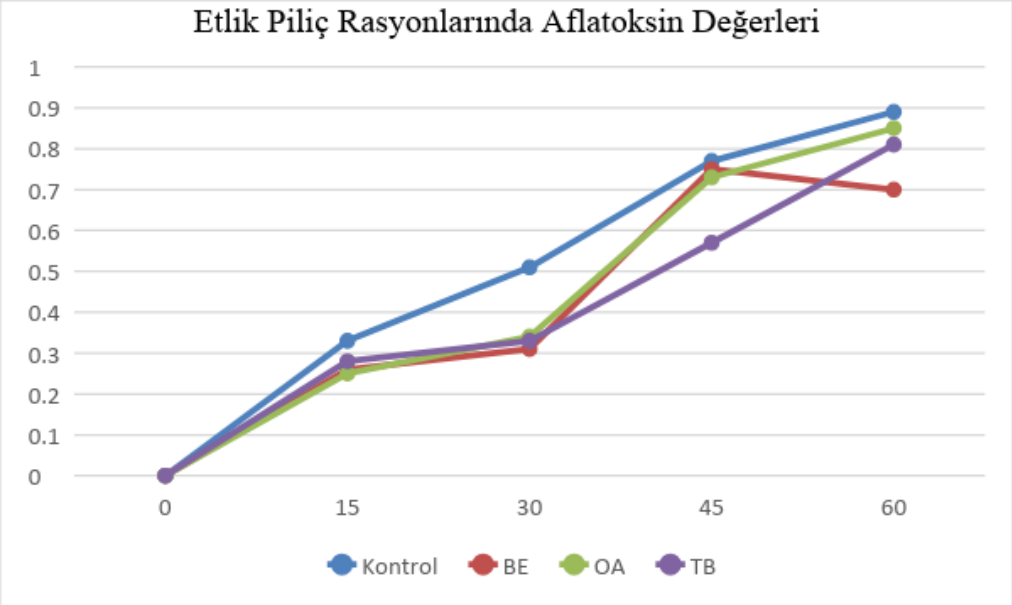
BE: Bitksel Ekstrakt; **OA:** Organik Asit; **TB:** Toksin Bağlayıcı
SEM: Ortalamanın Standart Hatası
A,B,C: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır.
a,b,c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır.

Kontrol ve BE, OA, TB ilaveli etçi piliç karma yemlerinin 45 günlük depolama ile oluşan ortalama AFB1 değerleri sırasıyla 0.77, 0.75, 0.73, 0.57 µg/kg olarak bulunmuştur. Gruplar arasındaki fark önemli olmuştur (P<0.05). Burada da toksin bağlayıcının diğerlerine oranla daha etkili olduğu görülmüştür. BE ve OA 45 gün depolamada eşit etki gösterirken karma yeme TB ilavesinin AFB1 oluşumunu en fazla baskılayan katkı maddesi olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

60 gün depolama sonunda kontrol, BE, OA ve TB gruplarında meydana gelen ortalama AFB1 değerleri sırasıyla 0.89, 0.70, 0.85, 0.81 µg/kg saptanırken gruplar arasındaki fark önemli olarak tespit edilmiştir (P<0.05). Çizelge 4.4'ten de görüleceği gibi 60 günlük depolamada BE grubundan elde edilen AFB1 değerlerinin kontrol ve diğer muamele gruplarından elde edilen değerlere göre daha az olduğu belirlenmiştir (Soliman and Badeaa 2002).

Etlik piliç karma yemi ile hazırlanan kontrol, BE, OA ve TB gruplarının AFB1 oluşum değerleri bakımından zamanla birlikte gösterdikleri ortalama değişim değerleri Çizelge

4.4'te, değişim grafiği ise Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Çizelge 4.4 incelendiğinde kontrol grubunun AFB1 değerlerinin zamanla birlikte arttığı görülmüştür ($P<0.05$). En düşük değerin 0. günde yapılan analizde, en yüksek değerin ise giderek artan bir şekilde 60. gün analizlerinde gerçekleştiği saptanmıştır (Çizelge 4.4.). Etlik piliç karma yemine bitkisel ekstrakt ilavesinin zamanla birlikte AFB1 oluşumu üzerine etkisi incelendiğinde zamanın önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Yeme BE (kekik ekstraktı) ilavesi ile en yüksek AFB1 değerinin 45. günde gerçekleştiği gözlenmiştir. Bitkisel ekstraktın uzun dönem depolamada (60 gün) AFB1 oluşumunu en fazla baskılayan katkı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). AFB1 oluşumunu önlemek amacıyla etlik piliç karma yemine OA (propiyonik asit) ilavesi ile depolama süresinin etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Etlik piliç karma yemine TB (MTX) ilavesinin zamanla birlikte AFB1 oluşumu üzerine etkisi incelendiğinde 45. gün etkinin azaldığı en az etkinin 60. günde gerçekleştiği belirlenmiştir (Çizelde 4.4; Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Etlik piliç yemine ilave edilen farklı katkıların zamanla birlikte AFB1 oluşumu üzerine etkileri

4.2.2. Fumonisin B1 değerleri

Etlik piliç yemi kullanılarak oluşturulan kontrol, BE, OA ve TB gruplarının 15, 30, 45 ve 60 gün depolama sonrası yapılan mikotoksin analizleriyle belirlenen ortalama Fumonisin B1 (FB1) (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5'de sunulmuştur. Numune alımlarından sonra yapılan analizlerde FB1 oluşumu 590. 67 µg/kg olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5. Farklı katkılar ilave edilerek değişik sürelerde depolanan etlik piliç yemlerinde ortalama Fumonisin B1 (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları

Gruplar	**Depolama Zamanı (gün)**					
	15	**30**	**45**	**60**	**SEM**	**P**
Kontrol	$678.63^{a\text{-}A}$	655.40^{A}	$634.46^{b\text{-}A}$	$641.78^{b\text{-}A}$	13.67	0.043
BE	$568.85^{c\text{-}C}$	592.10^{AB}	$614.47^{c\text{-}AB}$	$635.08^{b\text{-}A}$	12.31	0.041
OA	$571.60^{c\text{-}C}$	603.76^{B}	$610.66^{c\text{-}B}$	$680.46^{a\text{-}A}$	3.40	0.000
TB	$621.78^{b\text{-}C}$	591.70^{D}	$648.67^{a\text{-}B}$	$676.17^{a\text{-}A}$	3.00	0.000
SEM	7.40	18.00	1.34	7.42		
P	0.001	0.170	0.000	0.000		

BE: Bitksel Ekstrakt; OA: Organik Asit; TB: Toksin Bağlayıcı
SEM: Ortalamanın Standart Hatası
A,B,C: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır.
a,b,c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır.

15.gün depolama sonunda kontrol, BE, OA ve TB gruplarında meydana gelen ortalama FB1 değerleri sırasıyla 678.63, 568.85, 571.60, 621.78 µg/kg tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki fark önemli saptanmıştır ($P<0.01$). Çizelge 4.5 incelendiğinde sırasıyla bitkisel ekstrakt, organik asit ve toksin bağlayıcının kontrole göre FB1 oluşumunu baskılayıcı etkilerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Adams (1985), organik asitleri (propionik, sorbik, laktik ve asetik asit tuz karışımlarının) kullanarak 9 gün depoladığı tavuk yemindeki küf miktarında azalma tespit etmiştir. Adams (1985)'ın bildirişleri mevcut çalışmada 15.gün elde edilen sonuçlarla paralellik göstermiştir.

Etçi piliç karma yeminden oluşturulan kontrol, BE, OA ve TB gruplarında 30 gün depolama sonucunda oluşan ortalama FB1 değerleri sırasıyla 655.40, 592.10, 603.76,

591.70 µg/kg olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasında anlamlı bir farkın olmadığı gözlenmiştir (P>0.05).

45.gün depolamada oluşan ortalama FB1 değerleri gruplarda (kontrol, BE, OA ve TB) sırasıyla 634.46, 614.47, 610.66, 648.67 µg/kg bulunmuştur. Gruplar arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.01). FB1 oluşumu üzerine BE ve OA ilavesinin daha etkili olduğu, TB ilavesinin ise kontrolle benzer çıktığı gözlenmiştir (Çizelge 4.5).

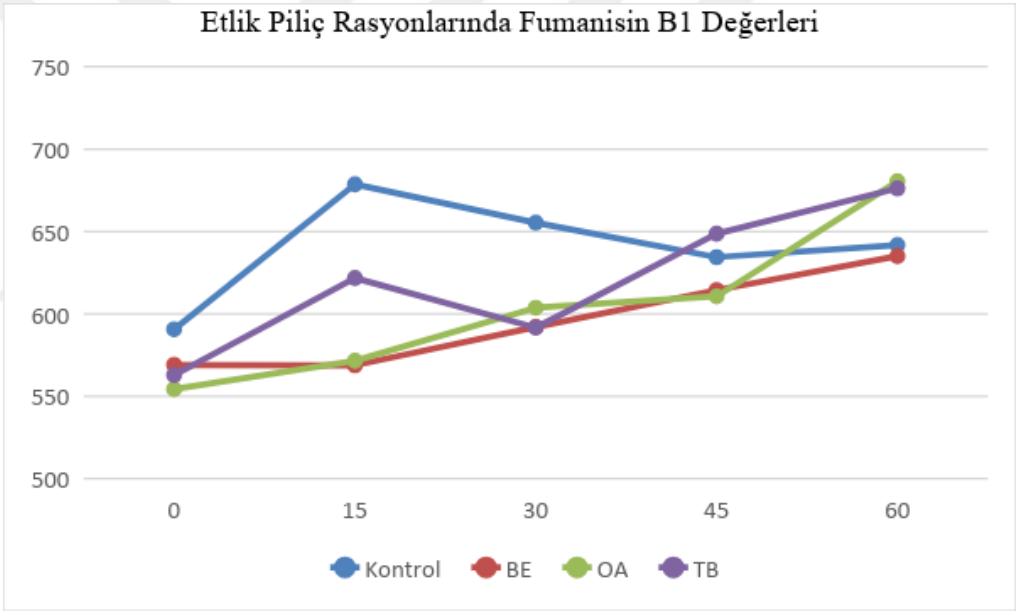
Kontrol, BE, OA ve TB gruplarında 60 gün depolama sonunda meydana gelen ortalama FB1 değerleri sırasıyla 641.78, 635.08, 680.46, 676.46 µg/kg bulunmuş olup gruplar arasındaki fark önemli olmuştur (P<0.01). Bitkisel ekstrakt ilave edilen etlik piliç yemi örneğinde FB1 oluşumu, organik asit ve toksin bağlayıcı ilave edilen örneklerde tespit edilen değerlerden daha düşük bulunmuştur (Çizelge 4.5).

Etlik piliç yemi ile oluşturulan kontrol, BE, OA ve TB gruplarının FB1 oluşum değerleri bakımından zamanla birlikte gösterdikleri ortalama değişim değerleri Çizelge 4.5'te ve değişim grafiği Şekil 4. 5'te gösterilmiştir. Çizelge 4.5'e bakıldığında kontrol grubunun ortalama FB1 değerlerinin zamanla birlikte arttığı tespit edilmiştir (P<0.05). Besin veya besin hammaddesi mikroorganizmaların etkilerine karşı korunmasız bir biçimde bırakıldığında besin maddesinde çürüme, kokuşma, küflenme meydana geldiği bildirilmektedir (Sırcı 2007).

Etlik piliç karma yemine bitkisel ekstrakt ilavesinin zamanla birlikte FB1 oluşumu üzerine etkisi incelendiğinde zamanın önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.05). Yeme BE (kekik ekstraktı) ilavesi ile 30 ve 45 gün depolamada FB1oluşumu üzerine etkinin giderek azaldığı ve 60. günde en aza düştüğü gözlenmiştir (Çizelge 4.5). FB1 oluşumunu önlemek amacıyla etlik piliç karma yemine OA (propiyonik asit) ilavesi ile zamanla etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.01). OA'nın yeme ilavesi ile artan zamanla birlikte yemde koruyucu etkisinin azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Etlik piliç karma yemine TB (MTX) ilavesinin zamanla birlikte ortalama FB1 oluşumu üzerine etkisi önemli olmuştur (P<0.01). 15. gün yapılan analizlerle karşılaştırıldığında

yeme TB ilavesinin etkisiz olduğu artan zamanla FB1 toksin üretiminin arttığı tespit edilmiştir (Çizelde 4. 5; Şekil 4. 5).

Badeaa (2002), 12 bitki ekstratını (nane, papatya, tarçın, kekik, kadife çiçeği, fesleğen vb.), Aspergillus ve Fusarium türlerine karşı test etmiş ve Aspergillus ve Fusarium türlerinin bitki ekstratlarının hepsine duyarlı olduğunu, özellikle de kekik ve tarçına karşı daha fazla duyarlı olduğunu tespit etmiştir. Yaptığımız çalışmada ise mikotoksin bağlayacı olarak kullandığımız kekiğin, Aflatoksin B1 ve Fumonisin B1- Fumonisin B2 oluşumlarını kontrole göre azalttığı görülmüştür.



Şekil 4.5. Etlik piliç yemine ilave edilen farklı katkıların zamanla birlikte FB1 oluşumu üzerine etkileri

4.2.3. Fumonisin B2 değerleri

Normal oda şartlarında etlik piliç yemlerine BE, OA ve TB ilave edilerek 15, 30, 45 ve 60 gün depolama sonrası yapılan mikotoksin analizlerindeki ortalama Fumonisin B2 (FB2) (µg/kg) değerleri Çizelge 4.6'da sunulmuştur. Numune alımlarından sonra yapılan analizlerde FB2 oluşumu 164. 07 µg/kg olarak tespit edilmiştir.

Şenköylü (1990) ve Adams (1987) organik asitlerin (propionik, sorbik, laktik ve asetik asit tuz karışımlarının) küf önleyici olarak kullanıldığı çalışmalarda daha az küf oluştuğunu ifade etmişlerdir. Adams (1987)'ın bildişleriyle mevcut çalışmadan elde edilen bulgular benzerlik göstermiştir. Organik asitler antimikrobiyel etkinliklerini çözünmeyen lipofilik kısımları ile sergilerler ve Gram (-) bakterilerin hücre zarından kolayca geçerek asit, yani H^+ iyonlarını serbest bırakarak ortamın pH'sını düşürürler. Hücre ise düşük pH'da normal aktivite gösterememekte, H^+-ATPaz aracılığıyla fazla protonu çıkarmaya ve hücre içi pH'yı yeniden dengelemeye çalışmaktadır. Bu esnada yüksek düzeyde enerji harcar ve hücrede asit anyonları birikir. Hücrenin uzun süre organik aside maruz kalması, enerji yetersizliği ve anyon birikimi sonucu ölümüne neden olmaktadır (Hassan *et al.* 2015; İpçak vd 2017). Böylece ortamda zararlı bakteriler azalıp faydalı bakteriler artar.

15 gün depolama sonunda deneme gruplarında oluşan ortalama FB2 değerleri sırasıyla 185.76, 164.60, 169.02, 173.28 µg/kg bulunmuştur (Çizelge 4.6). FB2 oluşumunu baskılama değerleri bakımından gruplar arasındaki fark önemli tespit edilmiştir ($P<0.05$). 15 günlük depolamada toksin oluşumunu (FB2) en fazla baskılayan koruyucuların sırasıyla bitkisel ekstrakt, organik asit ve toksin bağlayıcı katkıların olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.6).

Etçi piliç karma yeminden oluşturulan kontrol, BE, OA ve TB gruplarında 30 gün depolama sonucunda oluşan ortalama FB1 değerleri sırasıyla 179.49, 161.71, 164.81, 164.02 µg/kg olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki farkın önemli olduğu bulunmuştur ($P<0.05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 30 gün depolamada FB2 oluşumunu bütün katkı maddelerinin benzer olarak baskıladığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

45 gün depolama sonunda kontrol, BE, OA ve TB gruplarında oluşan ortalama FB2 değerleri sırasıyla 180.11, 173.54, 175.10, 184.42 µg/kg olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Etçi piliç yeminde 45 gün depolamada FB2 oluşumunu en etkili baskılayan katkının BE olduğu saptanmıştır.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında OA ilavesinin de FB2 toksin üretimini baskıladığı ancak TB ilavesinin etkisiz olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.6). Mevcut çalışmadan elde edilen bulgular, Parlat vd (2005)'nin mikotoksin bağlayıcı olarak bitki ekstraktlarını kullandığı çalışmada bildirdiği sonuçlarla benzerlik göstermiştir.

Çizelge 4.6. Farklı katkılar ilave edilerek değişik sürelerde depolanan etlik piliç yemlerinde ortalama Fumonisin B2 (µg/kg) değerleri ve varyans analiz sonuçları

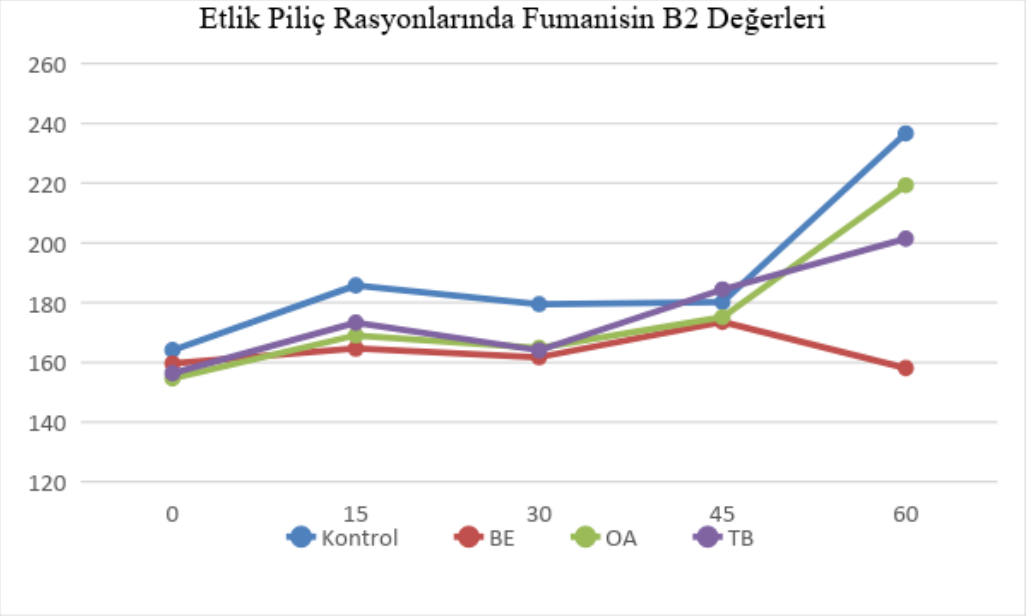
Gruplar	**Depolama Zamanı (gün)**					
	15	**30**	**45**	**60**	**SEM**	**P**
Kontrol	$185.76^{a\text{-}B}$	$179.49^{a\text{-}BC}$	$180.11^{b\text{-}B}$	$236.66^{a\text{-}A}$	5.64	0.002
BE	$164.60^{d\text{-}B}$	$161.71^{b\text{-}BC}$	$173.54^{c\text{-}A}$	$158.08^{c\text{-}C}$	1.68	0.007
OA	$169.02^{c\text{-}C}$	$164.81^{b\text{-}D}$	$175.10^{bc\text{-}B}$	$219.28^{ab\text{-}A}$	0.66	0.000
TB	$173.28^{b\text{-}C}$	$164.02^{b\text{-}C}$	$184.42^{a\text{-}B}$	$201.40^{b\text{-}A}$	1.14	0.000
SEM	0.57	1.47	1.35	6.33		
P	0.000	0.003	0.015	0.004		

BE: Bitksel Ekstrakt; OA: Organik Asit; TB: Toksin Bağlayıcı
SEM: Ortalamanın Standart Hatası
A,B,C: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır.
a,b,c: Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistik olarak birbirinden farklıdır.

Kontrol, BE, OA ve TB gruplarında 60 gün depolama sonunda meydana gelen ortalama FB2 değerleri sırasıyla 236.66, 158.08, 219.28, 201.40 µg/kg olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki FB2 değeri bakımından anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir ($P>0.05$). 60 gün depolamada FB2 oluşumunu en etkili baskılayan katkının BE olduğu, OA ve TB katkılarının benzer etki yaparak daha az etki gösterdiği belirlenmiştir.

Etlik piliç yemi ile oluşturulan kontrol, BE, OA ve TB gruplarının FB2 oluşum değerleri bakımından zamanla birlikte gösterdikleri ortalama değişim değerleri Çizelge 4.6'da ve değişim grafiği Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Çizelge 4.6 incelendiğinde kontrol grubunun ortalama FB2 değerlerinin zamanla arttığı gözlenmiştir ($P<0.01$). Etlik piliç karma yemine bitkisel ekstrakt ilavesinin zamanla birlikte FB2 oluşumu üzerine etkisi incelendiğinde zamanın etkisinin önemli olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Yeme BE (kekik ekstraktı) ilavesi ile 60 günlük depolama süresinde FB2 toksin oluşumunu en yüksek seviyede baskıladığı belirlenmiştir (Çizelge 4.6). FB2 oluşumunu önlemek

amacıyla etlik piliç karma yemine OA (propiyonik asit) ve TB (MTX) ilavelerinin zamanla etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.01). OA ve TB'nin yeme ilavesi ile artan zamanla birlikte yemde koruyucu etkisinin azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.6; Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Etlik piliç yemine ilave edilen farklı katkıların zamanla birlikte FB2 oluşumu üzerine etkileri

Bugüne kadar konu ile ilgili olarak yürütülen çalışmalarda araştırmacılar tarafından tespit edilen sonuçlarla mevcut çalışmadan elde edilen bulgular arasında benzerlikler olduğu gibi farklılıklarda mevcuttur. Bu farklılıkların laboratuvar şartlarına, yemlerin kimyasal ve fiziksel yapılarına, yemlerin kimyasal kompozisyonlarına, yemlerin farklı dönem yemleri (Sırcı 2007) olabileceğine bağlayabiliriz. Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6.'daki kontrol örneklerinin 15.gün okumalarının 30.günlere göre yüksek olmasının ve benzer durumların cihazın tekrarlanabilirliğinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Mevcut çalışmada yapılan analiz sonuçlarına bakıldığında, yemlerde istenmeyen maddelerin kabul edilebilir en çok miktarları tebliğine göre genç kanatlı karma yemlerindeki 5 ppb'lik ve kanatlı karma yemlerindeki 20 ppb'lik değerlerin altında kalmıştır (Anonim 2014).

Aynı tebliğe göre Fumonisin B1+B2 için 20.000 ppb değerinin altında olduğu görülmüştür. Ayrıca mevcut çalışmada yumurtacı tavuk yemlerinde görülen aflatoksin ve fumonisin oluşumlarının, etlik piliç yemlerine nazaran daha az olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun yemlerin kimyasal kompozisyonlarından (Çizelge 3.1) kaynaklandığı düşünülmektedir.

5. SONUÇ

Karma yem formülasyonlarında kullanılan yem hammaddelerinin hasat, nakliye, karma yem üretim aşamaları ve depolama sırasında mikrobiyal kontaminasyon söz konusu olmaktadır. Kontamine yemlerin tüketilmesi sonucunda hem insan ve hayvan sağlığı hem de ekonomik anlamda kayıplar ciddi boyutlara gelebilmektedir. Mevcut çalışmada, normal oda şartlarınında 15, 30, 45 ve 60 gün depolanan yumurtacı tavuk ve etlik piliç karma yemlerinde mikotoksin önleyici olarak kullanılan yem katkı maddelerinin (bitksel ekstrakt (kekik ekstraktı), organik asit (propiyonik asit), toksin bağlayıcı (MTX)) ilavesinin aflatoksin B1 ile fumonisin B1 ve B2 oluşumu üzerine etkileri araştırılmıştır.

Deneme sonucunda yumurtacı tavuk yemlerinde görülen aflatoksin ve fumonisin oluşumlarının, etlik piliç yemlerine nazaran daha az olduğu belirlenmiştir. Ayrıca mikotoksin önleyici ilave edilemeyen örneklerde (kör) yapılan analizler sonucunda daha fazla toksin oluştuğu tespit edilmiştir. Gerek yumurtacı tavuk gerekse etlik piliç yemlerinde yapılan analizlere göre mikotoksin önleyicilerin aflatoksin ve fumonisin miktarları üzerine etkilerinin birbirlerine yakın olduğu saptanmıştır. Ancak, uzun dönem depolama (45 ve 60 gün) sonrası yapılan analizlerde bitkisel ekstraktın en etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak, timol ve kavrakrol gibi bileşenleri içermesi, sentetik ve kimyasal koruyuculara göre sağlık açısından daha güvenilir ve ekonomik olması nedeniyle kekik ekstraktının 165 - 450 günler arası yedirilen damızlık yumurta tavuğu ve 2-3 haftalık etlik piliç yemlerinde mikotoksin (Aflatoksin B1, Fumonisin B1 ve B2) inhibitörü olarak kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

Abdel-Wahhab, M.A., Hassan, A.M., Amer, H.A., Naguib, K.M., 2004. Prevention of fumonisin induced maternal and developmental toxicty in rats by certain plant extracts, 24(6), 469-474.

Adams, C.A., 1985. Feed Materials: Problems, detection and control of Moullds and Mycotoxins. The Feed Compounder, (3).

Adams, C.A., 1987. Origin and control of mycotoxins. Milling, 180 (2).

Anonim, 2004. Multi component mycotoxin analysis using LC/MS/MS, agillent application note 00394.

Anonim, 2013. Yemlerin Piyasaya Arzı ve Kullanımı Hakkında Yönetmelikte Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik (2013), T.C. Resmi Gazete, 28741, 20.08.2013

Anonim, 2014. Yemlerde İstenmeyen Maddeler Hakkında Tebliğ (Tebliğ no:2014/11). T.C. Resmi Gazete, 28977, 19.04.2014

Anonim, 2015. T.S. 324 Methods of Chemical Analysis of Oil Seed Meals. 21.12.2015

AOAC, 1994. Official method 991.31. Arlington, VA.

AOAC, 2003. 990.03 Protein (Crude) in Animal Feed Combustion Method. Official methods of analysis.

Araba, M., Wyatt, R.D., 1991. Ectects of sodium bentonite, hydrated sodium calcium aluminosilicate NovaSil, and etchocal a aflatoxicosis in broiler chickens Poultry Science, 70: 6-7.

Ayçiçek, H., Aksoy, A., Saygı, Ş., 2004. Ankara'da tüketilmekte olan bazı süt ürünleri ve gıda ürünlerindeki aflatoksin düzeylerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi 1.Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi / Bildiri Kitabı, 345-347.

Bayram, S.E., 2018. Denizli ili koşullarında organik yetiştirilen İzmir Kekiği (Origanum onites L.) bitkisinin beslenme durumları ve bazı Arda kalite öğeleri arasındaki ilişkiler. Harran Tarim ve Gıda Bilimleri Derg. 22(2): 225-235.

Busby, W.F., Wogan, G.N., 1984. Aflatoxins. In: Edwars F, ed. Chemical Carcinogens, 945-1136.

Charles, R., Hurburg, J.R., 1995. Mycotoxins in the grain market. World Grain,23-26.

Concon, J.M., 1988. Mold Mycotoxin Contamination of Food Products. In: Food Toxicology Part B: Contaminants and Addivites. New York: Marcel Dekker Inc, 677-770.

De Vries, J.W., Trucksess, M.W., Jackson, L.S., 2002. Mycotoxins and Food safety. Kluwer Academic./Plenum Publications, Newyork,1-298.

Eidelsburger, U., Garnsworthy, P.C., Wiseman, J., 2001. Feding Short-Chain Organic Acids to Pigs. Recent Developments in Pig Nutrition, 3: 107-121.

Gilbert, J., 2002. Validation of analytical methods for determining mycotoxins in foodstuffs. Trend Anal Chem., 21: 468-470.

Girgin, G., Başaran, N., Şahin, G., 2001. Dünyada ve Türkiye'de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 58(3): 97-118.

Gómez, J.V., Tarazona, A., Mateo-Castro, R., Gimeno-Adelantado, J.V., Jiménez, M., Mateo, E.M., 2018. Selected plant essential oils and their main active

components, a promising approach to inhibit aflatoxigenic fungi and aflatoxin production in food. Food Additives & Contaminants: Part A 17:1-15.

Goyal, R.K., 2011. Mycotoxin prevention and control in foodgrains. Prevention and control of mycotoxins in in foodgrains in India. http://www.fao.org/docrep/X5036E/x5036E17.htm Erişim tarihi 5 Eylül 2018.

Günaydın, Ş., Karaca, H., 2015. Küf gelişimi ve mikotoksin oluşumunun kontrolünde doğal bitki ekstraklarının kullanımı. Akademik Gıda, 13(2):173-182.

Gürses, M., Erdoğan, A., Çetin, B., 2004. Occurence of aflatoxin M1 in some cheese types sold in Erzurum, Turkey, 28: 527-530.

Herrman, T., 2002. Mycotoxins in feed grains and ingredients. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service, Manhattan, Kansas.

Hsueh, C.C., 1999. Liu Y, Freunds MS. Indirect electrochemical detection of type-B trichothecene mycotoxins, 71: 4075-4080.

Hussein, H.S., Brasel, J.M., 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals, 167: 101-134.

İpçak, H.H., Özüretmen, S., Özelçam, H., Ünlü, H.B., 2017. Hayvan Beslemede Doğal Koruyucular ve Etki Mekanizmaları Hayvansal Üretim, 58(1): 57-65.

Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U., Ilcim, A., 2001. Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of Thymus revolutus Celak from Turkey. Journal of Ethnopharmacology, 76: 183-186.

Kaya, Ş., 2007. Yem kaynaklarında mikotoksinler, etkileri ve alınacak önlemler. MKU Ziraat Fak. Derg, 12(1-2): 17-26.

Kaya, S., Pirinçci, İ., Bilgili, A., 2002. Mikotoksinler. In Kaya S, Pirinçci İ, Bilgili A, eds. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji, 537-574.

Kocic- Tanackov, S.D., Dimic, G.R., 2013. Antifungal activity of essential oils in the control of food-borne fungi growth and mycotoxin biosynthesis in food. University of Novi Sad, Faculty of Technology. Novi Sad. Serbia.

Kök, Z., 2006. Aydın ili ve çevresinde üretilen süt ve süt ürünlerinde aflatoksin varlığının araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı. Aydın.

Kumar, A., Shukla, R., Singh, P., Dubey, N.K., 2008. Assessment of Thymus vulgaris L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. Innovative Food Sci. Emerging Technol., 9: 575-580.

Lowe, R., 1999. Sicherung und Verbesserung des HYgiene-Status in Mischfutterwerken durch Einsatz von organischen Sauren. Muhle + Mischfuttertechnik 136 (11): 321-325.

Menniti, A.M., 2010. Activite of natural compounds on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production in stored maize kernels. International Journal of Food Microbiology, 136: 304-309.

Oğuz, H., 2017. Mikotoksinlerin Önemi. Selçuk Üniversitesi Türkiye Klinikleri Bilimleri Dergisi, 3(2): 113-119.

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

Parlat, S.S., Yıldız, A.Ö., Cufadar, Y., Olgun, O., 2005. Japon bıldırcınlarında deneysel aflatoksin zehirlenmesine karşı kekik uçucu yağı (Origanum vulgare L.) kullanımı. SÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 19(36): 1-6.

Patil, R.D., Sharma, R., Kumar Asrani, R., 2014. Mycotoxicosis and its control in poultry: A review. Journal of Poultry Science and Technology, 2(1): 01-10.

Pérez-Alfonso, C., Martínez-Romero, O.D., Zapata, P.J., Serrano, M., Valero, D., Castillo, S., 2012. The effects of essential oils carvacrol and thymol on growth of Penicillium digitatum and P. italicum involved in lemon decay. International Journal of Food Microbiology, 158 (2): 101-106.

Philips, T.D., Kubana, L.F., Harvey, R.B., Taylor, D.R., Heidelbaugh, N.D., 1988. Hydrated sodium calcium aluminosilicate A high affinity sorbent for aflatoxin, 67: 243-247.

Pitt, J.I., 2000. Toxigenic fungi: Which are important. Med Myology, 38 (suppl. 1): 17-22.

Razzai-Fazeli, E., Böhm, J., Luf, W., 1999. Determination of nivalenol and deoxinivalenol in wheat using liguid chromatography-mass spectrometry with negative ion atmospheric pressure chemical ionisation, Journal of Chromatography A, 854: 45-55.

Sabuncuoğlu, S., 2008. Mikotoksinler toksik etkileri, degredasyonları oluşumlarının önlenmesi ve zararlı etkilerinin azaltılması. Hacettepe Universitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 28(1): 63-92.

Sadler, T.W., Merrill, A.H., Stevens, V.L., Sullards, M.C., Wang, P., 2002. Prevention of fumonisin B1 induced neural tube defects by folic acid, Teratology, 66 (4): 169-176.

Seefelder, W., Gossmann, M., Humpf, H.U., 2002. Analysis of Fumonisin B1 in Fusarium proliferatum infected asparagus spears and garlic bulbs from Germany by ligıid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(10): 2778-2781.

Sırcı, G., 2007. Organik asitlerin hayvansal ve bitkisel protein kaynaklarına ilavesinin yem mikrobiyolojisi üzerine etkileri. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. Zootekni Anabilim Dalı.

Smith, J.E., Moss, M.O., 1985. Mycotoxins: Formation, Analysis and Significance. John Wiley and Sons. New York. 146 p.

Soffrizzo, M., Visconti, A., Avantaggrado, G., Torres, A., Chulze, S., 2001. In vitro in vivo studies to assess the effectrvenses of ccholesttyromine as a binding gat for fumonisin. Mycopathologia, 151: 147-153.

Solfrizzo, M., Avantaggiato, G., Visconti, A., 1997. Rapid method to determine sphinganine/sphingosine in human and animal urine as a biomarker for fumonisin exposure. J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl., 692: 87-93.

Soliman, K.M., and Badeaa, R.I., 2002. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food and Chemical Toxicology, 40: 1669-1675.

Steyn, P.S., Stander, MA., 1999. Mycotoxins with Special Reference to the Carcinogenic Mycotoxins: Aflatoxins, Ochratoxins and Fumonisins. In: Ballantyne B, Marrs TC, Syversen TLM, eds. General and Applied Toxicology 2145-2176.

Şahin, T., Şehu, A., 2015. Yemlerde mikotoksinler ve toksinleri azaltma yolları. Türkiye Klinikleri J Anim Nutr& Nutr Dis-Special Topics,1(1):54-65.

Şamlı, H.E., Şenköylü, N., Ağma, A., 2005. Kanatlı Beslemede Organik Asitlerin Kullanımı. Hasad Hayvancılık Dergisi, 28-29.

Şanlı, Y., Kaya, S., 1993. Veteriner İlaç Rehberi ve Uygulamalı Bilgiler El Kitabı. Ankara: Medisan yayınları

Şanlı, Y., 2000. Yem küflenmeleri, mikotoksinler ve kontrol yöntemleri. Çiftlik Derg, 83-98.

Şener, S., Yıldırım, M., 1990. Veteriner Toksikoloji. İstanbul: Teknik Yayıncılık, 240-252.

Şenköylü, N., 1990. The effect of tallow and soapstock upon broiler performance. Poult. Sci., 69: 57.

Şentürk Demirel, D., Demirel, R., Doran, İ., 2010. Doğal zeolitlerin hayvancılıkta kullanım olanakları. Harran Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 14(2): 13-20.

Tonapi, V.A., Umakanth, A.V., Kannababu, N., Madhusudhana, R., 2004. Preservation of High Moisture Sorghum Seeds with Certain Mild Acids. Journal of Research. 32 (2): 40-45.

Tunail, N., 2000. Aflatoksinlerin Detoksifikasyonu. In, Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamalar. Sim Matbaacılık, Ankara,522.

Türel, G.Y., Calapoğlu, N.Ş., 2017. Mikotoksinler ve moleküler düzeydeki etkileri. SDÜ. Tıp Fak. Derg., 24(1): 24-28.

Ünlütürk, A., Turantaş, F., 2002. Gıda mikrobiyoloji. İzmir: Mengi Tan Basımevi, 155-156.

Wang, E., Riley, R.T., Meredith, F.I., Merrill, A.H., 1999. Fumonisin B1 consumption by rats causes reversible, dosedependent increases in urinary sphinganine and sphingosine. Journal of Nutrition, 129(1): 214-20.

Yiannikouris, A., Jouany, J.P., 2002. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. Anim. Res., 51: 81-99.

Yin, H.B., Chen, C.H. Kollanoor-Johny A., Darre, M.J. and Venkitanarayanan, K., 2015. Controlling Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus growth and aflatoxin production in poultry feed using carvacrol and trans-cinnamaldehyde. Poultry Science 94(9):2183-2190.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Kocaeli'de doğdu. İlköğrenimini Kocaeli'de tamamladı. Lise öğrenimini İstanbul Selimiye Veteriner Sağlık Meslek Lisesi'nde yaptı. 1998 yılında Sakarya ili Karasu ilçesinde Veteriner Sağlık Teknisyeni olarak göreve başladı. Uludağ Üniversitesi Karacabey Meslek Yüksek Okulu Hayvan Yetiştiriciliği ve Sağlığı Önlisans Programını bitirdi. 2011-2014 yıllarında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde öğrenimini tamamladı. 2015 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitünde yüksek lisans eğitimine başladı. Halen Kocaeli Gıda kontrol Laboratuvar Müdürlüğünde Ziraat Mühendisi olarak görev yapmaktadır.