



**ERZURUM PİYASASINDA SATIŞA SUNULAN
YUMURTALARDA BAZI MİKOTOKSİNLERİN VE
KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Seda Nur ARSLAN
Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Sevda URÇAR GELEN

Yüksek Lisans Tezi-2023



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

**ERZURUM PİYASASINDA SATIŞA SUNULAN
YUMURTALARDA BAZI MİKOTOKSİNLERİN VE
KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Seda Nur ARSLAN

**Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Dr. Öğr. Üyesi Sevda URÇAR GELEN**

**ERZURUM
2023**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Yumurta	3
2.2. Yumurtanın İç ve Dış Kalite Özellikleri.....	4
2.3. Yumurtanın Kalite Sınıflandırması.....	5
2.4. Yumurta Kabuğu Mikrobiyal Kalitesi.....	7
2.5. Mikotoksinler.....	10
2.5.1. Mikotoksinlerin Oluşumuna Etki Eden Unsurlar	11
2.5.2. Yumurtadaki Mikotoksinler.....	14
2.5.2.1. Aflatoksinler	14
2.5.2.2. Okratoksinler	17
2.5.2.3. Fumonisinler	19
2.5.2.4. Zearalenon	22
2.5.2.5. Deoxynivaneol	25
2.5.3. Mikotoksinlerin Belirlenme Yöntemleri.....	26
3. MATERYAL VE METOT.....	34
3.1. Materyal	34

3.2. Metot.....	34
3.2.1. Mikrobiyolojik Analizler	34
3.2.1.1. Yumurta Kabuğu Yüzeyinin Mikrobiyolojik Olarak Hazırlanması	34
3.2.1.2. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB) Sayımı.....	34
3.2.1.3. Toplam Psikotrofik Aerobik Bakteri (TPAB) Sayımı	34
3.2.1.4. Koliform Bakteri Sayımı	35
3.2.1.5. Maya ve Küf Sayısının Belirlenmesi	35
3.2.1.6. <i>Micrococcus-Staphylococcus</i> Sayısının Belirlenmesi.....	35
3.2.2. Fizikokimyasal Analizler	35
3.2.2.1. pH Analizi.....	35
3.2.2.2. Renk Analizi	35
3.2.2.3. Su Aktivitesinin Belirlenmesi	36
3.2.3. Yumurtada Mikotoksin Analizi	36
3.2.3.1. Yumurta Örneklerinin Mikotoksin Analizi İçin Hazırlanması	36
3.2.3.2. ELİSA Kiti Çalışma Prosedürü.....	36
4. BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR	46
EKLER	60
EK-1. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	60
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	61

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sevda URÇAR GELEN' e en derin saygı ve şükranlarımı sunarım. Ayrıca bu çalışmayı 10698 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederim. Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mustafa ATASEVER'e en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez kapsamındaki çalışmalarım esnasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen arkadaşlarıma, yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen aileme teşekkür ederim.

SEDA NUR ARSLAN

ÖZET

Erzurum Piyasasında Satışa Sunulan Yumurtalarda Bazı Mikotoksinlerin ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi

Amaç: Bu çalışmada Erzurum ili piyasasında satışa sunulan yumurtaların bazı kimyasal ve mikrobiyal kalite kriterleri ve bazı mikotoksinlerin varlığını araştırmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Erzurum piyasasından temin edilen yumurtalar soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek kimyasal olarak pH, aw ve renk parametreleri (L, a ve b) incelenmiştir. Mikrobiyolojik olarak TMAB, TPAB, Maya-küf, Koliform bakteri ve *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı konvensiyonel olarak belirlenmiştir. Ayrıca yumurta örneklerindeki AFB1, AFG1, deoksinivalenol (DON), okratoksin (OTA) ve zearalenon (ZEA) mikotoksinlerinin varlığı ELİSA metodu ile incelenmiştir.

Bulgular: Yumurta örneklerinin kimyasal analizleri ak ve sarı kısımlarında yapılmış olup, ak kısmının pH, L, a ve b değerleri sırasıyla 9.15 ± 0.09 , 61.93 ± 5.86 , -4.45 ± 0.79 ve 13.51 ± 2.76 olarak bulunmuştur. Sarı kısmının pH, L, a ve b değerleri sırasıyla 6.66 ± 0.23 , 60.07 ± 4.95 , 6.00 ± 3.81 ve 49.67 ± 5.52 olarak belirlenmiştir. Yumurta örneklerinin ortalama a_w değeri 0.997 ± 0.003 seviyesindedir. Örneklerin TMAB, TPAB, Maya-küf ve *Staphylococcus-Micrococcus* sayıları sırasıyla 3.26 ± 0.67 , 3.40 ± 0.77 , 2.50 ± 0.84 ve 3.29 ± 0.74 olarak belirlenmiştir. Yumurta örneklerinin %12.5'i AFB1, %87.5'i AFG1, %30'u DON, %12.5'i OTA ve %12.5'i ZEA mikotoksinleri yönünden pozitif bulunmuştur.

Sonuç: Yumurta zengin besin içeriği dolayısıyla hem kimyasal hem de mikrobiyal bozulmalara karşı oldukça duyarlı bir gıda maddesidir. Bu nedenle, üretim, taşıma ve depolama aşamalarının her birinde yumurtaların kalitesini korumak ve gıda güvenliğinin sağlanması için doğru stratejilerin uygulanması önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Aflatoksin, kalite, mikotoksin, yumurta

ABSTRACT

Determination of Some Mycotoxins and Quality Properties in Eggs For Sale in Erzurum Market

Objective: In this study, some chemical and microbial characteristics of eggs offered for sale in the market of Erzurum province were determined. The aim was to investigate the presence of some mycotoxins.

Material and method: Eggs offered for sale in Erzurum market were brought to the laboratory under cold chain and chemically analyzed for pH, aw and color parameters (L, a and b). Microbiologically, the count of TMAB, TPAB, yeast-mold, coliform bacteria and *Staphylococcus-Micrococcus* were determined by conventional methods. In addition, AFB1, AFG1, Deoxynivalenol (DON), Ochratoxin (OTA) and Zearalenon (ZEA) mycotoxins were analyzed in egg samples by ELISA method.

Results: Chemical analyzes of egg samples were performed on the white and yellow parts. The pH, L, a and b values of the white part were 9.15 ± 0.09 , 61.93 ± 5.86 , 4.45 ± 0.79 and 13.51 ± 2.76 , respectively. pH of the yellow part. The values of L, a and b were 6.66 ± 0.23 . It was determined as 60.07 ± 4.95 , 6.00 ± 3.81 and 49.67 ± 5.52 , respectively. The mean aw value of the egg samples was 0.997 ± 0.003 . The TMAB, TPAB, yeast mold and *Staphylococcus-Micrococcus* counts of the samples were determined to be 3.26 ± 0.67 , 3.40 ± 0.77 , 2.50 ± 0.84 and 3.29 ± 0.74 , respectively. 12.5% of egg samples were AFB1, 87.5% AFG1, 30% DON, 12.5% OTA were positive for ochratoxin and 12.5% for ZEA mycotoxins.

Conclusion: Due to its high nutritional content, egg is a very sensitive food in terms of both chemical and microbial spoilage. Therefore, it is important to apply the right strategies to protect egg quality and ensure food safety at every stage of production, transportation and storage.

Key words: Aflatoxin, quality, mycotoxin, egg

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AF	: Aflatoksin
AFB1	: Aflatoksin B1
AFB2	: Aflatoksin B2
AFG1	: Aflatoksin G1
AFG2	: Aflatoksin G2
AFM1	: Aflatoksin M1
AFM2	: Aflatoksin M2
aw	: Su aktivitesi
DNA	: Deoksiriboz Nükleit Asit
DON	: Deoksinivalenol
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FB1	: Fumonisin B1
FB2	: Fumonisin B2
FDA	: Amerikan Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
kg	: Kilogram
LC-MS/MS	: Liquid Chromotography Tandem Mass Spectrometry (Likit Kromatografi Ardışık Kütle Spektrometrisi)
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NOEL	: Gözlenebilir Etki Oluşturmayan Düzey
OTA	: Okratoksin A
OTB	: Okratoksin B
OTC	: Okratoksin C

TLC : Thin layer chromatography (İnce Tabaka Kromotografisi)
UV : Ultraviyole
ZEA : Zearalenon



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.2. Okratoksinlerin kimyasal yapıları	19
Şekil 2.3. Fumonisin yapısı	21
Şekil 2.4. Zearalenon yapısı	25



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Türk Standartları Enstitüsü natürel yumurta sınıfları	6
Tablo 4.1. Yumurta akı ve sarısının pH ve renk değerleri (L, a ve b değeri)	37
Tablo 4.2. Yumurta örneklerinin mikrobiyoloji (log kob/g) ve aw değerleri	37
Tablo 4.3. Yumurta örneklerindeki mikotoksin pozitif örnek sayısı ve oranları	38
Tablo 4.4. Yumurta örneklerinin mikotoksin değerleri (ppb).....	40



1. GİRİŞ

Yumurta besin içeriği yönünden sağlıklı beslenme için vazgeçilemez gıdalardan birisidir. Yumurta biyolojik değeri yüksek ve büyümeyi destekleyici bileşenler içermesi nedeniyle insanların beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Özellikle bebeklerin ve gelişmekte olan çocukların birçok temel besin maddesini almasında önemli bir role sahiptir. Bütün bir yumurta yaklaşık %12 protein içermektedir. Bu nedenle, bireyler günde bir yumurta tüketerek, günlük alması gereken hayvansal protein ihtiyacının önemli bir kısmını karşılamaktadır.

Yumurta içerdiği düşük kalori değeri (80 kcal) ve yüksek sindirilme özelliği sayesinde yaşlıların, hastaların ve diyet yapan insanların beslenmesinde yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Sarica ve Erensayın, 2009). Beslenme açısından biyolojik değeri yüksek olan yumurta, belli bir raf ömrüne sahiptir. Bu raf ömrü de ürünün üretim şartlarına ve saklama koşullarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Eke, 2013). Yumurta depolama süresi boyunca yapısında bulunan protein ve yağlarda değişimler gözlenmektedir. Yumurtada meydana gelen bu değişimler besleyici birtakım özelliklerinin azalmasına hatta kaybolmasına neden olmaktadır (Kralik, 2014). Muhafaza koşullarının doğru ayarlanamaması yumurtanın bozulma süresini kısaltacak ve buna bağlı olarak da besin değeri azalacaktır. Bu nedenle yumurtaların muhafaza şekli oldukça önemlidir. Ayrıca yumurta yapısı itibari ile uygun şartlarda depolanma süresi boyunca hem kimyasal değişimlere hem de mikrobiyolojik kontaminasyonlara karşı dayanıklıdır.

Gıdaların üretim, ambalajlama ve muhafazası esnasında hijyenik kurallara uyulmaması ve depolama şartlarının uygun olmaması durumunda hem kimyasal hem de mikrobiyal bozulmalar meydana gelebilmektedir. Meydana gelen bu bozukluklar hem besin değerinde kayıplara hem de gıda zehirlenmelerine sebep olabilmektedir. Ayrıca

uygun şartlarda depolanmaması yumurta da küf gelişimine hatta çeşitli mikotoksinlerin oluşumuna sebep olabilmektedir. Bu çalışmada Erzurum piyasasında satışa sunulan yumurtalar kimyasal, mikrobiyal özellikleri ile mikotoksinler yönünden incelenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yumurta

Yumurta esansiyel aminoasitler, vitamin, mineral ve esansiyel yağ asitlerini içeren, fonksiyonel bir gıda maddesidir (Lesnierowski ve Stangierski, 2018). Standart bir yumurta 57.6 g ağırlığında, 63 cc hacmindedir (Sarıca ve Erensayın, 2009). Yumurta, kabuk, alt kabuk zarı ve hava boşluğu, yumurta akı, vitellin zar ve sarı kısımdan oluşmaktadır.

Ortalama 58 g ağırlığındaki yumurta yaklaşık %11 kabuk (6.4g), %57 yumurta akı (32.9 g), %32 yumurta sarısından (18.7 g) oluşmaktadır. Çeşitli yumurta ürünlerinin üretiminde kabuksuz yumurta akı %55-57 ve sarısı ise %43-45 oranında ayrılmaktadır. Ayırma işleminden sonra yumurta sarısının yüzde oranı %43-45'ten daha fazla ise sarının etrafında kalan beyazın bir kısmından kaynaklanmaktadır (Sarıca ve Erensayın, 2009).

Bir yumurta yaklaşık 6-7 gram protein içermekte ve yumurta proteini, insanların beslenmesinde ihtiyaç duyduğu tüm temel amino asitleri içermektedir. Ayrıca yumurta yaklaşık 5-6 gram yağ ve 0.4 gramdan az karbonhidrat ihtiva etmektedir. Yumurtada bulunan yağın üçte ikisi doymamış yağ asitlerinden oluşmaktadır. Düşük kalorili bir besin olarak bilinen yumurta, C vitamini dışındaki tüm vitaminleri değişen miktarlarda içermektedir. Yumurta yağda eriyen vitaminler (A, D, E ve K) ve suda eriyen vitaminleri de (tiamin, riboflavin, pantotenik asit, niasin, folik asit ve B vitamini) ihtiva etmektedir. Çeşitli mineralleri de yapısında bulunduran yumurta, özellikle Fe, P, Cu, Ca ve Zn yönünden zengin olduğu bilinmektedir. Yumurtanın besin içeriği; yaş, cins, bireysel farklılıklar, yem içerikleri, ortam sıcaklığı, yumurta saklama koşulları, saklama süresi, yumurta işleme için hazırlama yöntemleri, pişirme ve işleme yöntemleri gibi faktörlerden etkilenmektedir.

2.2. Yumurtanın İç ve Dış Kalite Özellikleri

Yumurtanın dış kalite özellikleri; ağırlığı, şekil indeksi, özgül ağırlık, kırılma mukavemeti, kabuk kalınlığı, kabuk ağırlığı, yüzey alanı ve kırılabilirlikten oluşmaktadır. Yumurtanın iç kalite özellikleri ise beyaz indeks, sarı indeks, haugh birimi, sarı kısmında kan ve et lekelenmelerini içermektedir. Yumurta ağırlığı, genellikle yumurta boyutunun bir ölçüsü olarak ifade edilir. Hassas terazi ile ölçülen yumurtanın şekil indeksi, en/boy oranı ile ifade edilmektedir. Ticari olarak ve kuluçka açısından ideal bir yumurtanın şekil indeksi %74 seviyesindedir. Yumurta kabuğu kalitesi renk, temizlik, kalınlık, kırılmaya karşı dayanıklılık gibi kriterlerle belirlenmektedir. Yumurta kabuğu kalınlığı mikrometre ile ölçülmektedir (Şekeroğlu ve ark., 2005; Karademir, 2018, s.8-10).

Yumurtanın küt, orta ve sivri kısımlarından kabuk örnekleri hasar giderildikten sonra ölçülmektedir. Yumurtalarda kabuk kalınlığı 0.30-0.35 mm arasındadır. Bir yumurta kabuğunun dayanıklılığı, çatlamaya karşı direnci ölçülerek belirlenmektedir. Bir yumurtanın kırılma direnci kg ya da Newton cinsinden ölçülmektedir. Kabuktaki belirgin ve açık gözenekler depolama süresine bağlı olarak artabilmektedir. Açık gözenek sayısı, yumurtanın metilen mavisi veya kristal viyole çözeltisine daldırılarak, belirli bir yüzeydeki gözeneklerin sayılmasıyla belirlenmektedir (Şekeroğlu ve ark., 2005; Karademir 2018, s.8-10).

Yumurta kabuğu ağırlığının tüm yumurta ağırlığına oranıyla belirlenen kabuk yüzdesi, yaş ve yumurta ağırlığı ters orantılı olarak azalmaktadır. Özgül ağırlığı belirlemek için kullanılan diğer bir yöntem de farklı yoğunluklarda NaCl çözeltileri kullanmaktır. Yemle alınan Ca, P, K, Mn ve Cu mineralleri, genetik yapı, hastalıklar ve ilaçlar, yumurtlama döngüsü, gün olarak yaş, yumurtlama yılı ve beslenme faktörleri yumurta kabuk kalitesini etkilemektedir. Çevresel faktörler, özellikle sıcaklık, yumurta

kabuğu kalitesini olumsuz etkileyebilmektedir. Yumurta iç kalite özelliklerinin belirlenmesi için koyu ak yüksekliği ve sarı yüksekliği 1/100 mm hassasiyetle tripod mikrometre ile, yumurta akı uzunluğu ve genişliği ile sarısının çapı ölçülebilmektedir (Efil ve Sarıca, 1997).

2.3. Yumurtanın Kalite Sınıflandırması

Yumurtaları kalitelerine göre sınıflandırmak için uluslararası standartlar kullanılmaktadır. Bu özellikler dikkate alındığında, uluslararası yumurta ticareti kapsamında kullanılan kalite standartları ortaya çıkmıştır. Ülkemizde Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından geliştirilen yumurta standartları da benzerlik göstermektedir. Standartları karşılayan yumurtalar hem iç tüketim için hem de Türkiye'deki ihracat kapsamı açısından önem arz etmektedir. Tablo.1'de TSE natürel yumurta sınıfları verilmiştir.

Yumurtalar özelliklerine göre A, B ve C olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Yumurta kalitesi belirlenirken yumurtaların iç ve dış kalite özelliklerini sınıflandıran ticari bir yöntem kullanılmaktadır. Sınıflandırmaya göre dış kalite özelliklerini göz önünde bulundurularak kabuk temizliği ve dayanıklılığı (çatlaklar ve yapı), kabuk rengi, yumurta şekli ve ağırlığı dikkate alınmaktadır. İç kalite özellikleri; hava boşluğunun büyüklüğü ve konumu, akının yüksekliği ve Haugh birim değeri, sarının durumu, kan lekeleri ve benzeri anormallikler, yumurtanın sarısı ve beyazının kendine özgü bir tada sahip olması, rengi ve kokusu ve küflü, bozuk veya çürümüş olma durumunu içermektedir (Karademir, 2018, s. 8-10).

Hayvansal Gıdalar İçin Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliği ile hijyen kuralları belirlenen evcil tavuktan elde edilen yumurta için; Türk Gıda Kodeksi Yumurta Tebliği (RG:20/12/2014-29211) kapsamında, doğrudan insan tüketimine sunulan “A sınıfı yumurta”lar için özel kriterler ve A sınıfı yumurtalarda tanımlama işareti yerine

kullanılabilecek yetiştirme metodu kodu ile işletme ve kümes numarasının yumurta kabuğu üzerine ne şekilde damgalanması gerektiğine yönelik özel hükümler belirlenmiştir (Türk Gıda Kodeksi Yumurta Tebliği (RG:20/12/2014-29211)). Paketlemeye gönderilecek yumurtalar için; toplanma tarihi ve toplanan yumurta sayısı, yumurtlama tarihi/dönemi, üreticilerin adı, adresi ve yetiştirme metodu, işletme ve kümes numarası, paketleme merkezlerine yapılan sevkiyatların tarihleri ve miktarlarına ilişkin kayıtların tutulması gerekmektedir.

Tablo 2.1. Türk Standartları Enstitüsü natürel yumurta sınıfları

Sınıf	Kabuk	Hava boşluğu	Ak	Sarı
AA	Temiz, sağlam, şekli normal	Küt kısmında sabit ve yuvarlak, derinliği 4 mm'den az	Berrak, yoğunluğu tam, Haugh birimi 79 ve daha yüksek	Tam ortada, çevresi hafif belli veya belirsiz
A	Temiz, sağlam, şekli normal	Geniş tarafta normal ve sabit, derinliği 6 mm'ye kadar	Berrak, oldukça yoğun, Haugh birimi 55-78	Ortada, çevresi oldukça belirgin
B	Temiz, sağlam, şekli az normal	Derinliği 9 mm'ye kadar, hareketli	Berrak, az yoğun olabilir, Haugh birimi 31-54	Ortadan uzaklaşmış, genişlemiş ve yassılaşmış, çevresi belirgin
C	Temiz, sağlam, şekli anormal olabilir	Derinliği 12 mm'ye kadar, hareketli tam serbest veya kabarcıklı	Berrak, yoğunluğu kaybolmuş, Haugh birimi 30 ve daha az	Ortadan uzaklaşmış, genişlemiş, yuvarlaklığını kaybetmiş, serbest ve çevresi belirgin. Hafif embriyo gelişmeside olsa da kan halkaları olmamalıdır

Türk Gıda Kodeksi Yumurta Tebliği'nde gıda sanayinde kullanılacak "B sınıfı yumurta" olarak tanımlanan yumurtalar için özel kriterler de yer almaktadır. Sofralık yumurta olarak satışa sunulamayan B sınıfı yumurtalar, üretim yerinden veya paketleme merkezlerinden, direkt olarak işlenecekleri yumurta ürünleri üretimine dair "Onay Belgesi" almış olan işletmelere (sıvı yumurta ve işleme tesisleri) getirilerek işlenir. Gıda sanayinde ve gıda dışı sanayide kullanılacak olan bu yumurtalar, gıda işletmecisinin

sadece bu amaçlar için kullanılacağını taahhüt etmesi halinde işaretlenmez ve ağırlığa göre sınıflandırılmaz. B sınıfı yumurtaların ambalajı üzerinde “B sınıfı” ifadesi veya “B” harfi yer alır. B sınıfı yumurtanın sınıfını simgeleyen harf, yüksekliği en az 5 mm olmak ve çevresinde en az 12 mm çapında bir çember bulunmak koşulu ile yumurta üzerine damgalanabilir. B sınıfı yumurtanın ambalajı üzerine son tüketim tarihi ile birlikte paketleme tarihi de yazılır (Çanga, 2021).

2.4. Yumurta Kabuğu Mikrobiyal Kalitesi

Yumurta kabuğu homojen bir yapıya sahip değildir. Kabuğun iç ve dış olmak üzere iki ana katmanı vardır. Dış katman daha kalındır ve minerallerin çoğunu içerir. Kabuk yüzeyinde mikro gözenek adı verilen yaklaşık 6000-8000 mikroskobik gözenek içerir. Bu gözenekler, su buharı ve gazların kabuk içeriği ile dış atmosfer arasında geçişine izin vermektedir (Koelkebeck, 1999). Ortalama gözenek boyutu 9-30 µm arasında değişmektedir. Çoğu gözenek boyutu, çoğu mikroorganizmanın geçişine izin vermektedir. Maya hücreleri ve küf miselleri bile gözeneklerden geçebilmektedir. Yumurta kabuğunun gözenekliliği ile yumurtanın kirlenmesi arasında doğrudan bir ilişki bulunmaktadır. Yumurta kabuğu ağırlığı ve kabuk kalınlığı ile mikroorganizmaların kabuğa geçişi arasında bir ilişki yoktur. Bununla birlikte, ince yumurta kabukları, kalın olanlara göre çatlamaya daha yatkındır ve çatlamış yumurtalarda bakteri transferi ve bozulma daha hızlı gerçekleşmektedir (Banwart, 1989).

Yumurtlama sırasında yumurtanın sıcaklığı ortam sıcaklığından yüksek olması mikrobiyal giriş olasılığını artırmaktadır. Sıcaklık farkı ne kadar büyük olursa, bulaşma potansiyeli de o kadar yüksek olur. Yumurta içeriği soğudukça büzülür ve kabuğun içinde ve dışında daha yüksek basınç oluşmakta ve bu basınç farkı, mikroorganizmaları kabuk gözeneklerinden geçmeye zorlamaktadır. Ek olarak, yumurtalar yıkandığında

veya soğuk yumurtalar ılık, nemli bir odada tutulduğunda, yumurta kabuğundaki nem mikrobiyal bozulma olasılığını artırmaktadır (Banwart, 1989).

Kabuklu yumurta yapısı gereği mikroorganizmalara karşı en dayanıklı gıdalardan biridir. Taze yumurtaların içi genellikle steril kabul edilmektedir. Kabuğun yüzeyinde çok sayıda mikroorganizma bulunmaktadır. Yumurta kabuklarının mikrobiyal kontaminasyonunun iki ana kaynağını dışkı ve toprak oluşturmaktadır. Ayrıca tavuktaki bulaşıcı hastalıklar nedeniyle yumurta oluşumu sırasında yumurtanın iç kısmı kontamine olabilmektedir (Göktan ve Tuncel, 1986; Clay, 1993; Kuntz, 1998).

Yumurta içeriği; kabuk, yumurta beyazındaki kombine bir zar ve kimyasal inhibitörler tarafından korunmaktadır. Bu nedenle mikroorganizmaların yumurtaya girip bozulmasına neden olması için bu engelleri aşması gerekmektedir (Göktan ve Tuncel, 1986). Kabuktaki nem, bakterilerin yumurtaya girmesine ortam hazırlamaktadır. Yumurtalar yıkanarak saklanırsa mikroorganizma girişi çok hızlı olup bozulma meydana gelebilmektedir (Koelkebeck, 1999; Griffiths, 2005).

Kabuğa giren bakterilerin en önemli kaynağını kabuktaki ve gözenek kanallarındaki su oluşturmaktadır. Bu olay, kabuk üzerindeki yoğuşma veya yıkama işlemi nedeniyle meydana gelmektedir. Yumurtaların çok yüksek nem koşullarında (%80 RH) saklanmasından dolayı yumurta kabuklarında küf oluşumu meydana gelebilmektedir. En yaygın küfler; *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Rhizopus* ve *Mucor* türleridir. Kabuğun yüzeyindeki küf gözeneklerden kolayca geçebilmektedir (Sparks, 1999).

Mikroorganizmalar; ağırlıklı olarak tavuk dışkısı, folluklar, yumurta yıkamalarındaki yıkama suları, eller ve hatta ambalaj malzemeleri yoluyla bulaşmaktadır. Üretim koşullarına bağlı olarak yumurta kabuğu 10^2 - 10^8 kob/g içermektedir (Tekinşen ve Çelik, 1995).

Yumurtada bakteri çoğaldığında içerikleri bozulur, renk, koku ve görünümde istenmeyen değişiklikler görülmektedir. Bu kayıplara ek olarak, kabuklu yumurtalar saklama ortamından gelen kokuları da absorbe edebilmektedir. Birçok meyve ve sebze kabuklu yumurtaların tat ve kokusunda değişikliğe neden olabilmektedir. Örneğin elma ile saklanan yumurtaların tadı zamanla acılaşabilir veya benzin, gazyağı gibi kimyasallarla saklanan yumurtaların tadı ve kokusu bu bileşiklerden etkilenebilir (Banwart, 1989).

Yumurta, çiftlikten tüketiciye ulaşıncaya kadar en az işlem gören gıdalardan biridir. Yumurtalar A kalite olarak satılsa bile kabukların yıkanması veya temizlenmesi yasaktır. Yumurtaları patojen ve bozucu mikroorganizmalardan koruyan karmaşık bir antimikrobiyal sisteme sahip olduğu için yumurtalar 3 haftaya kadar saklanabilmektedir (Sparks, 1999).

Yumurtaların antimikrobiyal savunma mekanizmaları hem fiziksel hem de kimyasal yapısından kaynaklanmaktadır. Kabuğun yüzeyinde bakteri varsa, kütikül ilk savunma hattıdır. Kütikül yumurtlamadan hemen sonra yırtılabilir. Nemli bir dokusu vardır. Bu durumda kabuğun yüzeyine ulaşan herhangi bir bakteri kabuktan iç tabakaya girebilir, bu olay kütikülün açık yapısından ve kütikül ve gözenek kanallarında su bulunmasından kaynaklanır. Bu nedenle yumurta kabuğunun yüzeyinin kuru olmasına özen gösterilmelidir (Algan 2007, s.13,14). Ağırlıklı olarak kabuklardan izole edilen bakteriler; *Micrococcus*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Cytophaga*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* ve *Staphylococcus* türleridir. Zarın sağladığı fiziksel bariyere ek olarak albüminin kemostatik özelliği mikroorganizmaların büyümesini zorlaştırmaktadır. Albüminin viskozitesi veya fiziksel savunması, ovomusin ve lizozim proteinleri arasındaki etkileşimden kaynaklanır. Ancak yumurtlamayı takip eden günlerde albüminin difüzyonu karbondioksit kaybına yol

açarak pH'ın yükselmesine neden olur. pH değeri arttıkça ovomusin ve lizozim arasındaki etkileşim zayıflamış ve viskozite kaybolmuştur. Ancak yüksek pH nedeniyle bakteri üremesi gecikir. Ayrıca albüminler arasında en önemli mikrobiyal savunma proteini olarak bilinen konalbümin (ovotransferrin), başta demir iyonları olmak üzere birçok metal iyonuna bağlanarak bakteriler tarafından kullanılamaz hale getirilir. Bu nedenle mikroorganizmaların üremesi sınırlandırılır (Clay, 1993; Sparks, 1999; Algan 2007, s.13,14)

2.5. Mikotoksinler

Küfler, doğal ve laboratuvar koşullarında toksik sekonder metabolitler sentezleyebilmektedir. İkincil metabolitler, biyosentezlenen ve bazı metabolik yollarla atılan, organizmanın gelişmesi ve varlığını koruması için gerek duyulmayan bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Betina, 1989). Küflerin ürettiği bazı sekonder metabolitlerin antibiyotik özellikleri varken, bazıları toksik olabilmektedir. Toksik nitelikli ikincil metabolitler mikotoksin şeklinde adlandırılmaktadır (Bennett, 1987).

Mikotoksinler bağışıklık ve endokrin sistemi üzerine etki etmekle birlikte, karaciğer ve böbrek gibi pek çok organ üzerinde olumsuz etkileri belirlenmiştir. Turner, küfler tarafından üretilen yaklaşık 1200 adet ikincil metabolit tespit ederek, sınıflandırmıştır (Turner, 1971). Turner ve Aldridge, yaklaşık tür başına iki farklı metabolit oluşturan 1100 tür tarafından sentezlenen 2000'den fazla metaboliti tespit etmiştir. Tür başına iki adet metabolit olduğu düşünüldüğünde, küfler tarafından sentezlenen ikincil metabolit sayısı 3 milyona yaklaşmaktadır (Aldridge ve Turner, 1970).

Hayvanların mikotoksinlerden etkilenmesinin esas nedeni, “*sporadik mikotoksin inhalasyonu ve cilt teması vakaları*” olarak belirlenmesinin yanında mikotoksinli besinlerin hayvanlar tarafından tüketilmesidir. Besinlerdeki mikotoksin oranları büyük

oranda değişiklik gösterebilmekte ve küf oluşumu şartlara bağlı olarak farklılık göstermektedir. Fazla miktarda bulunduklarında riskli sağlık problemlerine ve hatta ölüme dahi neden olabilmektedir. Düşük oranlardaki mikotoksinlere uzun zaman maruz kalmak, gizli semptomlara ve farklı küresel kuruluşlar adına panik yaratan kronik sağlık problemlerine sebep olabilmektedir. Kronik hasarlara, bilhassa kansere neden olma ve risk bakımından, mikotoksinlerin “*antropojenik kontaminantlardan, pestisitlerden ve katkı maddelerinden*” daha önemli bir tehlike yarattığı öngörülmektedir (Lanier ve ark., 2009).

Mikotoksin üreten küfler çoğunlukla “*agresif patojenler*” olarak tanımlanmamakta fakat bazı küf türleri hasat öncesinde ya da depolama esnasında bitki dokusuna zarar verebilmektedir (Griessler ve ark., 2010). Bu mikotoksinlerin doğal sentezlenmesi, tarım ve hayvancılığın dahil olduğu ayrı alanlarda insanların ve hayvanların tükettiği gıdaları etkileyen önemli iktisadi zararlardan sorumlu tutulmaktadır (Brase ve ark., 2009). Yüksek sıcaklık ve nemin, mantarların gelişimini ve mikotoksinlerin oluşumunu teşvik eden çevresel etkenler içinde en önemlileri olduğu belirtilmektedir (Griessler ve ark., 2010).

Küflerin toksik bileşikler üretmesine neden olan uyaranlar henüz tam olarak anlaşılamamıştır. İkincil bileşiklerin sentezinin sporlanma süreci ile alakalı olduğuna yönelik göstergeler bulunmaktadır (Calvo ve ark., 2002). İkincil metabolitler, gelişim sürecinin son aşamasında oluşmaktadır. Bunların küf gelişiminde herhangi bir özel bir katkısı bulunmamaktadır. Besin ve yem sanayisinde üreten, toplayan, saklayan, işleyen ya da kullanan herhangi bir aşama için önem arz edecek ekonomik kayıpların nedeni arasında gösterilmektedir (Versantvoort ve ark. 2005).

2.5.1. Mikotoksinlerin Oluşumuna Etki Eden Unsurlar

Küf türü, sıcaklık, nem, oksijen, pH, besin madde içeriği, tarlada oluşan hasar, ürün karışıklığı, kızışma noktaları, süre, ortamın bileşimi, kimyasal uygulamalar, bitki dayanıklılığı, bitki çeşitliliği ve spor yükü mikotoksin oluşumunu etkilemektedir (Kumar ve Popat, 2010).

Küflerin mikotoksin oluşturmaları ve çevreye yaymasında kalıtsal potansiyeli ve çevre şartları gibi etkenlerle mantarın substrala temas etme süresi etkili olmaktadır. Yem maddelerinin bitkisel ya da hayvansal kaynaklı oluşu ve kombine edilmesi mikotoksin oluşumunda önem arz etmektedir. Ayrıca yem maddeleri bünyesinde bulunan karbonhidratlar, azotlu besin öğeleri, iz elementleri ve vitaminler mikotoksin oluşumunu etkilemektedir (Martins, 2008).

Nem, küflerin çoğalmasında en etkili etkenlerden biri olarak gösterilmektedir. Nem miktarının azalması, küflerin çoğalmaya kısıtlama getirmektedir. Mikotoksin meydana getiren küflerin farklı ürünler üzerinde gelişmesi için o yemdeki en ideal nem oranının %14-30 oranında olması gerekmektedir. *Aspergillus flavus* türünün gelişim göstermesi için en az bağıl nem oranının yüzde 80'inin ve yemdeki su oranının ise yüzde 14 ve üzerinde olmasına ihtiyaç duyulmaktadır. *Aspergillus parasiticus* türünün aflatoksin oluşturmaları için bağıl nemin 30 °C sıcaklıkta %83 olması gerektiği belirtilmektedir (Demirel ve Yıldırım, 2000).

Tüm canlılarda olduğu gibi küfler de suya gereksinim duymaktadır. Fakat gereksinim oranı küflerin türüne göre değişmektedir. Tarla küfleri olarak sınıflandırılan *Alternaria*, *Fusarium*, *Helminthosporium* ve *Cladosporium* cinslerinin % 22-25 oranında neme ihtiyaç duydukları, buna karşılık depo küfleri olarak sınıflandırılan *Aspergillus* ve *Penicillium* cinslerinin ise % 13-18 seviyesinde rutubet oranlarında bile çoğalabilmektedirler (Erzurum, 2001).

Mikotoksin sentezleyen küflerin genelinin depo küfleri grubunda ele alındıkları belirtilmiştir (Tayfur, 1993). Farklı uzmanlarca aflatoksin üretimi konusunda en ideal nisbi nemin %85 ve üstü olduğu açıklanmıştır (Erzurum, 2001). Yapılan bir çalışmada *A. flavus* ile aşılansarak 30 °C sıcaklıkta depolanan fıstıklarda %99 nispi rutubetin olduğu ortamda aflatoksin oluşumunun en yüksek olduğu belirlenmiştir (Diener ve Davis, 1970).

Küflerin üreme sıcaklık aralığı 0-60 °C gibi geniş bir aralıkta olmakla beraber bu değer türler arasında farklılık göstermektedir. Buzdolabı sıcaklığında gelişebilen ve ürünlerin bozulmasına yol açan küflerde rastlanabilmektedir. Termofillik küfler 60 °C sıcaklıkta mikotoksin üretebilmektedir. Mikotoksinler optimum sıcaklık değerlerinde maksimum seviyede üretilmektedirler (Sabuncuoğlu ve ark., 2008).

Aspergillus ochraceus tarafından en yüksek okratoksin sentezinin 30 °C’de ve 0.953 su aktivitesinde olduğu tespit edilmiştir. Fakat sıcaklık 15 °C’ye kadar düştüğünde, su aktivitesinin 0.997’ye yükseldiği saptanmıştır (Oruç, 2005).

Küfler aerobik organizma yapısına sahip olduklarından dolayı gelişim süreçlerinde oksijen oranı önemli bir rol oynamaktadır. Ortamdaki karbondioksit oranını yükseltmek amacıyla, sentezi gerçekleşen toksin oranını düşürmek mümkün görülmektedir (Kaya, 1987).

Doğal besin ve yemlerde oluşan ezilme, zedelenme, kırılma, çatlama, böcekler tarafından yaralanma gibi hasarlar küflenmeyi hızlandıran etkenlerdir. Bilhassa tahıl, meyve ve sebzelerdeki kabuk ya da zarlar, mikroorganizma hasarlarına yönelik muhafaza edici bir katman meydana getirmektedir. Bu katmanın hasar görmesi, mikroorganizma gelişmesini destekleyen unsurların oluşmasına neden olmaktadır. Böylelikle küfler, bu besin ve yemleri daha basit olarak kullanmakta ve daha fazla üreyerek toksin üretmektedirler (Lillehoj, 1973).

Mikotoksinlerin oluşumunda etkili olan diğer etkenlerden biri de kimyasal faktörlerdir. Küflerin beslenme şekilleri mikotoksin oluşumunda etkili olmaktadır. Besin maddeleri arasındaki etkileşim ve kimyasal bileşimler, su miktarı, pH gibi durumlar besin maddeleri üzerinde çoğalan mikotoksin sayılarının farklılık göstermesine neden olmaktadır. Mikotoksin oluşumunda etkili olan biyolojik etkenler, küf türünün toksijenik olup olmadığı, aynı ortamda toksin üreten küflerle birlikte rekabet durumunda bulunan diğer küflerin bulunması ve mikrobiyal detoksifikasyon şeklinde sıralanmaktadır (Lillehoj, 1973).

2.5.2. Yumurtadaki Mikotoksinler

Yumurtacı tavuklar, uzun büyüme döngüleri (70 hafta ve üzeri) ve tahıldan üç kat daha fazla mikotoksin içeriğine sahip yemlerle beslendikleri için, yumurtacı tavuk ırkları kronik mikotoksikoza karşı hassastır. Yumurtada aflatoksinler ve okratoksinlere yumurtalarda sıklıkla rastlanmakta ancak zearalenon, deoknivanenol ve fumonisinlere daha az rastlanmaktadır (Kök, 2021).

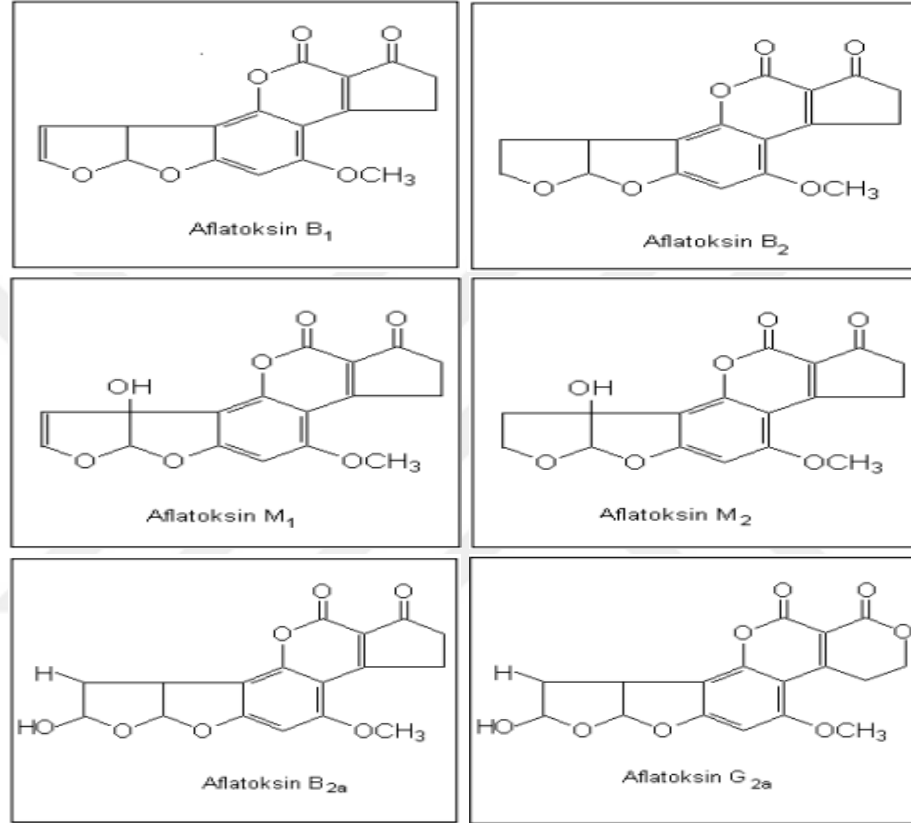
2.5.2.1. Aflatoksinler

Aflatoksinler, başta *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* ve *Aspergillus parasiticus* olmak üzere pek çok *Aspergillus* türü tarafından sentezlenen mikotoksin türleridir. Aflatoksinler, insanlar ve hayvanlar için olabildiğince toksik ve kanserojen risk içermelerinden dolayı besin sanayinde dikkat edilmesi gereken konular arasında gösterilmektedir. Bu nedenle, son zamanlarda çeşitli analitik metotlar kullanılarak mikotoksinlerin belirlenmesi ve oluşumunun engellenmesi için çalışmalar yapılmaktadır (Hassan ve ark., 2012).

Aflatoksinler temelde dörde ayrılmaktadır. Bunlar “B1, B2, G1 ve G2” şeklinde belirtilmiştir. Bu sıralama “ince tabaka kromatografisinde, uzun dalga boyu UV ışığı

altında aflatoksin B1 ve B2 'nin mavi, aflatoksin G1 ve G2'nin ise yeşil floresan vermesi” ile bağıntılı durumda bulunmaktadır (Bullerman, 1979).

B toksinlerinde “kumarin yapıdaki lakton halkasına eklenmiş siklopentenon halkası” bulunurken, G toksinlerinde ise ek bir lakton halkası yer almaktadır. Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapıları Şekil 2.1’de verilmiştir (Bullerman, 1979)



Şekil 2.1. Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapısı

Aspergillus parasiticus ve *Aspergillus flavus* tarafından sentezlenen aflatoksinler difuranocoumarin türevleri olarak nitelendirilmektedir. Yapılan araştırmalarda aflatoksinlerin yaklaşık 30 farklı çeşidinin olduğu belirlenmiştir. B1 (AFB1), B2 (AFB2), G1 (AFG1), G2 (AFG2), M1 (AFM1) ve M2 (AFM2) en önemli aflatoksin çeşitleridir (Ismail A. ve ark., 2018). Aflatoksin B1, B2, G1 ve G2 doğal olarak üretilen bileşikler olmakla beraber AFM B1 en sık görülen ve en etkili olan türüdür. Aflatoksinler tarlada ve depolama esnasında mısır gibi ürünlerde bulunmaktadır. Fakat

ekinlere ve ortam şartlarına bağılı olarak aflatoksinler de bulaşabilmektedir (Cotty ve Bhatnagar, 1994).

Bu aflatoksinler özellikle sıcak ve nemli alanlarda daha fazla oluşabilmekte ve bazı *Aspergillus* türleri 21 °C'nin üstündeki sıcaklıklarda ve % 14'ün üzerindeki nem oranlarında üretebilmektedir. Aflatoksinler soğuk ya da ılıman ortamlarda büyük bir problem oluşturmasada, mısır, soya fasulyesi, yağlı tohumlar ve tropik ülkelerden ithal edilen diğler tahıl ürünlerinin depolanmasında ve tüketilmesinde dikkat edilmelidir (Purwoko ve Wolstrup, 1991).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), tarafından yapılan araştırma sonucuna göre dünya genelindeki besinlerin ortalama % 25'inin aflatoksin ile kontamine olduğunu belirtmektedir (Tonbak ve Demir, 2021).

Aflatoksinlerin çoğunlukla tahıl ve meyvelerde görüldüğü, AFM1 ve AFM2 aflatoksin çeşitlerinin de süt ve süt ürünlerinde saptandığı rapor edilmiştir (Akhtar ve Ismail, 2017). Aflatoksinler, hücrelerin DNA'sına bağlanabilmeleri sayesinde, timik aplazi oluşumuna neden olmalarının yanında protein sentezini de etkilemektedir (Raisuddin, 1993).

Aflatoksin kontaminasyonu en sık olarak ceviz, yer fıstığı ve mısır ve pamuk tohumu dahil olmak üzere diğler yağlı tohumlarda görülmektedir. AFB1, B2, G1 ve G2 çoğunlukla farklı besinlerde ve yemlerde farklı miktarlarda bulunmaktadır. AFB1 hayvanlar tarafından metabolize edilerek AFM1'e dönüştürülmekte ve çoğunlukla süt ineklerinin ve aflatoksin bulaşmış besin ya da yem yiyen öteki memelilerin sütü ve idrarıyla dışarıya atılmaktadır. Hayvanlar, kronik ve akut aflatoksin toksisitesinde farklı reaksiyonlar göstermektedir. Aflatoksin, farklı hayvanlarda akut nekroz, siroz ve karaciğler kanseri gibi önemli hastalıklara yol açmaktadır. İnsanların aflatoksinlerden

aynı oranda etkilenebileceğini düşünülmektedir. Hayvanların aflatoksinin toksik etkilerine karşı dirençli bir yapıya sahip olmadıkları belirtilmektedir.

Aflatoksinler yüksek seviyelerde akut, sub-letal dozlarda ise kronik şekilde besinlere ve yemlere zarar vermektedir. Düşük seviyedeki dozda sürekli alımları, pek çok hayvan denemesinde karsinojen etki gösterdiği belirlenmiştir. Hayvanların aflatoksinlere karşı olan duyarlılıkları hayvanın cinsi, yaşı, cinsiyet, sağlık durumu, beslenme durumu, besin tüketim miktarı ve sıklığı gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Marshall ve Bullerman, 1986). Cıvcıv, ördek yavrusu, hindi yavrusu, tavuk, bıldırcın, sığır, koyun, alabalık ve köpek aflatoksinlere hassasiyeti yüksek olan canlılardır (Robens ve Richard, 1992).

Sub-letal dozlarda alınan aflatoksinler, kronik etkiye neden olmaktadır. Aflatoksin içerikli sub-letal dozların kullanımı sonucunda hayvanlarda, karkasın sararması ve siroz tespit edilmiştir (Bullerman, 1979).

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmaların neticesine bağlı şekilde aflatoksinin güçlü bir hepatokarsinojen etkisinin belirlenmesi üzerine, aflatoksinin insanlar üstündeki tesirlerinin anlaşılması için birçok araştırma ve çalışma gerçekleştirilmiştir. Bazı Afrika ve Asya ülkelerinde gerçekleştirilen araştırmalarda, aflatoksin ile insanların karaciğer kanseri olması arasında güçlü bir ilişki saptanmıştır (McMillian, 1978).

AFB₁'in karsinojenite ve mutajenitesi vücuttaki birtakım metabolik faaliyetler neticesinde oluşmaktadır. İlk olarak hayvanlarda mikrozomal ve stoplazmik oksijenaz enzim sistemleri tarafından aflatoksinler metabolik faaliyetlere uğramaktadır. Bu enzim sistemleri, genellikle karaciğer hücrelerinin endoplazmik retikulumunda yer alan, sitokromla bağlantılı enzimlerle, oksijene ve NADPH'a bağlı enzimlerin çok boyutlu bir organizasyonu şeklinde açıklanmaktadır. Bu enzimler, farklı hidroksillenmiş türevlerin

ve yüksek reaktif özelliğe sahip epoksid metabolitin oluşmasıyla neticelenen AFB₁'in oksidatif metabolizmasında katalizör görevini üstlenmektedir (Ueno, 1985).

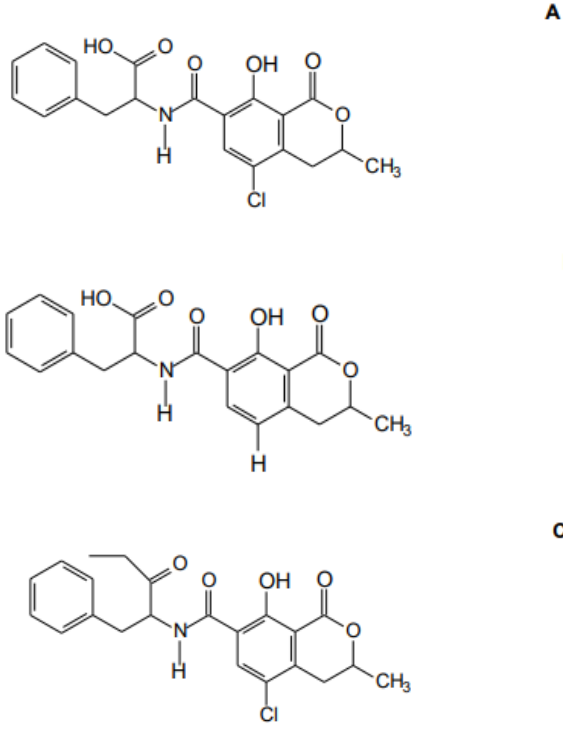
Avrupa Birliği'nin "Gıda Maddelerinde Bazı Kontaminantların Maksimum Düzeylerini Belirleyen Komisyon Direktifi"nde; bilhassa aflatoksin B₁ olacak şekilde, aflatoksinlerin genotoksik karsinojen maddeler olarak nitelendirildiği, bu yüzden herhangi bir "NOEL (No Observable Effect; gözlenebilir etki oluşturmeyen düzey) ve ADI (Acceptable Daily Intake; kabul edilebilir günlük alım miktarı) değerinin" tespit edilemediğinden bahsedilmektedir (EC, 1998).

2.5.2.2. Okratoksinler

Okratoksinler (OTs) *Aspergillus* ve *Penicillium* tarafından üretilen yaygın mikotoksinlerdendir. Okratoksinler okratoksin A (OTA), okratoksin B (OTB) ve okratoksin C (OTC) olmak üzere 3 tipi bulunmaktadır.

Okratoksinler, kimyasal yapıda benzerlikleri paylaşan bir grup mikotoksin içermektedir (El Khoury ve Atoui, 2010). Okratoksinler, amid bağı ile bir izokumarine bağlı bir β -fenilalanin içermektedirler (Steyn, 1995). Bu grup içinde, okratoksin A (OTA) belirgin toksik nitelikleri bulundurmakta ve besin doğada yoğun bir şekilde dağılmaktadır (Belli, 2002). OTA'nın kimyasal yapısında sübstituent grup şeklinde bir klor atomu yer almaktadır. Bu grup toksik niteliğin oluşmasına katkı sağlamaktadır (Scussel, 1998). Okratoksin B okratoksin türleri içinde en az toksik özelliğe sahip olanıdır. Bu okratoksin türü doğal bir şekilde oluşmamaktadır. Okratoksin C türü de tıpkı okratoksin B gibi doğal bir şekilde oluşmamakta ve yapısında bir klor atomu bulunmasına karşın OTA kadar yüksek toksik özelliğe sahip değildir (Bakutis, 2005).

Okratoksinlerin (A, B ve C) kimyasal yapıları Şekil 2 üzerinde gösterilmiştir (Öziç, 2015).



Şekil 2.2. Okratoksinlerin kimyasal yapıları
(A: Okratoksin A. B: Okratoksin B. C: Okratoksin C)

OTA, pek çok besinde yer alan kanserojen riski bulunan nefrotoksik bir mikotoksin olarak nitelendirilmektedir (Battilani ve Pietri, 2002). Bu mikotoksin türü ile Balkanlar'daki Endemik Nefropati arasında ilişki bulunmaktadır. Zira oradaki besinlerde prevelansı yüksek seviyelere çıkmıştır (Zain, 2011). OTA genellikle tahıllar, kuruyemişler, kahve, bira, üzüm suyu ve şarap gibi farklı besinlerde çoğalmaktadır (Battilani ve Pietri, 2002). Dünya genelinde, besinlerde OTA için en üst sınırlar 2- 10 $\mu\text{g kg}^{-1}$ olarak tespit edilmiş ve bebek besinleriyle ilgili besinler için bu limit 0.5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 'dir şeklinde belirlenmiştir (Abrunhosa, 2001).

Avrupa Komisyonu, kanatlı hayvan yemlerinde OTA için 100 $\mu\text{g/kg}$ 'lık kabul edilebilir bir sınır belirlemiştir. Toksinlerin OTA ile kontamine yemle beslenen tavuklardan yumurtalara geçip geçmediği konusundaki tartışmalar devam ederken, birçok araştırmacı konuyu doğal maruziyet ve deneysel besleme çalışmaları yoluyla ele almaya çalışmışlardır. Bu konudaki ilk rapor Frye ve Chu'nun yumurtacı tavukları deneysel olarak, 2 hafta boyunca 0,5 veya 5,0 ppm OTA içeren bir yemle besledikleri

çalışmadır. 2 haftanın sonunda böbrek (127 ppb) ve karaciğerde (80 ppb) yüksek seviyelerde toksine rastlanırken, yumurtalarındaki toksin düzeylerinin 2,8 ppb olduğu tespit edilmiştir.

Yumurta kabuğundan mikotoksinlerin penetrasyonu, yumurtalarda OTA kontaminasyonunun başka bir yoludur. Laciakova ve ark., kanatlı hayvan işletmelerinde depolama odalarındaki havada, masada ve yumrta kabuklarındaki küf kontaminasyonunu incelediklerinde; depolanan ortamdaki uygun sıcaklık ve neme bağlı olarak yumurta kabuğunda AFB1 ve OTA' ya rastladıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca AFB1 kalıntı limitini aşmazken, sadece bir tane örnekte OTA miktarı kalıntı limitini aştığını raporlamışlardır.

2.5.2.3. Fumonisinler

Fumonisinler genellikle *Fusarium verticillioides* tarafından üretilmektedir. B1, B2, B3, B4, A1 ve A2 olmak üzere 6 tip fumonisin vardır ve bunlardan fumonisin B1 (FB1) ve fumonisin B2 (FB2) en önemli ve en toksiktir. Fumonisinler nörotoksik, nefrotoksik ve hepatotoksiktir ve pulmoner ödem ve beyin ödeme neden olabilir. Bu mikotoksinler, sfingolipidler adı verilen lipoproteinlerin sentezini inhibe eder. Wang ve diğerleri, fumonisin B1'in kümes hayvanlarında akciğer iltihabına ve taşlık ülserasyonuna neden olduğunu ve FB1 ile DON'un sinerjistik kombinasyonunun da civcivlerin kuluçka kabiliyetini olumsuz etkilediğini bildirmişlerdir.

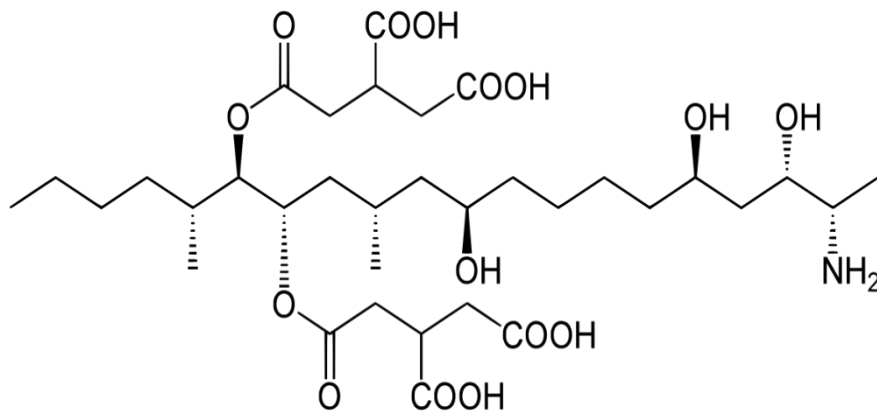
Fumonisinler, *Fusarium* türü küflerinin, özellikle *Fusarium moniliforme* tarafından sentezlenen yakın bir tarihte tespit edilen mikotoksin türleridir. Günümüze kadar fumonisin terimi ile açıklanan 16 adet bileşik yapı tespit edilmiştir. *Fusarium moniliforme* tarafından sentezlenen en dominant toksinin Fumonisin B1 olduğu belirtilmiştir. Doğal ortamda fumonisin sentezlendiğinde, *Fumonisin B2* ve *B3*'e ilaveten yalnızca *Fumonisin B1* saptanmıştır (Driehuis, 2011).

Fumonisinlerin, at lökoensefalomalazi ve domuz pulmoner ödem sendromu gibi birtakım hayvanlarda farklı sorunlara yol açtığı ifade edilmiştir. Fumonisinler üretiminde etkili olan *F. verticilloides* ve *F. proliferatum* ajanları mısır bitkilerinde pembe ve beyaz çürüklük hastalıkların oluşmasına yol açmaktadır. Fumonisinlerin *FB1*, *FB2* ve *FB3* türleri mısırlarda ve silajlarda yer almaktadır (Driehuis, 2011).

Fumonisinlerin etki mekanizması, hücre yüzeyi reseptörlerinin, proton pompalarının ve hücre fonksiyonu ve hayatta kalması için hayati önem taşıyan diğer sistemlerin düzenlenmesine ek olarak, hücre zarı bütünlüğünün korunması için önemli yapılar olan sfingolipidlerin sentezini kapsamaktadır. Sonuç olarak, sfingolipid oluşumunun sekteye uğraması, fumonisinlerin akut toksisitesinin ve kanserojen riskinin olduğu mekanizma olan *sfinganin* ve *sfingosini* biriktirmektedir (Proctor, 2002).

Fumonisinlerin hayvanlar üzerindeki etkileriyle ilgili yapılan çalışmalarda bütün hayvanlarda fumonisinlerin sindirim sisteminde emiliminin küçük olduğu sonucuna varılmıştır. Emilimi gerçekleştirilen fumonisinlerin çoğu karaciğer ve böbrekte tutulmaktadır (Siddique, 2003). Fumonisinlerin etki biçimiyle, onların sfingosin-sfinganin metabolizması ile etkileşimi arasında ilişki bulunmaktadır (Murphy, 2006).

Şekil 2.3 üzerinde fumonisin yapısı gösterilmektedir (Rheeder, 2002).



Şekil 2.3. Fumonisin yapısı

Besinlerin ve karma yemlere fumonisinlerin karışımı, insanlarda ve hayvanlarda farklı hastalıkların oluşumuna yol açmaktadır. Fumonisinlerin yol açtığı toksikozdan kaynaklanan klinik semptomlar ve etkilenen organlar hayvanlarda türden türe değişiklik göstermektedir. Atlarda lökoensefalomalazi görünümüne yol açmakta, domuzlarda ise pulmoner ödem oluşturmaktadırlar. Koyunlarda, sığırlarda ve tavşanlarda böbrek toksisitesini indüklemekte ve hepatotoksik oluşumuna neden olmaktadır (Creppy, 2004).

İnsanlarda, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı bu mikotoksini muhtemel bir kanserojen şeklinde değerlendirmiştir. Mantarlı mısırdaki fumonisin seviyeleri insanlarda yüksek özofagus kanseri insidansı üstünde etkili olmaktadır (Gressel, 2004).

F.moniliforme ortalama yüzde 90'ı mısırdaki fumonisinler bulunduğu için bu mikotoksinlerin mısırdaki insidansı dikkate alındığında, fumonisinlerin insidansı dünya genelinde doğrulanmıştır (Rheeder, 1992).

Ham mısırın fumonisinlerle bulaşıcılığının sınırı; coğrafi konum, agronomik ve koruma uygulamaları, büyüme, koruma ve işlemenin tüm aşamalarında bitkilerin mantar istilasına karşı savunmasızlığı gibi farklı etkenlere bağlılık göstermektedir. Fumonisin dereceleri aynı zamanda hasat öncesi ve hasat dönemlerinde sıcaklık, nem ve yağış gibi çevresel etkenlerden ve böcek istilasından da etkilenmektedir (Parish, 2009).

2.5.2.4. Zearalenon

Zearalenone, "*Fusarium graminearum*" tahılları ve meyveleri sıklıkla etkileyen ve diğer "*Fusarium sp türleri*" tarafından sentezlenen östrojenik tesirleri bulunan bir mikotoksin olarak nitelendirilmektedir. Zearalenon, sırayla " 3α ve 3β -hidroksisteroid dehidrojenaz" enzimleri tarafından " α -zearalenol ve β -zearalenole" indirgenmektedir. Zearalenonun metabolitlerine bu şekilde indirgenmesi genel olarak karaciğerde oluşmaktadır. Metabolitler serbest moleküller şeklinde atılmakta ya da "*üridin difosfat*

glukuronil transferazın” etkisiyle “*glukuronik asit ile konjugasyona*” uğrayabilmektedir. Konjugasyon işleminden sonra safra, idrar ve dışkı ile dışarı atılmaktadırlar. Safrada elimine edilerek geri emilmekte, bağırsak mukoza hücreleri tarafından metabolize edilmekte, “*portalven*” aracılığıyla karaciğere ve sistemik dolaşıma dahil olmaktadır (Diaz, 2001).

Zearalenon, hayvan doğurganlığı üzerine olumsuz etkilere yol açabilmektedir. Bir ZEA, “*Fusarium*” cinsinin farklı mantar türleri tarafından sentezlenebilmektedir. Örnek vermek gerekirse “*F. Graminearum* ve *F. culmorum*” mısır bitkisinde kulak ve karna çürüklüğü olarak adlandırılan hastalıklara neden olmaktadır (Munkvold, 2003).

Mısır silajındaki ZEA konsantrasyonu çok değişken bir yapıya sahiptir. Bu durum bölgeye ve ürünün bakımına bağlı şekilde oluşmaktadır. Fakat, tanımlanmış deney protokolleri olan denemelerde, bulunan konsantrasyon 300 ppb ile 1 ppm arasında değişikliğe uğramıştır. Fakat saha araştırmalarında saptanan değerlerde çok daha büyük bir değişkenlik belirlenmektedir.

Aragón ve Rodrigues Asya ülkelerinden alınan 227 mısır silajı örneğinde ortalama 1059 ppb ZEA değerlerini tespit etmiştir. Aynı çalışmada, Avrupa'dan 311 silaj numunesi ile ortalama konsantrasyon değeri 129 ppb olarak belirlenmiştir. Hollanda'da, ticari çiftliklerden elde edilen silajları incelenerek, silonun orta alanlarından gelen silajlarda ortalama 146 ppb değerlerine ulaşılmıştır. Fransa'da çiftlikte üretilen mısır silajlarında mikotoksinlerin çoklu tespit yöntemi analiz edilirken, 23 - 41 ppb arasında seviyeler saptanmıştır (Acosta Aragon ve ark., 2011).

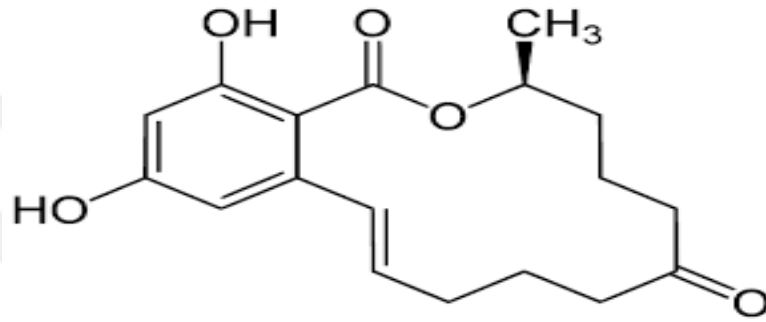
Fusarium toksinlerinin varlığı, oksijen penetrasyonunun olduğu silajlarda ortaya çıkabilmesine karşın, fermentasyon sürecinden daha çok toprak işleme ve açma sonrası faz ile alakalı etkenlerle ilgilidir (Oldenburg, 1993).

Trikotesen mikotoksinleri (TCT), aynı temel yapıya sahip 100'den fazla küf metabolitinden oluşan geniş bir setten oluşmaktadır. Birkaç mantar türü TCT üretebilmektedir. Bütün “*trikotesenler toksikolojik*” olduğu belirtilmiştir. Hücresel seviyede, “*TCT mikotoksinlerinin*” ana toksik etkisi, birincil protein sentezinin “*inhibisyonu*” gibi görünmektedir. Gastrointestinal sistem, cildi, lenfoid ve eritroid hücrelerini kaplayan hücreleri etkilemektedir. TCT'nin toksik etkisi, ağız mukozasında ve toksinle temas eden derinin yoğun nekrozuna yol açmaktadır. Sindirim sistemi üzerinde akut etkilere sahiptir ve kemik iliği ve bağışıklık fonksiyonunu azaltmaktadır. Bu mikotoksine maruz kalma, günlük olarak kontamine tahılların ve tahıl türevlerinin tüketimi yoluyla gerçekleşmektedir (Acosta Aragon ve ark., 2011).

ZEA'nın özellikle mısır silajı için güvenlik seviyeleri veya beklenen konsantrasyonları ile ilgili olarak, literatürde maksimum veya minimum değerleri belirleyen hiçbir rapor bulunmamaktadır. Bu da insan ve hayvan için izlenecek referans değerler ve kılavuzlar hakkındaki tartışmayı genişletmeyi imkânsız hale getirmektedir. Driehuis ve ark. (2008) 2005 yılının nisan ve aralık ayları arasında 16 çiftliği gözlemlemiş, ot silajı, mısır silajı ve diğer diyet bileşenlerindeki mikotoksinleri analiz etmiştir. Numunelerle birlikte hayvanların tüketimine ilişkin veriler de toplanmıştır. Mikotoksikolojik analizler sonucunda her bir mikotoksinin günlük tüketimini tahmin etmek mümkün olmuştur. Ortalama 600 kg vücut ağırlığına sahip yüksek verimli inekler için günlük ZEA alımı, 0.84 µg/kg vücut ağırlığına karşılık gelen inek başına 0.5 mg olmuştur. Uzmanlar, bu mikotoksinin süte geçiş hızının düşük olması nedeniyle ZEA'nın insan sağlığı için bir risk oluşturmadığını vurgulamış ve bu toksinin hayvanlar üzerindeki olumsuz etkilerine ilişkin mevcut verilerin tolere edilebilir maksimum değerlerin belirlenmesine izin vermediğini söyleyerek sonuca varmışlardır. Bu yüzden bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. ZEA, rumen florası

tarafından “ α -zearalenol ve β -zearalenol”e dönüştürülebilmektedir (Kiessling, 1986). Hayvan tarafından emildikten sonra karaciğer, “ α -zearalenolün çoğunu β -zearalenol”e dönüştürerek inekler üzerindeki etkileri azalmaktadır. Ruminantlar bu mikotoksine toleranslı olmasına karşın, günlük 250 mg/gün dozlarının ineklerde korpus luteum boyutunu etkileyebileceği belirlenmiştir (Oldenburg, 1993).

Şekil 2.4 üzerinde zearalenon yapısı gösterilmiştir (Bakırcı, 2014)



Şekil 2.4. Zearalenon yapısı

2.5.2.5. Deoxynivanenol

Trikotesenler; başlıca *Fusarium tricinctum*, *F. roseum*, *F. salani*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichoides*, *F. lateritium*, *F. poae*, *F. rigidiusculum* ve *F. episphaeria* tarafından üretilen mikotoksinlerdir. Aynı zamanda daha az ölçüde diğer bazı küf türleri (*Cephalosporium crotocigenum*, *Myrotercium verrucaria*, *Colonectria nivalis*, *Trichoderma viride*, *Trichotecium roseum* ve *Gibberella saubineti*) tarafından da üretilir. Trikoseten türevlerinin 40'tan fazla çeşidi olmasına rağmen en önemlileri T-2 toksini, diacetoxyscirpenol (DAS), vomitoxin ve deoxynivanenol (DON) ve nevanenol türleridir. Trikotesenler, tahıllarda doğal kontaminant olarak bulunmaktadır (Gimeno, 2006).

Trikotesenler, gastrointestinal toksinler, cilt toksinleri, immünotoksinler, kan toksinleri ve genotoksinler gruplara ayrılmaktadır. Kanatlıların büyümesini ve bağışıklık sistemini baskılamakta ve genel sağlığın bozulmasına neden olmaktadır

(Oliveira CAF, 2017).Oral veya parenteral olarak uygulanan trikotesen hayvanlarda birirmektedir. Kalıntılar, maruziyetten sonraki birkaç gün içinde yok olmaktadır (Leeson, 1995).

Lun ve arkadaşları 26 haftalık yumurtacı tavukları 27 gün boyunca 300 mg/kg DON, 37 mg/kg zearalenon ve 4 mg/kg diacetoxycirpenol içeren mısırla beslemiş ve sonuç olarak ağırlık, yumurta üretimi, yumurta ağırlığı, kabuk deformasyonu veya kabuk kalınlığında önemli bir fark olmadığını belirlemişlerdir. Yumurta sarısı, albümin, kabuk, karaciğer ve böbrekte DON kalıntısı tespit edememiş, ancak taşlıkta yaklaşık 20 ppb seviyesinde tespit edilmiştir (Lun, 1986). Prelusky ve ark. 28 haftalık 35 tavuğu tek doz 2.2 mg DON içeren yemle beslediklerinde 24 saat içinde yumurtadaki toksin 1.9 mg ulaşmıştır ve ayrıca normal yeme döndüklerinde yumurtalardaki kalıntılarda hızlı bir azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak yapılan araştırmalarda DON ve DON metabolit kalıntılarının yumurtacı tavukların yumurtalarında bulunabileceğini, ancak mikotoksin konsantrasyonlarının gıda hijyeni endişelerini artırmayacak kadar düşük olduğunu bildirilmiştir (Prelusky ve ark., 1987). Bazı araştırmalarda ise, DON içeren yumurtaların fazla tüketiminin (özellikle hamileler ve protein ihtiyacı yüksek olan yeni doğanlar) bazı sağlık sorunlarına yol açabileceğini, bu nedenle kanatlı hayvan yemlerinde kalıntı limitlerinin düzenlenmesi gerektiğini göstermiştir (Wang, 2018).

2.5.3. Mikotoksinlerin Belirlenme Yöntemleri

Avrupa Komisyonu (EC), ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) gibi ulusal ve uluslararası kurum ve kuruluşlar, gıda ve yem kaynaklı mikotoksin zehirlenmesinin hayvanlar ve insanlar için oluşturduğu potansiyel sağlık risklerini kabul ederek, bazı mikotoksinler için sınırlar belirlemiştir. Bu nedenle gıda, yem ve diğer biyolojik

materyallerde mikotoksinlerin tanımlanması ve tespit edilmesi için çok sayıda analitik yöntemin geliştirilmiştir. Mikotoksinlerin kimyasal çeşitliliği ve çok farklı ürünlerde değişen konsantrasyon aralıklarında bulunması zorluk oluşturmaktadır. Mikotoksinlerin farklı kimyasal ve fizikokimyasal özellikleri, spesifik ekstraksiyon, temizleme, ayırma ve tespit yöntemleri gerektirmektedir. Bu nedenle, çoğu yöntem sadece her bir mikotoksini ayrı ayrı veya en iyi ihtimalle yakından ilişkili bir grup mikotoksini belirleyebilmektedir. Bu yöntemler genellikle örneklerin hazırlama protokollerinin ardından geleneksel kromatografik ayırmaya (çoğunlukla sıvı kromatografisi, LC) dayanmaktadır. Triketen ya da patulin gibi mikotoksinlerin belirlenmesinde elektron yakalama (ECD), kütle spektrometre (MS) ve gaz kromatografisi (GC) yöntemleri daha az kullanılmaktadır. Bazı durumlarda, daha yoğun emek gerektiren LC yöntemleri yerine, enzime bağlı immünosorbent testine (ELISA) dayalı hızlı ve doğru tarama yöntemleri uygulanmaktadır. İnce tabaka kromatografisi (TLC), LC tabanlı yöntemlere daha ucuz bir alternatif olarak kullanılmakta ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde önemli bir role sahiptir (Gilbert ve Anklam, 2002). İmmünoafinite sütunları (IAC) veya katı faz ekstraksiyonu (SPE) yöntemleri gibi modern numune temizleme teknikleri, protokolleri basitleştirmeye, seçiciliği ve dolayısıyla performans özelliklerini iyileştirmeye yardımcı olmaktadır.

Mikotoksinlerin belirlenmesine yönelik geleneksel analitik yöntemlerin büyük çoğunluğu, floresan algılama ve ultraviyole olmak üzere çeşitli algılama sistemleri kullanan yüksek performanslı sıvı kromatografisinin kullanımına dayanmaktadır. Triketenler, gaz kromatografisi gibi bazı uçucu ve ısıya dayanıklı mikotoksinler için, alev iyonizasyon tespiti veya elektron yakalama ile birlikte de yaygın olarak kullanılmaktadır (Becker-Algeri, 2016). Her iki teknik iyi duyarlılıkları ve seçicilikleri için tercih edilmiştir. Ayrıca bunların ortak noktaları konusunda doğru sonuçlar elde

etmek için iyi bir kromatografik ayırmanın gerekli olmasından bahsedilmektedir. Bu yüzden enjekte edilen numunelerin düşük düzeyde olası müdahaleye sahip olması gerekmektedir. Bu bakımdan numune hazırlama aşamasında en yaygın olanı immünoafinite kolonlarının kullanılması olan seçici saflaştırma tekniklerinin kullanılmasına gereksinim duyulmaktadır (Kralj Cigić ve Prosen, 2009).

Geleneksel metotların mikotoksinleri etkili ve mutlak olarak tespit etmesine karşın, deneyimli elemanlar, besinlere kapsamlı bir ön muamele, ekipman ve düşük analiz konsantrasyonlarında doğruluğun düşmesi gibi olumsuzlukların yaşanmasından dolayı seri, duyarlı ve mutlak teknikler oluşturulmasına gereksinim duyulmaktadır. İnce Tabaka Kromatografi, mikotoksinlerin tespit edilmesi amacıyla kullanılan geleneksel yöntemler arasında yer almaktadır. Bu yöntemin çok sayıda örneği inceleyebilmesi, mikotoksinleri basit bir şekilde seçebilmesi ve düşük maliyetli olması gibi üstünlükleri bulunmaktadır. 190 UV ışık altında TLC katmanında ya da mikotoksinlerin florasan niteliğini yükselten kimyasalların püskürtülmesi ile mikotoksinler belirlenmektedir. AFB ve AFG önce mavi ve sonra yeşil renkte tespit edilirken, sitrinin sarı renk oluşturmaktadır (Temamoğulları ve Kaya, 2010).

Mikotoksinler için analitik yöntemlerde önemli bir husus, analiz edilecek örneklerden önceden numune alınmasıdır. Aynı seri veya serideki mikotoksin kontaminasyonunun dağılımındaki büyük heterojenlik nedeniyle, kontrolü için gerçekleştirilen örneklemede serinin temsil edilebilirliğini garanti eden kriterlerin yasal olarak oluşturulması gerekli olmuştur (Whitaker, 2006). Böylece hem Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) hem de Avrupa Birliği bu kriterleri mevzuatlarına dahil etmiştir (Spanjer ve ark., 2006). Avrupa Birliği'nde, gıdalardaki mikotoksinler için numune alma kriterleri 401/2006 No'lu Yönetmelikte yer almaktadır (Sağlam ve Masatcıoğlu, 2021). 401/2006 No'lu Yönetmelik, gıda ürününe bağlı olarak farklı

numune alma planları belirlemektedir. Her biri için partinin büyüklüğüne göre alınacak numune sayısı belirlenmektedir. Bu temel numunelerin her biri en az 100 g ağırlığa sahip olmalıdır ve alınan tüm temel numuneler gruplandırıldıktan sonra partinin global numunesinin ağırlığı ise en az 1 kg ağırlığa sahip olmalıdır. Ayrıca, fraksiyonlardan numune alınması sırasında numunenin temsili olması için bunların partinin farklı noktalarından alınması gerektiğini ve ağırlığı 10 kg'dan fazla olan küresel numuneler söz konusu olduğunda, bunların alınması gerektiğini belirlemektedir (Sağlam ve Masatcıoğlu, 2021). Amerika Birleşik Devletleri'nde FDA sürekli olarak güncellediği Investigative Operation Manual belgesi ile gıda ürününün türüne bağlı olarak uygulanacak mikotoksin numune alma kriterlerini de oluşturmuştur. Genel olarak, gıda ürününün türüne bağlı olarak, küresel numunenin ağırlığını 4.5 ile 34 kg arasında değiştirerek, seçilecek element numunelerinin sayısını belirleyen 401/2006 sayılı Yönetmelik tarafından belirlenen yaklaşımı takip etmektedir.

Pratik olarak mikotoksinlerin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan tüm rutin analitik teknikler, analizden önce ekstraksiyon ve saflaştırma işlemleri gerektirmektedir. Ekstraksiyon aşamasında, sıvı-sıvı ekstraksiyonlarının en yaygın olarak öne çıktığı çeşitli ekstraksiyon teknikleri kullanılmaktadır. Bunlarda, analiz edilen mikotoksinlerin çözünürlüğüne ve daha sonra gerçekleştirilecek saflaştırma işleminin tipine bağlı olarak farklı çözücülerin kombinasyonları kullanılmaktadır. En yoğun olarak kullanılan çözücüler arasında metanol, su, asetonitril, etil asetat, kloroform ve aseton bulunmaktadır. Bu çözücü karışımlarına genellikle, özütleme verimini artırmak için küçük miktarlarda değiştiricilerin eklenmesi ve polar olmayan çözücülerin bir kısmının özütleyici karışımların bileşimine dahil edilmesi eşlik etmektedir (Rahmani ve Soleimany, 2009).

Ekstraksiyon aşamasından sonra, analitleri konsantre etmek ve olası etkileşimleri ortadan kaldırmak için genellikle elde edilen ekstraktın bir saflaştırma aşaması gerçekleştirilmektedir. Mikotoksin tayinlerinde kullanılan saflaştırma sistemleri arasında geleneksel katı faz ekstraksiyon kartuşları, Mycosep kartuşları, immünoafinite kolonları ve moleküler baskılanmış polimer (MISPE) kartuşları bulunmaktadır (Kralj Cigić ve Prosen, 2009).

Gıdalardaki mikotoksin varlığını belirlemek için daha güvenilir sonuçlar alınan kromatografik ve immünolojik metotlar kullanılmaktadır. İmmünolojik metotlar olan ELISA, RIA ve IAC gibi teknikler sıklıkla kullanılmaktadır (Scott, 1995). RIA ve ELISA yöntemleri, örnek üründen alınan toksin ile spesifik antikor bölgelerinin arasındaki bağlanma rekabetine dayanmaktadır. İmmünoafinite, bir kolona bağlı antikor ile direkt antijen bağlanmasına dayandırılan kromatografik bir teknik olarak nitelendirilmektedir (Fremy ve Chu, 1989). İlk immünolojik tekniğin 1950'li yılların sonlarında kullanılan radyoimmunoassay olduğu belirtilmektedir. İlk kullanımdan sonra immünolojik testler, 1980'li yıllardan beri gıdaların içerebileceği mikotoksinlerin tespit edilmesinde kullanılmaktadır (Fremy ve Chu, 1989).

Geleneksel SPE kartuşları, örneğin değişken kimyasal özelliklere sahip, ters fazlı veya anyonik ve katyonik iyon değiştiricileri içeren polimerik malzemeler gibi amaçlarına bağlı olarak dolumlarında farklı solventlerin kullanılmasıyla karakterize edilmektedir. Rutin mikotoksin tayin yöntemlerinde IAC kolonları ile yer değiştirmiş olsalar da daha düşük özgüllükleri nedeniyle bazı yöntemlerde kullanılmaktadırlar. Ekstraktların mikotoksinlerle saflaştırılması ve analiz öncesi ön konsantrasyonları için özel olarak tasarlanmış teknikler arasında Mycosep kartuşları, IAC kolonları ve MISPE kartuşları bulunmaktadır (Rahmani ve Soleimany, 2009).

Mycosep kartuşları dolgularında iyon değişim reçineleri ve diğer malzemelerin bir karışımını içermekte ve aflatoksinlerin, ZEA ve türevlerinin, okratoksinlerin, A ve B tipi trikotesenlerin ve fumonisinlerin ekstraktlarının saflaştırılmasında kullanılmaktadır. (Valle-Algarra ve ark. 2005).

IAC kolonları, sabit fazda veya paketlemede hareketsiz hale getirilmiş, belirli mikotoksinleri veya benzer kimyasal yapıya sahip mikotoksin gruplarını tutmak için spesifik antikorlar içermektedir. Yüksek özgülüğü nedeniyle, kullanımdan sonra elde edilen ekstraktlar, diğer saflaştırma yöntemlerine kıyasla çok daha düşük olası kromatografik parazit seviyelerine sahiptir, bu da duyarlılığı ve sinyal/yanıt oranını yükseltmektedir. Bu nedenle mikotoksin belirleme yöntemlerinde en yaygın olarak kullanılan saflaştırma tekniğidir. Kullanımından kaynaklanan temel sorun, organik çözücüler varlığında antikorların olası denatürasyonu ve elde etme maliyetidir (Scott ve Trucksess, 1997).

MISPE kartuşları, Moleküler Baskılanmış Polimerler (MIP'ler) içeren katı faz ekstraksiyon kartuşlarıdır. MIP'ler, yapay biyomimetik reseptörler olarak işlev gören, belirli bir analiti onun için spesifik bağlanma bölgelerine sahip olarak seçici olarak tanıyabilen sentetik malzemelerdir. MIP'ler, bir şablon molekülü kullanılarak fonksiyonel monomerlerin polimerizasyonu yoluyla özel olarak tasarlanmakta ve bir makromoleküler kompleks meydana getirmektedir. Hedef molekül veya analitin yapısal bir analogu şablon molekül olarak kullanılmaktadır (Kralj Cigić ve Prosen, 2009).

MIP'ler, IAC kolonlarının antikorlarından daha az afinite ve seçicilik gösterirler, ancak diğer yandan, kimyasal olarak çok kararlı olma avantajını bulundurmaktadırlar. Diğer bir önemli avantajı ise, kartuşlar veya kolonlar gibi olağan olanlardan daha büyük ölçekte ve daha fazla formatta üretilebildikleri için ekonomik maliyetleridir (Krska ve ark. 2008).

Gaz kromatografisinin sınırlamaları nedeniyle, yalnızca termal olarak kararlı ve uçucu mikotoksinler belirlenebildiğinden, metodolojik gelişimi de HPLC yoluyla geliştirmeye göre daha az kapsamlı olmuştur (Kralj Cigić ve Prosen, 2009). Tüm bu yöntemler, numunenin önceden saflaştırılması veya ön konsantre edilmesi gerekmediğinden, duyarlılıkları, özgüllükleri ve hızları ile karakterize edilmektedir. Aynı zamanda, ortak bir diğer özelliği de ekonomik açıdan erişilebilir olmaları ve uygulamadan sorumlu teknik personel için gerekli ön hazırlıkların az olması şeklinde gösterilmektedir.

İmmünokimyasal yöntemler, antikorlar ve mikotoksinler arasındaki etkileşimlere, işaretleyici veya izleyici olarak adlandırılan ve antijen-antikor bağlanması meydana geldiğinde tanımlanabilir bir sinyal sağlayan ikinci bir bileşik kullanılarak dayanmaktadır. Bu belirteçlerin özelliklerine bağlı olarak, kullanılan belirtecin radyoaktif olduğu radyoimmünoassayler, belirtecin kromojenik bir bileşik olduğu enzim bağlantılı immünoassayler veya varsa floresan immünoassayler olabilmektedir (Zheng ve ark. 2006).

Mikotoksinlerin belirlenmesinde ELISA metodu sıklıkla kullanılmaktadır. Bu teknikte tekniklerinin bugüne bakıldığında halen sık bir şekilde kullanıldığı görülmektedir. Bu teknik, öteki numune bileşenlerinden muhtemel parazit ve test şartlarına bağlı değişkenlik göstermesinden dolayı zaman zaman sorgulanmaktadır. Öte yandan “ELISA”nın seçici oluşu tekniğin avantajları arasında gösterilmektedir (Amado, 1999). Esasen, pek çok mikotoksin yakından bağlantılı kimyasal yapılara sahip olmaktadır. Bu yüzden, belli bir aflatoksin için sentezlenen antikorlar içinde, aynı sınıf içinde aynı zaman diliminde oluşabilecek öteki toksinlere yönelik çapraz tepkimelerin oluşabilme ihtimali bulunmaktadır (Bowman, 1998). ELISA metodu pek çok besinde AF ve fumonisini tespit etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu teknik doğrudan veya

dolaylı rekabete dayandırılmış bir tanı metodu olarak ifade edilmiştir (Plested ve Gidney, 2003). İmmünokimyasal tekniklere dayanan hızlı yöntemler genellikle herhangi bir temizleme veya zenginleştirme adımı gerektirmemektedir. ELISA, özellikle hammaddelerin taranması için çoğu mikotoksinin hızlı bir şekilde tespit edilmesi için rutin olarak kullanılan metot haline gelmiştir (Gilbert ve Anklam 2002; Fremy ve Usleber, 2003). ELISA testleri hızlı sonuç veren, kullanımı kolay, hassasiyeti yüksek ve aynı anda çok sayıda örnek çalışılması avantajlarına sahiptir. Ayrıca mikotoksinlerin belirlenmesi için ticari ELISA test kitleri mevcuttur.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmamızda Erzurum piyasasında satışa sunulan yumurtalardan 40 adet örnek alınarak, soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek mikrobiyal, fizikokimyasal ve mikotoksin analizleri yapılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Mikrobiyolojik Analizler

3.2.1.1. Yumurta Kabuğu Yüzeyinin Mikrobiyolojik Olarak Hazırlanması

Yumurta kabuk yüzeyinin mikrobiyolojik analizlerinin yapılması için her bir yumurta örneğinin kabuk ağırlığı aseptik koşullarda belirlendikten sonra üzerine 20 ml steril ringer solüsyonu ilave edilmiştir. Daha sonra yumurta kabuğunun dış yüzeyinde bulunan mikroorganizmaların ringer solüsyonuna geçmesi sağlanarak, seri dilüsyonlar yapılmış ve tespit edilmesi hedeflenen mikroorganizmalar için mikrobiyolojik ekimler yapılmıştır.

3.2.1.2. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB) Sayımı

TMAB sayısını belirlemek için hazırlanan uygun dilisyonlardan aseptik koşullarda 0.1 ml alınarak içerisinde Plate Count Agar (PCA) besiyeri steril petri kutularına aktarılmış ve homojen bir şekilde yayılmıştır. Ekim yapılan petriler 30 °C’de 72 saat inkübasyon sonrası besiyerinde gelişen tüm koloniler sayılmış ve sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir.

3.2.1.3. Toplam Psikotrofik Aerobik Bakteri (TPAB) Sayımı

TPAB sayısını belirlemek için hazırlanan uygun dilisyonlardan aseptik koşullarda 0.1 ml alınarak içerisinde Plate Count Agar (PCA) besiyeri steril petri kutularına aktarılmış ve homojen bir şekilde yayılmıştır. Ekim yapılan petriler 10 °C’de

7 gün inkübasyon sonrası besiyerinde gelişen tüm koloniler sayılmış ve sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir.

3.2.1.4. Koliform Bakteri Sayımı

Koliform bakteri sayımı için uygun dilisyonlardan aseptik koşullarda 1 ml alınarak steril petri kutularına aktarılmış ve bu işlemi takiben yaklaşık 15 ml VRBA besiyeri ilave edilerek, homojen şekilde karışması sağlanmıştır. Daha sonra katılaştıran besiyeri üzerine yüzeyi tamamen kaplayacak kadar VRB agar ilave edilerek çift kat dökme plak yöntemine göre ekim yapılmıştır. 37°C’de 24 saat inkübasyon sonunda pembe-kırmızı renkteki koloniler koliform bakterisi olarak kabul edilmiş ve sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir.

3.2.1.5. Maya ve Küf Sayısının Belirlenmesi

Maya ve küf sayımı için Rose Bengal Chloramphenicol (RBC) Agar besiyeri kullanılmıştır. Besiyerine uygun dilisyonlardan 0.1 ml yayma plak yöntemi ile ekim yapılarak, 25 °C’de 5-7 gün inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir ve sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir.

3.2.1.6. *Micrococcus-Staphylococcus* Sayısının Belirlenmesi

Micrococcus/Staphylococcus sayımı için uygun dilisyonlardan aseptik koşullarda 0,1 ml alınarak içerisinde Mannitol Salt Agar (MSA) bulunan steril petri kutularına aktarılmış ve homojen bir şekilde yayılmıştır. Ekim yapılan petriler aerobik olarak 30±1°C de 48±1 saat inkübasyon sonrası besiyerinde gelişen tüm koloniler sayılmış ve sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir.

3.2.2. Fizikokimyasal Analizler

3.2.2.1. pH Analizi

Yumurta örneklerinin sarı ve ak kısımları ayrılarak homojenize edilmiş ve pH’sı (inolab WTW) dijital pH metre ile ölçülmüştür.

3.2.2.2. Renk Analizi

Yumurta örneklerinin renk analizi Chroma Meter (Konica Minolta Japonya) kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar L (parlaklıktan koyuluğa), a (+a kırmızılığa, -a yeşillığe) ve b (+b sarılığa, -b ise maviliğe) parametrelerine göre açıklanmıştır.

3.2.2.3. Su Aktivitesinin Belirlenmesi

Yumurta örneklerinin a_w değerinin belirlenmesinde portatif bir higrometre cihazından (Aqua LAB 4TE) yararlanılmıştır.

3.2.3. Yumurtada Mikotoksin Analizi

3.2.3.1. Yumurta Örneklerinin Mikotoksin Analizi İçin Hazırlanması

Erzurum piyasasından alınan örneklerin her birinden alınan 4 yumurta homojen bir şekilde karıştırıldıktan sonra HCl ile pH değeri 7'ye ayarlanmıştır. Daha sonra hacminin iki katı katı kadar distile su ilave edilerek gazlı bezden süzölmüştür. Elde edilen süzöntü örnek olarak kullanılmıştır.

3.2.3.2. ELİSA Kiti Çalışma Prosedürü

Ticari kit içerisindeki bütün solösyonlar oda ısısına getirilmiş. Mikropleyt bulunan kuyucuklara kitin içerisinde bulunan standartlardan ve örneklerden her bir kuyucuğa 50 µl aktarılmış ve ve ardından 50 µl biyotinlenmiş antijen solösyonu ilave edilerek, üstü kapatılarak, 37 °C'de 60 dk etövde inköbe edilmiştir. Yıkama solösyonu ile beş kez yıkanarak, her bir kuyucuğa 50µl avidin-HRP eklenmiş üzeri membran ile kapatılarak, 37 °C'de 60 dk etövde inköbe edilmiştir. İnkübasyon sonunda yıkama solösyonu ile beş defa yıkanmıştır. Her bir kuyucuğa 50µl Kromojen Solösyon A ve ardından her bir kuyucuğa da 50µl Kromojen Solösyon B eklenmiştir. Karıştırmak için hafifçe sallanmış ve renk gelişimi için 37°C'de 15 dk etövde inköbe edilmiştir. Daha sonra reaksiyonu durdurmak için her bir kuyucuğa 50µl Stop Solution eklenmiş ve mikropleytlar ELISA okuyucuda (ELx800 Absorbance Microplate Reader, BioTek Instruments. Inc) 450 nm'de okutularak sonuçlar değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışma kapsamında yapılan kimyasal ve mikrobiyolojik analizler sonucunda,

Tablo 4.1. Yumurta akı ve sarısının pH ve renk değerleri (L, a ve b değeri)

	YUMURTA AKI		YUMURTA SARISI	
	Min-Max	Mean±SS	Min-Max	Mean±SS
pH	8.86-9.28	9.15±0.09	6.25-7.33	6.66±0.23
L Değeri	44.38-78.82	61.93±5.86	46.33-68.79	60.07±4.95
a Değeri	-6.44-2.59	-4.45±0.79	-1.30-14.26	6.00±3.81
b Değeri	7.56-20.89	13.51±2.76	34.55-66.06	49.67±5.52

Çalışma kapsamında yumurta akı ve sarısının pH ve renk değerleri incelenmiştir. Örneklerin yumurta akındaki pH değerinin minimum-maximum değer aralığı 8.86-9.28 olarak belirlenmiştir. Değerler olması gereken aralıkta bulunmuştur. Yumurta akındaki renk değerlerinden; L değeri 44.38-78.82 aralığında, A değeri -6.44-2.59 aralığında, B değeri 7.56-20.89 aralığında bulunmuştur. Örneklerin yumurta sarısındaki pH değerinin minimum-maximum değer aralığı 6.25-7.33 olarak belirlenmiştir. Değerler olması gereken aralıkta çıkmıştır. Yumurta sarısındaki renk değerlerinden; L değeri 46.33-68.79 aralığında, A değeri -1.30-14.26 aralığında, B değeri 34.55-66.06 aralığında bulunmuştur.

Tablo 4.2. Yumurta örneklerinin mikrobiyoloji (log kob/g) ve aw değerleri

	Minimum -Maximum	Mean
TMAB Sayısı	2.00-4.46	3.26±0.67
TPAB Sayısı	2.30-5.00	3.40±0.77
Maya-Küf Sayısı	2.00-4.26	2.50±0.84
<i>Staphylococcus Micrococcus</i> sayısı	2.12-4.79	3.29±0.74
Koliform Bakteri Sayısı	-	-
aw Değeri	0.984-0.999	0.997±0.003

Çalışma kapsamında yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda alınan örneklerdeki mikrobiyoloji (log kob/g) ve aw değerleri; TMAB sayısı minimum-maximum değerleri 2.00-4.46 log kob/g'dır. TPAB sayısı minimum-maximum değerleri 2.30-5.00 log kob/g 'dır. Maya-küf sayısı minimum-maximum değerleri 2.00-4.26 log kob/g 'dır. Çalışmamızdaki örneklerde koliform bakteriye rastlanmamıştır. *Staphylococcus Micrococcus* sayısı minimum-maximum değerleri 2.12- 4.79 log kob/g 'dır. Aw değeri minimum-maximum değerleri 0.984-0.999 'dır.

Tablo 4.3. Yumurta örneklerindeki mikotoksin pozitif örnek sayısı ve oranları

MİKOTOKSİNLER	ÖRNEK SAYISI	POZİTİF ÖRNEK SAYISI	YÜZDE
B1	40	5	12.5
G1	40	12	30
DON	40	12	30
OTA	40	5	12.5
ZEN	40	5	12.5

Çalışma kapsamında yapılan mikotoksin analizleri sonucunda, yumurta örneklerinin tamamında kontaminasyon tespit edildi. İncelenen yumurta örneklerinin 5 tanesinde AFB1 (%12.5) tespit edildi. İncelenen yumurta örneklerinin 12 tanesinde AFG1 (%30) tespit edildi. İncelenen yumurta örneklerinin 12 tanesinde (%30) DON tespit edildi. İncelenen yumurta örneklerinin 5 tanesinde (%12.5) OTA tespit edildi. İncelenen yumurta örneklerinin 5 tanesinde (%12.5) ZEN tespit edildi.

Tablo 4.4. Yumurta örneklerinin mikotoksin değerleri (ppb)

Mikotoksinler	Örnek Sayısı	Minimum	Maximum	Ort±SS
B1	5	0.25	0.84	0.46 ± 0.21
G1	12	0.71	3.17	1.15 ± 0.59
ZEA	5	3.44	9.54	6.40 ± 1.65
OTA	5	1.33	2.54	1.66 ± 0.44
DON	12	12.06	20.55	16.69 ± 2.69

Çalışma kapsamında mikotoksin analizleri sonucunda; Aflatoksin B1 (AFB1)'in 5 adet pozitif örnekteki maximum ve minimum değerleri sırasıyla 0.84-0.25 ppb olarak bulunmuştur. Aflatoksin G1 (AFG1)'in 12 adet pozitif örnekteki maximum ve minimum değerleri sırasıyla 3.17-0.71 ppb olarak bulunmuştur. Zearalenon (ZEA)'un 5 adet pozitif örnekteki maximum ve minimum değerleri sırasıyla 9.54-3.44 ppb olarak bulunmuştur. Ochratoxin (OTA)'in 5 adet pozitif örnekteki maximum ve minimum değerleri sırasıyla 2.54-1.33 ppb olarak bulunmuştur. Deoxynivalenol (DON)'un 12 adet pozitif örnekteki maximum ve minimum değerleri sırasıyla 20.55-12.06 ppb olarak bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

Yumurta, üretimden tüketime kadar çevresel faktörlere bağlı olarak fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimlere uğramaktadır. Bu durum yumurta kalitesinin düşmesine neden olarak, halk sağlığı açısından sorun oluşturabilmektedir (Avan ve Alişarlı, 2002). Bu nedenle çalışmamızda Erzurum piyasasında satışa sunulan farklı marka yumurtaların bazı kimyasal ve mikrobiyal özelliklerinin yanında bazı mikotoksin çeşitlerinin varlığı araştırılmıştır.

Çalışmada farklı marka yumurtaların ak ve sarı kısımlarının ortalama pH değerleri sırasıyla 9.15 ± 0.09 ve 6.66 ± 0.23 olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu ortalama pH değerleri daha önce yapılan çalışmalar ile benzerlik göstermektedir. Yapılan bir çalışmada yumurta örneklerinin ak ve sarı kısımlarının maksimum ve minimum pH değerleri sırasıyla 8.86-9.28 ve 6.25-7.33 belirlenirken, bu değer aralıklarının yumurtanın depolama süresi ve şartlarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Güler ve ark. 2022).

Çalışmamızda elde ettiğimiz renk değerlerinin ortalama L, a ve b değerleri sırasıyla 61.93 ± 5.86 , -4.45 ± 0.79 ve 13.51 ± 2.76 bulunmuş olup, önceki çalışmalardan farklıdır (Göçmen, 2015). Özellikle maksimum ve minimum değerler arasındaki farkın yüksek olması ise depolama süresi ve şartlarından kaynaklanabilir.

Su aktivitesi(a_w) mikroorganizmaların yaşamlarını sürdürebilmesi için gerekli olan serbest suyun bir ölçüsüdür. Gıdalarda kolayca ölçülebilen bir fizikokimyasal özelliktir. Gıda teknolojisinde önemli bir parametre olup fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kararlılığı belirlemektedir (Özay ve ark., 1993). Bu çalışmada alınan örneklerdeki su aktivitesi (a_w) değerinin minimum-maximum değerleri 0.984-0.999 aralığında bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmada genel anlamda yumurtadaki su

aktivitesi 0.997-0.998 aralığında bulunmuştur (Özay ve ark., 1993). Bu çalışmada elde ettiğimiz verilerde benzer çalışmayı destekleyici niteliktedir.

Yumurta, patojen mikroorganizmalar için bulaş kaynağı olup, risk taşımaktadır. Bu çalışmada Erzurum piyasasındaki yumurtalardan alınan örneklerde TMAB sayıları 2.00-4.46 log kob/g aralığında bulunmuştur. İncili ve ark. yaptıkları bir çalışmada ortalama TMAB sayısını 3.86-5.47 log kob/g arasında olduğunu belirlemiştir (İncili ve ark., 2019). Yapılan başka bir çalışmada ise TMAB sayısını 3.22-4.60 log kob/g seviyesinde bulmuştur (Dogruer ve ark., 2015). Çalışmamızda elde ettiğimiz ortalama TMAB sayısı diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir. Bu çalışmada TPAB sayısı 2.30-5.00 log kob/g aralığında bulunmuştur. İzmir ilinde A sınıfı yumurtalarda yapılan bir çalışmada TPAB'ye rastlanmamıştır. Elde edilen sonuçlar çoğunlukla yumurta kabuğunda veya ortamda bulunan mikroorganizmaların yumurta içerisine girmesiyle ve genellikle depolamada hijyenik şartların tam olarak sağlanılamaması nedeniyle olabileceğini düşündürmektedir (Dogruer ve ark., 2015).

Çalışmamızda karışık incelenen çeşitli market ve köy yumurtalarında ortalama 2.00-4.26 log kob/g düzeyinde maya-küf bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada maya ve küf oranı 6.80-6.97 olarak belirlenmiştir (Karadal, 2018). Başka bir çalışmada ise; Salem ve ark. analiz ettikleri yumurta örneklerinde ≥ 5 log kob/ml düzeyinde maya-küf olduğu belirtilmiştir (Salem ve ark., 2009). Çalışmalar arasındaki bu farklılığın işletmelerin üretim, paketlenme ve depolama aşamasında hijyenik kurallara uymalarından kaynaklanmaktadır. Mevcut çalışma kapsamında yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda yumurtalarda *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı 2.12-4.79 log kob/g olarak bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmada *Staphylococcus-Micrococcus* sayıları benzer bulunmuştur (Karadal, 2018).

Çalışmamızda incelenen 40 örnek yumurtada koliform bakteriye rastlanmamıştır. Elde ettiğimiz bu veriler Doğruer ve ark. yaptığı başka bir çalışma ile uyumluluk göstermektedir (Doğruer ve ark. 2015).

Yumurta bazı bakteriyel patojenler ve mikotoksin üreten mantarlarla kontamine olabilmesi açısından risk taşımaktadır. Kontamine olması durumunda ise mikrobiyolojik analizlerde bazı mikotoksinlere rastlanmaktadır. Yumurtalarda en fazla karşılaşılan mikotoksinler aflatoksin ve okratoksinler; trikotesenler, zearalenon ve fumosinler ise daha az karşılaşılan mikotoksinlerdir (Kök, 2021).

Aflatoksinler arasında AFB₁, toksisite ve tehlike açısından en önemlisidir. Bu çalışmada incelenen 40 örnek yumurtanın 5 tanesinde (%12.5) AFB₁ kalıntısına rastlanmıştır. AFB₁ kalıntısı tespit edilen yumurtalardaki ortalama değerin ise 0,46 ppm seviyesinde olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmaların birçoğunda mikotoksinle kontamine olmuş yemle beslenen tavukların sindirimini takiben AFB₁'in yumurtalara geçtiği rapor edilmiştir. Trucksess ve ark. (1983) yaptığı çalışmada 8 µg/g AFB₁ ile kontamine olmuş yemle beslenen tavukların yumurtalarında hemen AFB₁ kalıntısına rastlanmıştır. Yumurta oluşumunun herhangi bir aşamasında kontaminasyon gerçekleşmiş olabileceğini bildirmişlerdir (Trucksess ve ark. 1983). Awny ve ark. (2018) yaptığı bir çalışmada ise farklı oranlarda AFB₁ içeren yemlerle beslenmiş tavuklarda yemdeki mikotoksin miktarı arttıkça yumurtadaki AFB₁ miktarının artıp, yem alımının azaldığını belirtmişlerdir. Yumurtalardaki AFB₁ miktarı 0.02-0.09 µg/kg arasında olduğu rapor edilmiştir (Awny ve ark. 2018). Çalışmalar arasındaki bu farklılığın yemdeki AFB₁ düzeyinden ya da yumurtaların saklama koşullarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

De Beare ve ark. (2023) çalışmada sekiz yumurta örneğinde AFG₁ seviyesinin belirleme sınırının altında olduğunu tespit etmişlerdir (De Beare ve ark. 2023). Bu

çalışmada incelenen 40 yumurta örneğinin %30'unun AFG1 içerdiği ve 1.15 ppm seviyesinde olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonuçları arasındaki bu farklılığın örnek sayısının az olması, depolama şartları ve kullanılan yemin hijyenik kalitesi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Okratoksin çeşitlerinden okratoksin A (OTA) en yaygın ve en tehlikeli olanıdır. Yumurtaya geçiş süreciyle alakalı olarak OTA kontamine yemle beslenen tavuklardaki toksin geçişi daha kolay olabileceğiyle alakalı çalışmalar yapılmıştır (Kök, 2021). Bu çalışmada incelenen 40 örnek yumurtanın 5 tanesinde (%12.5) OTA kalıntısına rastlanmış olup, ortalama 1.66 ppm düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Bozzo ve ark., (2011) 0.1 mg/kg ve 2 mg/kg OTA ilave ettikleri yem ile 30 gün boyunca besledikleri tavukların yumurtalarındaki OTA miktarının belirlenebilir limitlerin altında olduğunu tespit etmişlerdir (Giancarlo, B., 2011). Diğer bir çalışmada incelenen 80 tavuk yumurtasının %35'inde OTA kalıntısı bulunmuştur ve bunun sebebinin yem kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Iqbal ve ark., 2014). Çalışmalar arasındaki farklılıkların tavk beslemede kullanılan yemlerin hijyenik kalitesi, yem ve yumurtaların saklama koşullarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Trikotesenlerin en önemli çeşitlerinden biride deoksinivalenol (DON) dur. Bu çalışmada incelenen 40 örnek yumurtanın 12 tanesinde (%30) DON kalıntısına rastlanmış ve kalıntı seviyesinin 16.69 ppm olduğu tespit edilmiştir. Prelusky ve ark., (1987) 35 adet tavuğa DON içeren yem verildiğinde, 24 saat sonra yumurtalarında 1.9 mg DON kalıntısına rastlanmıştır (Prelusky ve ark., 1987). Çalışmalar arasındaki bu farklılığın yemdeki DON kalıntı seviyesi, yumurtaların depolama koşulları ve mikotoksinin belirlenmesinde kullanılan yöntem farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Zearalenon östrojenik bir mikotoksindir ve yüksek nemde mısırdan doğal olarak

oluşur ve tavuk yumurtalarına büyük olasılıkla yem aracılığıyla geçtiği bildirilmektedir (Kök, 2021). Bu çalışmada incelenen 40 örnek yumurtanın 5 tanesinde (%12.5) ZEN kalıntısına rastlanmış ve ortalama 6.40 ppm seviyesinde olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan Allen ve ark., (1981) değişen miktarlarda ZEA ile kontamine edilmiş yemle beslenen tavukların yumurtalarında ZEA kalıntısına rastlanmamıştır (Allen ve ark., 1981). Çalışmalar arasındaki bu farklılığın yemdeki ZEA seviyesi, yumurtaların depolama koşulları ve mikotoksinin belirlenmesinde kullanılan yöntem farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yumurta içerisinde bulundurduğu zengin besin içeriği dolayısıyla hem kimyasal hemde mikrobiyal bozulmalara karşı oldukça duyarlı bir gıda maddesidir. Meydana gelen bu kimyasal ve mikrobiyal reaksiyonlar yumurtada kalite kayıplarına neden olmaktadır. Bu nedenle, depolama süresi boyunca yumurtaların kalitesini ve güvenliğini korumak için doğru stratejilerin uygulanması gıda güvenliğinin sağlanması ve kalite niteliklerinin korunması açısından önem taşımaktadır.

Mikotoksinler hem insan sağlığı hem de kanatlı sağlığı açısından önemli bir tehlikedir. Yumurtada toksin tehlikesinin önlenmesi için öncelikle hayvanlara yedirilen yem ve yem katkı maddelerinin mikotoksin içeriklerinin yasaların izin verdiği limitlerin altında olması gerekmektedir. Bunun için mikotoksinlerden korunma ve kontrol ham madde üretiminin yapıldığı tarlada başlamaktadır. İyi Tarım Uygulamaları (Good Agricultural Practices, GAP) kanatlı yemi üretiminde kullanılan ham maddelerde küflerin üremesi ve mikotoksin üretmesinin önlemesini amaçlamaktadır. Yem üretiminde kullanılacak kontamine tahılların dekontaminasyonu için kimyasal ve ısı uygulamaları hem pahalıdır hem de besin değerini düşürmektedir. Yumurtaların üretimi, taşıma ve muhafazasında sıcaklık, hijyen ve sanitasyon kurallarına uyulması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abrunhosa, L., Paterson, R. R. M., Kozakiewicz, Z., Lima, N. and Venâncio, A. 2001. Mycotoxin production from fungi isolated from grapes. *Letters in Applied Microbiology*, 32(4), 240-242
- Acosta Aragon, Y., Rodrigues, I., Hofstette, U., and Binder, E. M. 2011. Mycotoxins in silages: occurrence and prevention. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 1(1), 1-10.
- Akhtar, S., Shahzad, M. A., Yoo, S. ve Ismail, A. 2017. Determination Of Aflatoxin M1 And Heavy Metals In Infant Formula Milk Brands Available In Pakistani Markets, *Korean Journal Of Food Science Of Animal Resources*, 37, 79–86.
- Aldridge, D. C., and Turner, W. B. 1970. 9-Hydroxyphelminthosporol, a metabolite of *Cochliobolus* (*Helminthosporium*) *sativus*. *Journal of the Chemical Society C: Organic*, (5), 686-688
- Algan, Ö., 2007. Pastörize Sıvı Yumurtaların Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni Ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul: İstanbul Üniversitesi
- Allen NK, Mirocha CJ, Aakhus-Allen S, Bit-good JJ, Weaver G, Bates F. Effect of dietary zearalenone on reproduction of chickens. *Poultry Science*. 1981;60(6):1165-74.
- Amado, M. A. 1999. Aflatoxinas: um problema mundial. Millenium.
- Avan, T., ve Alisharlı, M. 2002. Muhafaza şartlarının yumurtanın fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13(1), 98-107

- Awany, C., Amer, A. A., and Abo El-Makarem, H. S. 2018. Microbial Hazards Associated with Consumption of Table Eggs. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, 58(1).
- Bakırcı, G. T. 2014. Tahıl Ve Tahıl Ürünlerinin Aflatoksin, Okratoksin A, Zearalenon, Fumonisin Ve deoksinivalenol mikotoksinleri yönünden incelenmesi. *Akademik Gıda*, 12(2), 46-56.
- Bakutis, B., Baliukonienė, V., and Paškevičius, A. 2005. Use of biological method for detoxification of mycotoxins. *Botanica Lithuanica* (1392-1665), 11.
- Banwart, G.J. 1989. Basic Food Microbiology. New York: An Avi Book
- Bata, Á., and Lásztity, R. 1999. Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. *Trends in Food Science and Technology*, 10(6-7), 223-228.
- Battilani, P., and Pietri, A. 2002. Ochratoxin A in grapes and wine. *Mycotoxins in Plant Disease: Under the aegis of COST Action 835 'Agriculturally Important Toxigenic Fungi 1998-2003', EU project (QLK I-CT-1998-01380), and ISPP 'Fusarium Committee'*, 639-643.
- Becker-Algeri, T. A., Castagnaro, D., de Bortoli, K., de Souza, C., Drunkler, D. A., and Badiale-Furlong, E. 2016. Mycotoxins in bovine milk and dairy products: A review. *Journal of food science*, 81(3), R544-R552
- Belli, N., Marin, S., Sanchis, V., and Ramos, A. J. 2002. Ochratoxin A (OTA) in wines, musts and grape juices: occurrence, regulations and methods of analysis. *Food Science and Technology International*, 8(6), 325-335
- Bennett, J. W. 1987. Mycotoxins, mycotoxicoeses, mycotoxicology and Mycopathologia. *Mycopathologia*, 100(1), 3-5.

- Betina, V. 1989. Structure-activity relationships among mycotoxins. *Chemico-biological interactions*, 71(2-3), 105-146.
- Bowman, S. A., Lino, M., Gerrior, S. A., and Basiotis, P. P. 1998. The healthy eating index: 1994–96. Washington, DC: US Department of Agriculture. *Center for Nutrition Policy and Promotion*, 1-28.
- Giancarlo, B., Elisabetta, B., Edmondo, C., Valeriana, C., and Giuseppina, T. 2011. Determination of ochratoxin A in eggs and target tissues of experimentally drugged hens using HPLC–FLD. *Food chemistry*, 126(3), 1278-1282.
- Brase, S., Encinas, A., Keck, J., and Nising, C. F. 2009. Chemistry and biology of mycotoxins and related fungal metabolites. *Chemical reviews*, 109(9), 3903-3990
- Bullerman, L. B. 1979. Significance of mycotoxins to food safety and human health. *Journal of Food Protection*, 42(1), 65-86
- Calvo, A. M., Wilson, R. A., Bok, J. W., and Keller, N. P. 2002. Relationship between secondary metabolism and fungal development. *Microbiology and molecular biology reviews*, 66(3), 447-459.
- Clay, C.E., Lock, J.L., Dolman J., Radford, S.A. ve Board, R.G. 1993. Microbiology. *Encyclopaedia of Food Science Food Technology and Nutrition*. Academic Press
- Cotty, P. J., and Bhatnagar, D. 1994. Variability among atoxigenic *Aspergillus flavus* strains in ability to prevent aflatoxin contamination and production of aflatoxin biosynthetic pathway enzymes. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(7), 2248-2251
- Creppy, E. E., Chiarappa, P., Baudrimont, I., Borracci, P., Moukha, S., and Carratù, M. R. 2004. Synergistic effects of fumonisin B1 and ochratoxin A: are in vitro

- cytotoxicity data predictive of in vivo acute toxicity?. *Toxicology*, 201(1-3), 115-123.
- Çanga G. Dünyada ve Türkiye’de yumurta mevzuatı. Yalçın S, editör. Yumurta: Beslenme ve Sağlık. 1. Baskı. Ankara: *Türkiye Klinikleri*; 2021. p.10-9.
- De Baere, S., Ochieng, P. E., Kemboi, D. C., Scippo, M. L., Okoth, S., Lindahl, J. F., ... and Croubels, S. 2023. Development of high-throughput sample preparation procedures for the quantitative determination of aflatoxins in biological matrices of chickens and cattle using UHPLC-MS/MS. *Toxins*, 15(1), 37.
- Demirel, M., ve Yıldırım, A. 2000. Van yöresinde yetiştirici şartlarında depolanan kaba yemlerde aflatoksin oluşumunun saptanması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 10(1), 77-83.
- Deniz, B. A. Ş., ve Deniz, E. 2015. Gıda Güvenliği Ve Kalite Kontrolünde Biyosensörler. *Gıda*, 40(4), 225-232.
- Denli, Y., ve Özkan, G. 1999. Yüksek performans sıvı kromatografi yöntemi ile şaraplarda sorbik asit tayini. *Gıda*, 24(3).
- Diaz, D. E., Hagler Jr, W. M., Hopkins, B. A., Patton, R. A., Brownie, C., and Whitlow, L. W. 2001. The effect of inclusion of a clay type sequestering agent on milk production of dairy cattle consuming mycotoxins contaminated feeds. *J. Dairy Sci*, 84, 1554
- Diener, U. L., and Davis, N. D. 1970. Limiting temperature and relative humidity for aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in stored peanuts. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 47(9), 347-351.
- Doğruer, Y., Telli, N., Telli, A. E., Kahraman, H. A., ve Güner, A. 2015. Comparison of pasteurized liquid egg with shell eggs in terms of some quality characteristics. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 31(3), 177-183.

- Driehuis, F. 2011. Occurrence of mycotoxins in silage. In *Proceedings of the II International Symposium*
- Driehuis, F., Spanjer, M. C., Scholten, J. M., and Te Giffel, M. C. 2008. Occurrence of mycotoxins in feedstuffs of dairy cows and estimation of total dietary intakes. *Journal of dairy science*, 91(11), 4261-4271
- EC, 1998. Commission Regulation (EC) No.1525/98 Of July 1998, Amending Regulation (EC No.194/97 Of 31 Jan.1997), Setting Maximum Levels For Certain Contaminants In Foodstuffs. *Official Journal Of The European Communities*.
- Efil, H. Ve Sarıca, M., 1997. Yumurta tanımında güçlükler ve son gelişmeler. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12 (3). 141-150.
- Eke, M. O., Olaitan, N. I., and Ochefu, J. H. 2013. Effect of storage conditions on the quality attributes of shell (table) eggs. *Nigerian Food Journal*, 31(2), 18-24.
- El Khoury, A., and Atoui, A. 2010. Ochratoxin A: General overview and actual molecular status. *Toxins*, 2(4), 461-493
- Erzurum, K. 2001. Gıdalarda mikotoksin oluşumunu etkileyen faktörler. *Gıda*, 26(4).
- Fremy, J. M., and Chu, F. S. 1989. Immunochemical methods of analysis for aflatoxin M1. *Mycotoxins in dairy products.*, 97-125.
- Fremy, JM and Usleber, E. 2003. Policy on characterization of antibodies used in immunochemical methods of analysis for mycotoxins and phycotoxins. *Journal of AOAC International*, 86: 868–871.
- Gilbert, J and Anklaam, E. 2002. Validation of analytical methods for determining mycotoxins in foodstuffs. *Trends in Analytical Chemistry*, 21: 468–486.
- Gimeno, A., and Martins, M. L. (2006). *Mycotoxins and Mycotoxicosis in Animal and Humans*.

- Göçmen, R., Kanbur, G., ve Cufadar, Y. 2015. Yumurta tavuğu rasyonlarına soya yağı, ayçiçek asit yağı ve kombinasyonlarının ilavesinin performans, yumurta kalitesi ve yumurta sarısı yağ asidi kompozisyonuna etkileri. *Journal of Poultry Research*, 12(1), 12-15.
- Göktan, D. ve Tuncel, G. 1986. Yumurtanın Salmonella ile enfeksiyonu üzerine bir araştırma. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi Seri: B Gıda Mühendisliği*. 4(1), 11-15.)
- Gressel, J., Hanafi, A., Head, G., Marasas, W., Obilana, A. B., Ochanda, J. and Tzotzos, G. 2004. Major heretofore intractable biotic constraints to African food security that may be amenable to novel biotechnological solutions. *Crop protection*, 23(8), 661-689
- Griessler, K., Rodrigues, I., Handl, J., and Hofstetter, U. 2010. Occurrence of mycotoxins in Southern Europe. *World Mycotoxin Journal*, 3(3), 301-309
- Griffiths, M. W. (2005). Issues related to the safety of eggs and egg products. *Chile: University of Chile*.
- Güler, G., Ayşe, Ş. E. N., Turgud, F. K., Tahtabiçen, E., Aylin, A. Ğ. M. A., ve Samlı, H. E. 2022. Serbest gezen tavuklardan elde edilen yumurtaların propolis ekstraktı ile kaplanmasının raf ömrü ve kalite parametrelerine etkileri. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(1), 89-100.
- Güneşer, O., ve Yüceer, Y. K. 2010. Gıdalarda aroma maddelerinin belirlenmesinde gaz kromatografisi-olfaktometri (GCO) tekniklerinin kullanılması. *Gıda*, 35(5), 371-378
- Hassan ZU, Khan MZ, Khan A, Javed I, Hus-sain Z. 2012. Effects of individual and combined ad-ministration of ochratoxin A and aflatoxin B1 in tissues and eggs

- of White Leghorn breeder hens. *Journal of Science of Food and Agriculture*;92:1540-4
- Iqbal SZ, Nisar S, Asi MR, Jinap S. 2014. Natural incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in chicken meat and eggs. *Food Control*;43:98-103.
- Ismail A., Gonçalves, B.L., De Neeff, D.V., Ponzilacqua, B., Coppa, F.S.C., Hintzsch, H., Sajide, M., Cruz, A.G., Corassin, C.H. Ve Oliveira, C.A.F., 2018. Aflatoxin In Foodstuffs: Occurrence And Recent Advances In Decontamination, *Food Research International*, 113, 74-85.
- İncili, G. K., Durmuşoğlu, H., Güngören, A., ve İlhak, O. İ. 2019. Elazığ İlinde Satışa Sunulan Konvansiyonel (kafes tipi) ve Köy Yumurtalarının Mikrobiyolojik Kalitesinin Araştırılması. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12(2), 97-102.
- Karadal, F. 2018. Niğde ve Kayseri’de Satışa Sunulan Köy ve Market Yumurtalarının Mikrobiyolojik Kalitesi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 51-57
- Karademir, S. 2018, Farklı Sistemlerde Üretilen Yemelik Yumurtaların Bazı Kalite Özelliklerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Ankara: Ankara Üniversitesi
- Kaya, S. 1987. Yem Ve Besinlerdeki Mikotoksinler: İnsan Ve Hayvan Sağlığı İçin Önemleri. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 36(01)
- Kiessling, K. H. 1986. Biochemical mechanism of action of mycotoxins. *Pure and applied chemistry*, 58(2), 327-338
- Koelkebeck, K. W. 2012. What is egg shell quality and how to preserve it. *Cheva-Eggs Program*, 8(4), 1-2.

- Kök F. Yumurta ve mikotoksinler. Yalçın S, editör. Yumurta: Beslenme ve Sağlık. 1. Baskı. Ankara: *Türkiye Klinikleri*; 2021. p.139-44.
- Kralik, Z., Kralik, G., Grčević, M., and Galović, D. 2014. Effect of storage period on the quality of table eggs. *Acta Agraria Kaposvariensis*, 18(1), 200-206.
- Kralj Cigić, I., and Prosen, H. 2009. An overview of conventional and emerging analytical methods for the determination of mycotoxins. *International Journal Of Molecular Sciences*, 10(1), 62-115
- Krska, R., Schubert-Ullrich, P., Molinelli, A., Sulyok, M., MacDonald, S., and Crews, C. 2008. Mycotoxin analysis: An update. *Food Additives And Contaminants*, 25(2), 152-163
- Kumar, G. D. S., and Popat, M. N. 2010. Farmers' perceptions, knowledge and management of aflatoxins in groundnuts (*Arachis hypogaea* L.) in India. *Crop Protection*, 29(12), 1534-1541.
- Kuntz, L.A. 1998. The Egg and the Equivalent. Erişim 22.09.2007
- Lanier, C., Heutte, N., Richard, E., Bouchart, V., Lebailly, P., and Garon, D. 2009. Mycoflora and mycotoxin production in oilseed cakes during farm storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(4), 1640-1645.
- Leeson S, Diaz G, Summers JD. 1995. Poultry metabolic disorders and mycotoxins. *Canada: University Bookstore, Guelph*; p.190-226
- Lesnierowski G, Stangierski J. 2018. What's new in chicken egg research and technology for human health promotion? -A review. *Trends in Food Science and Technology*;71:46-51.
- Lillehoj, E. B. 1973. Feed sources and conditions conducive to production of aflatoxin, ochratoxin, Fusarium toxins, and zearalenone. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 163(11), 1281-1284.

- Lun AK, Young LG, Moran Jr ET, Hunter DB, Rodriguez JP. 1986. Effects of feeding hens a high level of vomitoxin-contaminated corn on performance and tissue residues. *Poultry Science*;65:1095-9
- Marshall, D. L., and Bullerman, L. B. 1986. Effect of sucrose esters in combination with selected mold inhibitors on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Journal of Food Protection*, 49(5), 378-382.
- Martins, G. D. A. 2008. Estudo de caso. São Paulo: Atlas
- McMillian, W. W., Wilson, D. M., and Widstrom, N. W. 1978. *Insect damage, Aspergillus flavus ear mold, and aflatoxin contamination in South Georgia corn fields in 1977* (Vol. 7, No. 4, pp. 564-566). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America
- Munkvold, G. P. 2003. Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Annual Review Of Phytopathology*, 41(1), 99-116
- Murphy, P. A., Hendrich, S., Landgren, C., and Bryant, C. M. 2006. Food mycotoxins: an update. *Journal Of Food Science*, 71(5), R51-R65.
- Oldenburg, E. 1993. Occurrence of zearalenone in maize. *Mycotoxin Research*, 9(2), 72-78.
- Oliveira, A. D. Q., Soares, L. M. V., and Sawazaki, E. 2001. Survey Of Deoxynivalenol, Diacetoxyscirpenol, And T2 Toxin In Popcorn Hybrids Planted In The State Of São Paulo And In Popcorn Commercialized in the city of Campinas, SP. *Food Science and Technology*, 21, 330-333
- Oliveira CAF, de Neeff, DV, de Pinho Carão AC, Corassin CH. 2017. Mycotoxin Impact on Egg Production. In *Egg Innovations and Strategies for Improvements*. Elsevier Inc.; p.581-96.

- Oruç, H. H. 2005. Mikotoksinler Ve Tanı Yöntemleri. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(1-2-3-4), 105-110.
- Özay, G., Pala, M. ve Saygı, B. 1993. Bazı Gıdaların Su Aktivitesi Yönünden İncelenmesi. *Gıda*, 18(6).
- Öziç, R. (2015). *Çeşitli Tahıl Unlarındaki Mikotoksijenik Fungusların Tanımlanarak Temel Mikotoksin Potansiyellerinin Araştırılması* (Doctoral dissertation, Anadolu University (Turkey)).
- Parish, M. E. 2009. Food safety issues and the microbiology of fruit beverages and bottled water. *Microbiologically Safe Foods*, 291-304
- Plested, J. S., Coull, P. A., and Gidney, M. A. J. (2003). ELISA. *Haemophilus influenzae Protocols*, 243-261.
- Prelusky DB, Trenholm HL, Hamilton RMG, Miller JD. 1987. Transmission of 14C-labelled de-oxyvalenol to eggs following oral administration to laying hens. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*;33:182-6
- Proctor, R. H., Desjardins, A. E., McCormick, S. P., Plattner, R. D., Alexander, N. J., and Brown, D. W. 2002. Genetic analysis of the role of trichothecene and fumonisin mycotoxins in the virulence of *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology*, 108(7), 691-698
- Purwoko, H. M., Hald, B., and Wolstrup, J. 1991. Aflatoxin content and number of fungi in poultry feedstuffs from Indonesia. *Letters in applied microbiology*, 12(6), 212-215
- Rahmani, A., Jinap, S., and Soleimany, F. 2009. Qualitative and quantitative analysis of mycotoxins. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 8(3), 202-251

- Raisuddin, S., Singh, K. P., Zaidi, S. I. A., Paul, B. N., and Ray, P. K. 1993. Immunosuppressive effects of aflatoxin in growing rats. *Mycopathologia*, 124(3), 189-194.
- Rheeder, J. P., Marasas, W. F., and Vismer, H. F. 2002. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Applied and environmental microbiology*, 68(5), 2101-2105
- Rheeder, J. P., Marasas, W. F., Thiel, P. G., Sydenham, E. W., Shephard, G. S., and Van Schalkwyk, D. J. 1992. *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei
- Robens, J. F., and Richard, J. L. 1992. Aflatoxins in animal and human health. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 69-94.
- Sabuncuoğlu, S. A., Baydar, T., Giray, B., ve Şahin, G. 2008. Mikotoksinler: Toksik etkileri, degradasyonları, oluşumlarının önlenmesi ve zararlı etkilerinin azaltılması. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, (1), 63-92
- Sağlam, A., ve Masatcıoğlu, M. T. 2021. Rasff Sisteminde Tahıl Ve Fırıncılık Ürünlerinin Aflatoksin Ve Okratoksin A Düzeyleri Ve Hatay Yöresi Buğdaylarının Bu Mikotoksinler Açısından Değerlendirilmesi. *Gıda*, 46(5), 1195-1204
- Salem, R. M., El-Kaseh, R. M., and El-Diasty, E. M. (2009). A study on the fungal contamination and prevalence of aflatoxins and some antibiotic residues in table eggs. *Arab Journal of Biotechnology*, 12(1), 65-71.
- Sarıburun, E. 2009. *Bursa'da Yetiştirilen Bazı Ahududu (Rubus İdaeus L.) Ve Böğürtlen (Rubus Fruticosus L.) Çeşitlerinin Fenolik Bileşiklerinin Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometresi (LC-MS) İle İncelenmesi Ve Antioksidan Aktivite Tayinleri* (Doctoral dissertation, Bursa Uludag University (Turkey)).

- Sarıca, M., Erensayın C. 2009. Tavukçuluk ürünleri, Editörler: Türkoğlu, M., Sarıca, M., *Tavukçuluk Bilimi (Yetiştirme Besleme ve Hastalıklar)*. 3. Baskı, Bey Ofset Matbaacılık, Ankara, 89-138.
- Scott, P. M. 1995. Mycotoxin methodology. *Food Additives and Contaminants*, 12(3), 395-403.
- Scott, P. M., and Trucksess, M. W. 1997. Application of immunoaffinity columns to mycotoxin analysis. *Journal of AOAC International*, 80(5), 941-950
- Scussel, V. M. 1998. Micotoxinas em alimentos. In *Micotoxinas em alimentos* (pp. 144-144)
- Sforza, S., Dall'Asta, C., and Marchelli, R. 2006. Recent advances in mycotoxin determination in food and feed by hyphenated chromatographic techniques/mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*, 25(1), 54-76
- Siddique, T., Okeke, B. C., Arshad, M., and Frankenberger, W. T. 2003. Biodegradation kinetics of endosulfan by *Fusarium ventricosum* and a *Pandora* species. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 51(27), 8015-8019
- Spanjer, M. C., Scholten, J. M., Kastrup*, S., Jörissen, U., Schatzki, T. F., and Toyofuku, N. 2006. Sample comminution for mycotoxin analysis: Dry milling or slurry mixing?. *Food Additives and Contaminants*, 23(1), 73-83
- Sparks, N.H.C. 1999. Microbiology of Fresh Eggs. Academic Press
- Steyn, P. S. 1995. Mycotoxins, general view, chemistry and structure. *Toxicology letters*, 82, 843-851
- Şekeroğlu, A., 2002. Serbest yetiştirme (Free - Range) sisteminin beyaz ve kahverengi yumurtacı genotiplerin yumurta verim ve kalitesine etkisi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni ABD. Doktora Tezi.

- Tayfur, M. 1993. Besinlerdeki küfler ve mikotoksinler. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 22(1), 101-108
- Tekinşen, C. O., and Çelik, C. (1995). Yumurta. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Selçuk Üniversitesi Basımevi*, Konya, Türkiye, 2.
- Temamoğulları, F., ve Kaya, S. 2010. Ankara Piyasasında Satılan Sütlerde Bazı Antibiyotik Kalıntılarının İnce Tabaka Kromatografisi Ve Biyootografik Yöntemle Saptanması. *Journal Of The Faculty Of Veterinary Medicine*, University Of Kafkas, Kars, 16(2), 187-191
- Tonbak, F. ve Demir, P. 2021. Yem ve Gıdalarla Hayatımıza Giren Aflatoksinleri Önleme Yöntemleri. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 12(2), 105-117
- Trucksess, M. W., Stoloff, L., Young, K., Wyatt, R. D., and Miller, B. L. 1983. Aflatoxicol and aflatoxins B1 and M1 in eggs and tissues of laying hens consuming aflatoxin-contaminated feed. *Poultry Science*, 62(11), 2176-2182.
- Turner, W. B.; Academic Press., London; New York, USA, UK, Fungal metabolites, 1971, pp.xi + 446 pp.
- Türk Gıda Kodeksi Yumurta Tebliği (RG:20/12/2014-29211)
- Ueno, I. 1985. A Simple And Improved Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Method For Microquantitation Of Aflatoxin B1 İn Peanuts And Blood Plasma. *Jsm Mycotoxins*, (21), 24-27.
- Valle-Algarra, F. M., Medina, A., Gimeno-Adelantado, J. V., Llorens, A., Jiménez, M., and Mateo, R. 2005. Comparative assessment of solid-phase extraction clean-up procedures, GC columns and perfluoroacylation reagents for determination of type B trichothecenes in wheat by GC–ECD. *Talanta*, 66(1), 194-201

- Versantvoort, C. H., Oomen, A. G., Van de Kamp, E., Rompelberg, C. J., and Sips, A. J. 2005. Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food And Chemical Toxicology*, 43(1), 31-40.
- Wang L, Zhang Q, Yan Z, Tan Y, Zhu R, Yu D, et al. 2018. Occurrence and quantitative risk assessment of twelve mycotoxins in eggs and chicken tissues in China. *Toxins*; 10(11)
- Whitaker, T. B. 2006. Sampling foods for mycotoxins. *Food Additives And Contaminants*, 23(1), 50-61
- Zain, M. 2011. Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi chemical society*, 15(2), 129-144.
- Zheng, M. Z., Richard, J. L., and Binder, J. 2006. A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia*, 161(5), 261-273

EKLER

EK-1. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

	SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ Graduate School of Health Sciences	
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹		
Öğrencinin Adı ve Soyadı	Seda Nur Arslan	
Öğrencinin Numarası		
Ana Bilim Dalı	Veterinerlik Gıda Hijyeni ve Teknolojisi	
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans	
Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.		
Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 0	% 15
II. Genel Bilgiler	% 14	% 35
III. Materyal ve Metod	% 35	% 35
IV. Bulgular	% 8	% 15
V. Tartışma	% 0	% 20
Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.		
¹ Bu form bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tez Savunması Jüri Öneri Formu'yla birlikte Ana Bilim Dalı Başkanlığı aracılığıyla ÜBYS üzerinden Enstitüye iletilmelidir.		

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
Birim Etik Kurul Kararı

Karar Sayısı : 2021/28	Karar Tarihi : 27 / 10 / 2021
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Dr.Öğr.Üyesi Sevda URÇAR GELEN'in yürütücülüğünde, Veteriner Fakültesi Dekanlığının Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarlarında yürütülecek olan “Erzurum Piyasasında Satışa Sunulan Yumurtalarda Bazı Mikotoksinlerin ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi” isimli Yüksek Lisans Tez çalışmasının yürütülmesi ile ilgili Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Dr.Öğr.Üyesi Sevda URÇAR GELEN'in 20.10.2021 tarihli ve E-2100283728 sayılı yazısı ve ekindeki Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Birim Etik Kurulu (AÜVFBK) Başvuru Formu ve Taahhütname Kurulumuz tarafından değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirmede; adı geçen Yüksek Lisans Tez çalışmasının yürütülmesinin, Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ilkesine UYGUN olduğuna, Taahhütname hükümlerine göre, çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, alınan kararın Rektörlük Makamına (Hukuk Müşavirliğine) ve ilgili öğretim üyesine bildirilmesine, mevcut oy birliği ile karar verilmiştir.	