

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI KAFES KUŞU YEMLERİNDE DOĞAL OLUMSUZLUK  
FAKTÖRLERİNİN (AFLATOKSİNLER, NİTRİT, NİTRAT,  
TANEN VE SODYUM KLORÜR) BELİRLENMESİ**

**Hakan GÜRELİ**

**FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Ali BİLGİLİ**

**2010 - ANKARA**

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
**Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Doktora Programı**  
Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
**Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28.01. 2010

Prof. Dr. Ferda AKAR  
Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı  
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Emine BAYDAN  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Ali BİLGİLİ  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Çiğdem ALTINSAAT  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

# İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	v
Şekiller	vi
Çizelgeler	vii
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Aflatoksinler	1
1.2. Nitrat ve Nitrit	10
1.3. Tanen	13
1.4. Sodyum Klorür	15
1.5. Sınır Değerler	16
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>17</b>
2.1. Aflatoksin Analizi	17
2.2. Nitrat ve Nitrit Analizi	23
2.3. Tanen Analizi	29
2.4. Sodyum Klorür Analizi	30
<b>3. BULGULAR</b>	<b>31</b>
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>39</b>
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>45</b>
<b>ÖZET</b>	<b>47</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>48</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>49</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>58</b>

## ÖNSÖZ

Hekimlik bir sanat, hekimler de birer sanatçıdır ve bu sanatçıların en önemli enstrümanları ise kullandıkları ya da kullanabildikleri bilgileridir. Bu enstrümanlar ise bilimsel çalışmalar ile ortaya çıkarılmakta ve sanatın her alanında, yani biz veteriner hekimler için koruyucu ve sağaltıcı hekimlik adına kullanılmak üzere sanatçılara verilerek sanatlarını en iyi şekilde icra etmeleri sağlanmaktadır.

Yaptığımız bu çalışmanın ve ileride yapacağım çalışmaların mesleğime, meslektaşlarıma, ülkeme ve bilime faydalı olması dileğiyle...

Hayatımın her döneminde olduğu gibi eğitim ve öğretim hayatım boyunca da hep yanımda ve arkamda olan başta annem Güler GÜRELİ, babam Rıza GÜRELİ ve abim Hüseyin GÜRELİ olmak üzere aileme, çalışmanın gerçekleştirilmesinde yardım ve desteklerini esirgemeyen Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'na, öğrencilik ve mezuniyetimden sonraki mesleki yaşamımda ve yine doktora eğitimim sürecince de en büyük desteklerim olan bilgi ve sabırlarını esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Ali BİLGİLİ ve Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ'ye, Prof. Dr. Emine BAYDAN'a, Prof. Dr. Çiğdem ALTINSAAT'e, Prof. Dr. Sezai KAYA'ya, Prof. Dr. Ender YARSAN'a, laboratuvar çalışmalarımıda büyük yardımları olan kimyager Süreyya KARAASLAN'a, Araş. Gör. Dr. Levent ALTINTAŞ, Araş. Gör. Ayşe KANICI, Araş. Gör. Hüsamettin EKİCİ, Araş. Gör. Begüm YURDAKÖK ve tüm Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı çalışanlarına, değerli arkadaşlarım Dr. B. Hakan KÖKSAL ve Vet. Hek. Sezer SEZGİN'e, çalışmalarımıda büyük destekleri olan başta Dr. Edibe N. BOZKURT olmak üzere, Tuğrul KAYMAK, değerli arkadaşım H. Mehmet DUYUM'a ve tüm Mikotoksin Laboratuvarı çalışanlarına ve istatistiki değerlendirmeler aşamasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Safa GÜRCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

## SİMGELER ve KISALTMALAR

ACN	: Asetonitril
AFB <sub>1</sub>	: Aflatoksin B <sub>1</sub>
AFB <sub>2</sub>	: Aflatoksin B <sub>2</sub>
AFG <sub>1</sub>	: Aflatoksin G <sub>1</sub>
AFG <sub>2</sub>	: Aflatoksin G <sub>2</sub>
AFM <sub>1</sub>	: Aflatoksin M <sub>1</sub>
AFM <sub>2</sub>	: Aflatoksin M <sub>2</sub>
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ATA	: Alimenter Toksik Alöki
CE	: Kapillar elektroforez
ELISA	: Enzim bağlanmış immünoabsorbant yöntemi
EMIT	: Enzim etkinliğine bağlı immünoteknik
FLD	: Floresan dedektör
FPIA	: Floresans polarizasyon immunoassay tekniği
GC/MS	: Gaz kromatografisi/kütle spektrofotometresi
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografi
IAK	: İmmüno affiniti kolon
İTK	: İnce tabaka kromatografi
LD <sub>50</sub>	: Öldürücü Doz <sub>50</sub>
M	: Molar
NED	: N-(1-Naftil) etilen diamin
PBS	: Fosfat tampon çözeltisi
PEG	: Polietilen glikol
ppb	: Milyarda kısım, µg/kg veya µg/L
ppm	: Milyonda kısım, mg/kg veya mg/L
RP-HPLC	: Ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografi
UV	: Ultraviyole

## ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Kadmiyum indirgeme kolonu	26
Şekil 3.1. Negatif yem örneği kromotogramı	36
Şekil 3.2. Pozitif yem örneği kromotogramı	36
Şekil 3.3. Standarda ait kromotogram	36

## ÇİZELGELER

<b>Çizelge 1.1.</b> Bazı mikotoksinlerin coğrafik dağılımları	4
<b>Çizelge 1.2.</b> Aflatoksinlerin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri	7
<b>Çizelge 1.3.</b> Bazı hayvan türlerinde AFB <sub>1</sub> 'in akut öldürücü dozları (oral alım, LD <sub>50</sub> )	8
<b>Çizelge 1.4.</b> Yemlerde zehirli olabilecek nitrat miktarları	12
<b>Çizelge 3.1.</b> Yemlerde bulunan toplam aflatoksin miktarlarının dağılım aralıkları	31
<b>Çizelge 3.2.</b> Yemlerde bulunan AFB <sub>1</sub> miktarlarının dağılım aralıkları	32
<b>Çizelge 3.3.</b> Yemlerde bulunan AFB <sub>2</sub> miktarlarının dağılım aralıkları	32
<b>Çizelge 3.4.</b> Yemlerde bulunan AFG <sub>1</sub> miktarlarının dağılım aralıkları	32
<b>Çizelge 3.5.</b> Muhabbet kuşu yemlerindeki aflatoksin miktarları	33
<b>Çizelge 3.6.</b> Kanarya yemlerindeki aflatoksin miktarları	34
<b>Çizelge 3.7.</b> Papağan yemlerindeki aflatoksin miktarları	35
<b>Çizelge 3.8.</b> Tüm yemlerde aflatoksin miktarları	35
<b>Çizelge 3.9.</b> Yemlerdeki nitrat miktarları ve sayısal dağılımları	37
<b>Çizelge 3.10.</b> Yemlerdeki nitrit yönünden negatif ve pozitif örneklerin dağılımları	37
<b>Çizelge 3.11.</b> Yemlerdeki nitrat, nitrit, tanen ve sodyum klorür miktarları	38

## 1. GİRİŞ

Hayvanlar, geçmişinden günümüze kadar insanoğlunun yaşamının bir parçası olmuştur. İnsanoğlu, hayvanları sürekli gözlemlemiş ve zamanla onları rastgele öldürmek yerine, evcilleştirerek çeşitli ürünlerinden yararlanmıştır (Özgür, 1997). İlk zamanlarda beslenme ihtiyacının karşılanması ve iş gücü olarak yararlanılmışsa da; günümüzde toplumların gelişmesi ve ekonomik refahın artması ile artık hayvanlar zevk için de beslenmektedirler. Bu hayvanlar içinde de kafes kuşları önemli bir yere sahiptir. Türkler için kafes kuşu yetiştiriciliği atalarından miras kalan güzel bir alışkanlıktır. Günümüzde ise bu yetiştiricilik zevki ve alışkanlığı önemli bir ekonomik boyut kazanmıştır (Baydan ve ark., 1996; Petek, 2004).

Kafes kuşu yetiştiriciliğinin yaygınlaşması ile birlikte veteriner hekimlerin de bu hayvanların bakım, beslenme ve sağlık problemleriyle karşılaşma sıklıkları artmaktadır (Salt ve ark., 2000). Veteriner hekim tarafından hasta hayvanların durumları değerlendirilirken, enfeksiyöz etkenlerin yanı sıra beslenmeyle ilgili problemlerin ve yemlerde doğal olarak var olan ya da oluşabilen toksik maddelerin de değerlendirilmesi, doğru tanı ve uygun sağaltım açısından oldukça önemlidir.

Yem kalitesi ve dolayısıyla da sağlıklı beslenme için gıda ya da yem maddeleri, besin içeriklerinin yanı sıra fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan da güvenilir olmalıdır. Ayrıca yem ya da gıda maddelerinde doğal olarak bulunan veya oluşabilen mikotoksinler, nitrat-nitrit, tanen ve sodyum klorür gibi toksik maddelerin varlığı da sağlık açısından önem taşımaktadır (Kaya ve ark., 1999; Barug ve ark., 2003; Basmacıoğlu ve Ergül, 2003; Blake, 2008; Merck, 2008).

### 1.1. Aflatoksinler

Mikotoksinler yem ve gıda maddelerinde mevcut çeşitli mantar türleri (sıklıkla *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium*) tarafından sentezlenen ikincil zehirli metabolitlerdir (Ratcliff, 2002; Leung, 2006; Oliveira ve ark., 2006). Bu maddeler



gıda ve yemlerde bulunan kimyasal etkenler içerisinde insan ve hayvan sağlığını tehdit eden en önemli tehlikelerden biridir. Bu toksinlerle bulaşık gıda ve yemleri yiyen insan ve hayvanlarda latent, akut ya da kronik karakterde zehirlenmeler (mikotoksikozis) meydana gelir (Wood, 1992; Nizamlioğlu, 1996; Anon 2008a, Becer, 2008). İki ya da daha fazla mikotoksin varlığında aralarında sinerjik etki oluşabilir (Akande ve ark., 2006; Anon, 2009a).

Genellikle kirlenmiş yemlerle beslenen hayvanlarda mikotoksinlerden ileri gelen olaylar pek belirgin klinik belirtilere neden olmadığından dolayı gözden kaçır ve fark edilmeden seyreder. Bu durum ise hayvan sağlığı ve işletmenin karlılığı açısından, ayrıca da hayvansal kaynaklı gıdalardaki toksik kalıntıların insanlar tarafından alınması ile doğuracağı toplum sağlığı sorunları açısından önemli ve gizli bir tehlike oluşturur (Yarsan ve Özdemir, 1997; Hussein ve Brasel, 2001; Leung ve ark., 2006). Bu toksinler, alınan toksin miktarı, maruz kalma süresi, toksinin türü, hayvanın türü, yaşı ve duyarlılığı gibi değişenlere bağlı olmak üzere, insan ve hayvanlarda teratojenik, kanserojenik, östrojenik, hepatotoksik, nefrotoksik, dermatotoksik, nörotoksik, immünosupresif etkilere neden olurlar (Traş ve Baş, 1992; Kaya ve Yarsan, 1999; Sonal ve Oruç, 2000; Aydın, 2007; Anon 2008a).

Mikotoksin oluşturan mantarlar dünyanın her yerinde yaygın bir şekilde bulunurlar. Gerek sahada, gerekse harmanlama, depolama, taşıma ve işleme sırasında özellikle ısı ve rutubet şartları mantarların gelişmesi için uygun olduğu zaman, yem ve yem ham maddeleri mantarların istilasına uğrayarak mikotoksinlerle kolayca kirlenebilirler. Küf mantarları yem maddelerinin üzerinde belirgin bir küflenmeye neden olmadan da tehlikeli miktarlarda toksin üretebilirler. Bu nedenle yemin üzerinde küflenmenin olmaması toksin olmadığını ya da küflenmenin varlığı da toksin var olduğunu göstermez. Bu toksinler pişirme ve işleme uygulamaları sırasında mantarlar yok olsa da kalırlar. Bu durum mikotoksinlerin hayvan ve toplum sağlığı yönünden önemini daha da artırmaktadır (Acet ve ark., 1989; Kaya ve ark., 1996; Kaya, 2002; Lawlor ve Lynch, 2005; Anon, 2009b).

Dünyada her yıl üretilen tarımsal ürünlerin yaklaşık %25'inin, yemlerin ise bundan daha yüksek oranda mikotoksinlerle bulaştığı bildirilmektedir (Akande ve ark., 2006; Dorian ve ark., 2008; Reddy ve Waliyar, 2009). Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Kanada'da mikotoksinlere bağlı yıllık ekonomik kaybın 5 milyar Amerikan Doları (\$) olduğu bildirilmektedir (Leung ve ark., 2006) İnsan ve hayvanları mikotoksinlerin olumsuz etkilerinden korumak amacıyla gıda ve yem maddelerinde bu toksinler için limit değerler belirlenmiştir. Gelişmiş ülkeler ihracat ve ithalatlarında bu limitleri göz önünde bulundurlar (Traş ve Baş, 1992; Hussein ve Brasel, 2001).

Yemler, tarladan hayvanların önlerine konulana kadarki süreçte birçok mikroorganizmanın saldırısına maruz kalırlar. İklim, bitki türü, gübreleme, hasat, kurutma, işleme ve hazırlama, özellikle de depolama bitkisel kökenli yemlerin mikroorganizma içerikleri ve miktarları üzerinde önemli etkiye sahiptir. Bu mikroorganizmalar içerisinde ise küf mantarları farklı çevre koşullarına karşı dayanıklı olmaları ve özellikle de çok düşük su oranı ve farklı ısı değerlerinde bile üreyebildikleri için yemleri çok kolay kontamine edebilirler (Basmacıoğlu ve Ergül, 2003; Akande ve ark., 2006; Anon, 2009b).

Küf mantarları denilen mikroskopik mantarlar ile kontamine olan yemlerde tat, renk, koku ve görünüşte değişme gibi fiziksel bozulmaların yanı sıra, enzimatik ve biyokimyasal tepkimeler sonucunda da besin değeri ve hijyenik kalite açısından bozulmalar meydana gelmektedir. Ayrıca, bu mantarların metabolik faaliyetleri sonucu ortaya çıkan mikotoksinler ise hem hayvan hem de dolaylı yoldan insan sağlığı için tehlike arz ederler. Bu mikotoksinler hayvanlarda verim kayıpları ve ölümlere sebep olarak ekonomik zarara neden olmalarının yanı sıra, et, süt ve yumurta gibi hayvansal ürünlerle insanlara geçerek toplum sağlığı üzerine olumsuz etkiler meydana getirmektedirler (Kaya, 2002; Akande ve ark., 2006).

Mantar zehiri anlamına gelen mikotoksin sözcüğü Yunanca mantar anlamındaki "Myces" ve Latince zehir anlamındaki "Toxicum" kelimelerinin bir araya getirilmesiyle oluşturulmuştur. Mikotoksini yemleri yiyen canlılarda meydana gelen zehirlenmeye ise "Mikotoksikozis" denir (Anon, 2009c).

Günümüzde küf mantarları tarafından 300'den fazla mikotoksin üretildiği ve bunların içinde 20-25 çeşidinin yem ve besinlerde bulunarak kanatlılar başta olmak üzere diğer hayvanlarda ve insanlarda zehirlenmelere sebep olduğu bilinmektedir. Pek çok toksin türü bilinmesine rağmen toksisiteleri ve yaygınlıkları açısından aflatoksinler, okratoksin A, fumonosinler, trikotesenler, zearaleon birinci derecede önemli olanlarıdır (Kaya ve ark., 1996; Oruç, 2005; Akande ve ark., 2006). Çizelge 1.1.'de bazı mikotoksin türlerinin çoğunlukla görüldüğü coğrafi bölgeler verildi.

**Çizelge 1.1.** Bazı mikotoksinlerin coğrafik dağılımları (Akande ve ark., 2006).

<b>Bölge</b>	<b>Mikotoksin</b>
Batı Avrupa	Okratoksinler, vomitoksin, zearalenon
Doğu Avrupa	Zearalenon, vomitoksin
Kuzey Amerika	Okratoksinler, vomitoksin, zearalenon, aflatoksinler
Güney Amerika	Aflatoksinler, fumonosinler, okratoksinler, vomitoksin, T-2 toksin
Afrika	Aflatoksinler, fumonosinler, zearalenon
Asya	Aflatoksinler
Avustralya	Aflatoksinler, fumonosinler

Mikotoksikozis uzun zamandan beri bilinen bir olgudur. Genellikle sporadik olgular halinde görülürler (Aydın, 2007). Günümüze kadar geniş çapta etkilenmelere neden olan mikotoksikozis olaylarına örnek verecek olursak: Bunlardan biri Rusya'da 2. Dünya Savaşı yıllarında görülmüştür. Çiftçilerin de savaşa alınması ve iş gücü yokluğu nedeniyle hasadı tamamlanamayan tahıllar (buğday, çavdar, yulaf ve darı gibi) kış boyunca kar altında kalmış ve daha sonra bu tahılları yiyen insanlarda Alimenter Toksik Alöki (ATA) görülmüştür. Hastalık etkilerini hemopoetik sistem üzerinde gösterir. Lökopeni, agranulositozis, nekrotik anjina, hemorajik diatezis, sepsis, ateş, anemi ve kemik iliği tahribatı belli başlı belirtileridir. Benzer şekilde bu

dönemde atlarda da çok sayıda ölümler meydana gelmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda insanlarda ATA'ya *Fusarium poae* ve *F. sporotrichioides* türü mantarlar tarafından oluşturulan toksinin neden olduğu; atlardaki etkenin ise Stachibothriotoksin olduğu tespit edilmiştir (Mirocha ve Pathre, 1973; Lutsky ve Mor, 1981; Aydın, 2007).

Diğer bir büyük olay ise İngiltere'de 1960 yılında gerçekleşmiştir. Brezilya'dan ithal edilen yer fıstığı unlarının yemlere katılması ve bunların hayvanlara yedirilmesi sonucunda 100 000'den fazla hindi, sülün ve ördek ölmüştür. Hindilerde görülen bu hastalığa "Hindi X Hastalığı" denilmiştir. Daha sonra yapılan araştırmalarda etkenin *Aspergillus flavus* mantarları tarafından üretilen toksik metabolitin neden olduğu anlaşılmış ve bu metabolite Aflatoksin adı verilmiştir (Şanlı ve ark., 1982; Swick, 1984; Aydın, 2007). Yine benzer bir şekilde ABD'nde hayvanlarda görülen "Toksik Hepatitis" hastalığı ile ilgili yapılan çalışmalarda yemlerde aflatoksin belirlenmiş ve bu hastalığa aflatoksinlerin neden olduğu ortaya konmuştur (Wilson ve ark., 1967).

Yakın tarihe baktığımızda ise 2004 yılında Kenya'da 317 kişinin etkilendiği ve 125 kişinin ölümü ile sonuçlanan bir aflatoksikozis vakası vardır. İnsanlar tarafından 8 mg/kg miktarında aflatoksin içeren mısırın tüketimi sonucunda %30 ölümlerle sonuçlanan bir zehirlenme olayı meydana gelmiştir (Anon, 2009a).

Küf mantarlarının üremesi ve toksin sentezlemesi çevresel koşullara, yem ya da gıda maddesinin özellikleri ve mantar türü gibi karmaşık etkileşim koşullarına bağlıdır. Bu etkenler içerisinde sıcaklık ve rutubet başta olmak üzere, ürün içeriği, pH, mekanik hasar, havalandırma, ortamın oksijen (O<sub>2</sub>) ve karbondioksit (CO<sub>2</sub>) miktarları, mikroorganizma rekabeti, mantar türü ve spor miktarı sayılabilir (Anon, 2009f).

Toksijenik mantarların üremesi ve toksin sentezleyebilmesi için bazı koşullara gereksinim vardır. Mantarların üremesi için önemli olan etkenlerin başında rutubet gelmektedir. Genellikle %50-60'ın üstünde bulunan nispi rutubet, mantarların üremesi veya gelişmesi için uygundur. Diğer önemli faktör ise ısıdır. Mantarlar 0-60

°C'ler arasında üreme yeteneğine sahiptir. En uygun üreme ısısı, mantar türlerine göre değişir; ancak, 15 °C'nin üstündeki ısılar mantar üremesi için genellikle uygundur. Mantarların üzerinde veya içinde üredikleri maddenin kimyasal yapısı veya pH'sı da üreme veya mikotoksin sentezi üzerine etkili olabilmektedir (Bullerman ve ark., 1984; Arda, 2000; Barug ve ark., 2003; Leung ve ark., 2006).

Mikotoksinler içerisinde en önemli grubu aflatoksinler oluşturur (Nizamlioğlu, 1996) ve bu nedenle de mikotoksinlerle ilgili yapılmış çalışmaların çoğunluğunu aflatoksinler oluşturmaktadır (Sonal ve Oruç, 2000). Aflatoksinler sıcak ve rutubetli ortamda bulunan gıda ve yemlerde, birkaç çeşit mantar türü tarafından sentezlenen ve doğal olarak ortaya çıkan mikotoksinlerdir. Aflatoksinler *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve çeşitli toksijenik *Aspergillus* soyu ile bazı *Penicillium* ve *Rhizopus* soyuna bağlı küfler tarafından sentezlenirler (Rustom, 1997; Thompson ve Henke, 2000; Nicholas, 2003; O'keeffe, 2003; Akande ve ark., 2006; Anon, 2008b).

Aflatoksinler hemen hemen tüm hayvan türleri ve insanlar için toksik etkilidirler. Her çeşit gıda ve yem maddesinde kirlenmelere neden olmaları, birincil kanserojen etkili olmaları ve ayrıca kontamine yemlerle beslenen hayvanlardan elde edilen ürünlerin insanlar tarafından yenilmesi ile de toplum sağlığını tehdit etmeleri açısından, ilk tespit edildiği 1960 yılından günümüze, hala yoğun bir biçimde araştırılmaktadır (Kaya, 2002; Bommakanti ve Waliyar, 2009).

Aflatoksinler, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> ve M<sub>2</sub> olmak üzere başlıca altı ana bileşikten oluşurlar. Ayrıca kültür ortamında ve vücutta metabolit olarak şekillenenlerle birlikte sayıları 20'nin üzerindedir. Bu isimlendirme aflatoksinlerin UV ışık altında yaydıkları floresan ışığın rengi esas alınarak yapılmıştır. UV ışık altında mavi floresan ışık verenlere İngilizce mavi anlamında kullanılan blue isminin baş harfi "B", yeşil floresan verenlere ise yeşil anlamına gelen green kelimesinin baş harfi olan "G" denilmiştir. Ayrıca süt ile atılan türüne ise İngilizce süt anlamına gelen milk kelimesinin baş harfi olan "M" denilmiştir. AFM<sub>1</sub> ve AFM<sub>2</sub>, AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub>'nin sütteki metabolitleridir, ancak AFM<sub>1</sub> aynı zamanda mantarlar tarafından direkt olarak da üretilebilir. Metabolitler içerisinde en toksik olanı aflatoksin B<sub>1</sub>'dir (AFB<sub>1</sub>) (Huff ve ark., 1992; Kaya, 2002; Akande ve ark., 2006; Anon, 2008b).

Aflatoksinler kimyasal yapı olarak, yan tarafta ya 5 (B toksinleri) ya da 6 üyeli (G toksinleri) lakton, diğer yandan da bifuran grubu ile çevrili kumarin çekirdeklerinden oluşan doymamış polisiklik bileşiklerdir. Bunlar yapısal yönden birbirlerine çok benzeyen birer furanokumarin türevidir. Kimyasal yapılarına göre aflatoksinler 2 büyük gruba ayrılır. Difurocoumarocyclopentenone serisi (AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFB<sub>2</sub>A, AFM<sub>1</sub>, AFM<sub>2</sub>, AFM<sub>2</sub>A ve aflatoksikol gibi) ve difurocoumarolactone serisi (AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>, AFG<sub>2</sub>A, AFGM<sub>1</sub>, AFGM<sub>2</sub>, AFGM<sub>2</sub>A ve AFB<sub>3</sub> gibi) (Şanlı ve ark., 1982; Reddy ve Walivar, 2009). Çizelge 1.2.'de aflatoksinlerin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri verildi.

**Çizelge 1.2.** Aflatoksinlerin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri (WHO, 1979).

Aflatoksin türü	Formülü	Rölatif molekül ağırlığı	Erime sıcaklığı (°C)	Floresans rengi
B <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	312	268-269	Mavi
B <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	314	286-289	Mavi
G <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	244-246	Yeşil-sarı
G <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	237-240	Yeşil-sarı
M <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	299	-
M <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	293	-

Aflatoksinler renksiz veya sarı, iğne şeklinde kristallerdir. Hekzan, petroleteri gibi yağ çözücülerinin dışındaki organik çözücülerde (kloroform, metanol, etanol ve özellikle dimetilsülfoksit) iyi çözünürler. Sudaki çözünürlükleri ise az olup yaklaşık 10-20 mg/L'dir (WHO, 1979; Reddy ve Walivar, 2009).

Saf aflatoksinler yüksek ısılarda stabildirler. Ancak ışığa, ultraviyole (UV) radyasyonuna ve özellikle de yüksek polar çözücülere karşı dayanıksızdırlar. İnce tabaka kromatografisi (İTK) plağında ise hava ile temasa karşı dayanıksızdırlar. Aflatoksinlerin kloroform ve benzen ile hazırlanmış çözeltileri, karanlık ve soğuk ortamda saklandığında yıllarca bozulmadan kalabilir. Aflatoksinler moleküllerindeki lakton halkasının varlığı nedeniyle alkali hidrolize duyarlıdırlar. Bu nedenle hipoklorid uygulaması ya da amonyak varlığında otoklavda alkali işlemlerle tamamen yıkımlanabilirler (WHO, 1979).

Aflatoksinler, hayvanlarda yemden yararlanma ve vücut ağırlığında azalma (Anon, 2009d), protein ve vitamin metabolizması bozukluğu, immün sistem işlevlerinin baskılanması, karaciğer hasarı, kanda koagülasyon bozuklukları, çeşitli kanser türleri ve ölüme neden olabilmektedir (Kaya ve Bilgili, 1989; Huff ve ark., 1992; Pier, 1992; Lawson ve ark., 2006; Anon, 2008c). Çizelge 1.3.'de bazı hayvan türlerinde AFB<sub>1</sub>'in akut öldürücü dozları verildi.

**Çizelge 1.3.** Bazı hayvan türlerinde AFB<sub>1</sub>'in akut öldürücü dozları (oral alım, LD<sub>50</sub>) (Bommakanti ve Waliyar, 2009).

<b>Tür</b>	<b>LD<sub>50</sub> dozu (mg/kg c.a.)</b>
Tavşan	0,30
Ördek yavrusu (11 günlük)	0,43
Kedi	0,55
Domuz	0,60
Gökkuşluğu alabalığı	0,80
Köpek	0,50 – 1,00
Koyun	1,00 – 2,00
Kobay	1,40 – 2,00
Babun maymunu	2,00
Tavuk	6,30
Rat (erkek)	5,50 – 7,20
Rat (dişi)	17,90
Makak maymunu (dişi)	7,80
Fare	9,00
Hamster	10,20

Yem ve besin maddeleriyle ağızdan alınan aflatoksinler sindirim kanalından sınırlı ölçüde emilirler. Dolaşıma geçen toksinler başlıca karaciğer ve kaslara dağılır. İlk 24 saat içinde vücuda giren AFB<sub>1</sub>'in %85-90'ı, dışkı (%75 kadarı), idrar ( %15-20 kadarı) ve sütle değişmemiş halde ve metabolit olarak atılır. Büyük oranda dışkı ile atılması toksinin sindirim kanalından az ölçüde emildiğini gösterir. Bulaşık yem ya da mikotoksin verilmesi durdurulduktan 3-6 gün sonra sütte, 6-9 gün sonra da idrar ve dışkıda aflatoksin kalıntısına rastlanmaz (Kaya, 2002).

Aflatoksikoze karşı duyarlılığı tür, yaş, cinsiyet ve diyet etkilemektedir. Genellikle kuşlar memelilerden daha duyarlıdır. Genç kuşlar yetişkinlere göre daha duyarlıdır. Kanatlılarda en duyarlı türler ördek yavruları ve hindilerdir. Bildircinlar orta duyarlılık gösterirken en dirençli tür tavuklardır. Aflatoksin maruziyetine bağlı olarak oluşmuş ölüm vakaları çeşitli ördek türleri, Kanada kazı, kar kazı ve turna gibi göçmen kuşlarda rapor edilmiştir (Robinson ve ark., 1982; Anon, 2008b, Diaz ve ark., 2008).

Oruç ve arkadaşları (2001) tarafından Bursa'daki petshop, kuş dükkanları, süpermarketler ve hayvanat bahçesinden topladıkları kuş yemlerinde (12 muhabbet kuşu, 5 kanarya ve 5 hayvanat bahçesi kuşu yemi) yapılan çalışmada yemlerin %72,72'sinde 0,0-9,2 µg/kg aralığındaki miktarlarda aflatoksin bulunduğu bildirilmiştir.

Brezilya'da Oliveira ve arkadaşları (2006) tarafından kanatlı yemlerinde yapılan bir çalışmada, yemlerde 1,2–17,5 µg/kg arasında değişen miktarlarda AFB<sub>1</sub> tespit edilmiştir.

Portekiz'de 20 adet köpek maması, 20 adet kedi maması ve 20 adet kuş yemi (10 adet kanarya, 10 adet papağan yemi) olmak üzere toplam 60 adet örnek üzerinde yapılan mikotoksin analizlerinde hiçbir örnekte aflatoksin varlığına rastlanmadığı bildirilmiştir (Martins ve ark., 2003).

Aflatoksinlerin analizinde birçok yöntem kullanılmaktadır. Günümüzde en geçerli olan yöntem yüksek basınçlı sıvı kromatografisidir (HPLC). Bunun haricinde İTK (TLC), gaz kromatografisi/kütle spektrofotometresi (GC/MS), kapillar elektroforez (CE), enzim bağlanmış immünoabsorbant yöntemi (ELISA) ve enzim etkinliğine bağlı immünoteknik (EMIT) kullanılmaktadır. Bunların haricinde floresans polarizasyon immunoassay (FPIA) tekniği de mikotoksin analizlerinde olumlu sonuçlar vermesi nedeniyle kullanılabilirliği bildirilmektedir (Richard ve ark., 1993; Maragos, 2001; Shephard, 2008; Turner ve ark., 2009; Wilson, 2009).



## 1.2. Nitrat ve nitrit

Nitrat ve nitrit doğal olarak toprak, su, atmosfer, bitkilerin tüm kısımları, hayvansal doku ve artıklarında yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Nitrat ve nitritin ekosistemleri oluşturan doğal çevrede ve bütün canlı türlerinde bulunmalarının nedeni azot döngüsüne katılmalarından dolayıdır (Yavuz, 1992; Liman ve Doğan, 1994).

Yaşamın başlangıcından beri, atmosfer ve okyanuslar azot içerir. Canlılar yaşamlarını sürdürebilmek için oksijen ve karbondioksit ihtiyacı duydukları gibi, büyüebilmek için de azota ihtiyaç duyarlar. Çünkü azot proteinlerin ve DNA'nın önemli bir bileşenidir. Azot, canlı vücudunda özellikle nükleik asitlerin, proteinlerin ve vitaminlerin yapısında %15 oranında bulunmaktadır. Gaz halindeki azot atmosferin %78'ini oluşturur. Azot döngüsü yaşamın sürekliliğini sağlayan bir doğa olayıdır. Bu döngüde azot bileşikleri sürekli olarak topraktan canlılara ve sonra tekrar toprağa geri dönerler (Pidwirny, 2006; Anon, 2009e).

Azot çok az organizma tarafından gaz haliyle alınarak kullanılabilirdiğinden ekosistemlerdeki canlıların kullanabilmesi için öncelikle atmosferik azot gazının inorganik formda fikse edilmesi gerekmektedir. Fiksasyon sonucu elde edilen inorganik form genellikle amonyak ve nitratdır. Dünyadaki azot fiksasyonu, bazı canlılar tarafından [Rhizobium, Azotobacter ve mavi-yeşil algler (Oscillatoria, Anabeana cinsi)] biyolojik süreçlerle gerçekleşebildiği gibi, fizikokimyasal (şimşek, yıldırım gibi etkenlerle azotun nitrata dönüşümü) ve endüstriyel süreçlerle de (sentetik nitratlı gübre üretimi) gerçekleşebilmektedir (Harrison, 2003, Anon, 2009e).

Her ne şekilde olursa olsun, fiksasyona uğrayarak toprağa ve suya karışan nitrat formundaki inorganik azot, suda erimek suretiyle bitkiler tarafından alınabilir. Bitkiler tarafından emilen nitrat, protein ve nükleik asit gibi biyomoleküllerin üretiminde kullanılır. Bitkilerden de beslenme yoluyla tüm canlılara ulaştırılır. Azot, bitkiler ve hayvanların atıklarıyla ya da öldüklerinde ayrışma ile tekrar toprağa döner. Toprakta bulunan denitrifikasyon bakterileri de nitrit ya da nitratı tekrar azot gazına dönüştürürler. Böylece azot tekrar atmosfere karışır (Anon, 2009e).

Bitki gelişimi bakımından çok önemli bir besin maddesi olan azot, bitkiler tarafından nitrat ( $\text{NO}_3$ ) ya da amonyum ( $\text{NH}_4$ ) formunda alınmakta olup tüm bitki organlarında bulunmaktadır. Nitrat genellikle bitkilerde kök ve gövde kısımlarında depolanır, tohum ve meyvelerde çok az miktardadır (Sulak ve Aydın, 2005). Bitkilerce alınan nitrat, protein sentezi için temel yapıtaşı olarak kullanılmaktadır. Ancak alınan nitratın çeşitli faktörlerin etkisi ile (kuraklık, soğuk hava, Fe, Mn, Mo eksikliği, güneşli gün sayısının azlığı) parçalanamaması sonucu bitkide nitrat birikimi teşvik edilmektedir. Bunun dışında, tarım topraklarında azotlu mineral ve tabii gübrelerin aşırı miktarlarda kullanılması ve bu uygulamanın da bazı yabancı ot ilaçlarıyla (2, 4-D, 2, 4, 5-T gibi) birleşmesi bitkilerde hayvanların normal gelişimini bozabilecek veya onlarda akut ve kronik zehirlenmeye yol açabilecek ölçülerde nitrat birikmesine sebep olabilmektedir. Bitkinin değerlendiremediği nitrat, toprağın yağmur sularıyla yıkanması sonucu yer altı ve yer üstü sularına karışmakta ve nitrat miktarını artırmaktadır (Kaya ve Akar, 2002; Cash ve ark., 2004; Kvasnicka ve Krysl, 2009).

Normalde bitkiler taze olarak kilogramda birkaç gram nitrat içerirler. Tahıl tanelerinin nitrat ve nitrit içeriği ise tür ve büyüme durumuna göre 0,5 ile 18 mg/kg arasındadır (Diaz ve ark., 1995).

Verimi artırdığı gerekçesiyle, tarımda azotlu gübrelerin çok yoğun ve normların üzerinde kullanılması bazı bitki türlerinde ve yer altı sularında aşırı nitrat birikimine yol açmaktadır. Bu birikimin sonucu olarak ise, hem insan hem de hayvanlarda akut ya da kronik rahatsızlıklar ortaya çıkmaktadır (Alçiçek ve Başlar, 1995).

Toprak, bitki ve sulardaki nitratın önemli diğer bazı kaynakları da fazla miktarda azotlu madde ihtiva eden ve nitrata çevrilebilen insan ve hayvan atıkları, endüstriyel ve lağım artıkları ve akıntıları ile endüstriyel gelişmedir. Evcil hayvanlar için asıl tehlikeyi, fazla miktarda nitrat tuzları ihtiva eden topraklarda yetişen ve yapılarında yüksek miktarda nitrat biriktiren bitkiler ve yine yüksek miktarda nitrat ve nitrit içeren kaynak veya yer üstü suları oluşturmaktadır (Kaya ve ark., 1989).

Normal şartlarda kendisi az zehirli bir madde olan nitrat alındıktan sonra sindirim kanalındaki mikrobiyel faaliyet sonucunda amonyağa kadar indirgenir. Ancak alınan

nitrat miktarı fazla olduğunda amonyağa indirgenme sınırlanacağı için ara metabolizma ürünü olan nitritin yoğunluğu gittikçe artacaktır. Nitrata göre 5-10 kez daha zehirli etkili olan nitrit sindirim kanalından hızla emilir. Dolaşıma geçen nitrit iyonu bir yandan alyuvarlardaki hemoglobinle birleşip methemoglobini meydana getirirken, bir yandan da damar düz kaslarına doğrudan etkiyerek genişlemelerine ve ortalama sistemik kan basıncının düşmesine neden olur. Bu durum zaten methemoglobin nedeniyle oksijen taşınamayan dokularda oksijen açlığını daha da artırır. Alınan nitrat miktarı ve alınma hızıyla ilgili olarak oluşan kan methemoglobin düzeyine göre hayvanlarda akut ya da kronik nitelikte zehirlenmeler meydana gelir. Hayvanlardaki bu durumun haricinde düşük miktarlarda nitrat ve nitrit vitamin A, E ve iyot metabolizmasını, tiroit bezi fonksiyonunu bozabilir, verim, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanmayı azaltabilir (Stoltenow ve Lardy, 1998; Becer, 2008; Merck, 2008b). Yemlerde zehirlenmeye neden olabilecek nitrat miktarları Çizelge 1.4.'de verildi.

Nitrat ve nitrit zehirlenmelerine karşı hayvanlar farklı duyarlılık gösterirler. Genellikle genç hayvanlar daha duyarlılardır. Hayvanların sağlık durumu, beslenme yetersizliği, anemiye neden olan faktörlerin varlığı, solunum sistemi hastalıkları ve paraziter hastalıklar zehirlenmenin şiddetini daha da arttırmaktadır (Hibbs ve ark., 1978; Mackown ve Weik, 2004, Becer, 2008).

**Çizelge 1.4.** Yemlerde zehirli olabilecek nitrat miktarları (kuru maddede) (Osweiler ve ark., 1985, Rasby ve ark., 1996).

Nitrat kaynağı	Zehirli miktarlar	
	Yüzde (%)	mg/kg (ppm)
Nitrat azotu ( $\text{NO}_3\text{N}$ )	0,22 ve daha fazlası	2 260 ve daha fazlası
Nitrat iyonu ( $\text{NO}_3^-$ )	1,00 ve daha fazlası	10 000 ve daha fazlası
Potasyum nitrat ( $\text{K NO}_3^-$ )	1,6 ve daha fazlası	16 300 ve daha fazlası

Çiftlik hayvanlarının yem ve sularındaki nitrat ve nitrit miktarları ve bunların hayvanlara etkisi konusunda birçok çalışma yapılmasına rağmen; kuş ve diğer kanatlı yemlerinde bulunan nitrat ve nitrit miktarlarıyla ve bunlarında kanatlı hayvanlara etkisi konusunda yapılmış çalışmalar çok az sayıdadır.

Atef ve arkadaşları (1991) tarafından horoz yavrularında yapılan bir çalışmada yemle birlikte 4,2 g/kg sodyum nitrat ve 1,7 g/kg sodyum nitrit verilen farklı iki grubun her ikisinde de büyümenin yavaşladığı, methemoglobinemi şekillendiği, eritrosit, glutamik pirüvik transaminaz, kreatinin ve üre düzeylerinde değişimler olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle de nitrat ve nitritin kümes hayvanlarının karaciğer, böbrek ve immün sistemle ilgili hastalıkların etiyojisinde rol alabileceği belirtilmiştir.

Oruç ve arkadaşları (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, 22 kuş yeminde (12 muhabbet kuşu, 5 kanarya ve 5 hayvanat bahçesi kuşu yemi) yapılan analizler sonucunda yemlerin %72,72'sinde nitrat, %9'unda da nitrit sırasıyla 0,0-3,1 mg/kg ve 0,0-1,3 mg/kg miktarlarında bulunmuştur.

Besin maddelerinde nitrat ve nitrit miktarlarının ölçümü iki prensipten yararlanarak gerçekleştirilir. Bu ölçümler ya nitratin nitrite indirgenmesi ile ya da nitritin nitrata oksitlenmesi esasına dayanan yöntemlerle gerçekleştirilir. Total nitrat ölçümü esasına dayanan yöntemler düşük miktarda nitrat ve organik madde içeren örneklerde hatalı sonuçlar verdiği için dolayı total nitrit ölçümü esasına dayanan yöntemler daha çok tercih edilmektedir (Usher ve Tellin, 1975).

### **1.3. Tanen**

Tanenler bitkilerde doğal olarak bulunan azotsuz, polifenolik yapıdaki amorf bileşiklerdir. Molekül ağırlıkları 500-20 000 aralığındadır. Tanenler hidrolize olabilen (çözünabilen) ve kondanse (proantosiyandinler, yoğunlaşmış) tanenler olmak üzere iki şekilde bulunurlar (Hagerman ve ark., 1992; Reed, 1995; Yavuz ve ark., 1997; Aydın ve Üstün, 2007). Tanenler hayvanların sindirim sisteminde yıkımlanarak tanene oranla daha zehirli etkili olan gallik asit, pirogallol ve pirokateşol gibi fenol yapıya dönüşürler. Bu yapılar sindirim sisteminden hızla emilirler (Schofield ve ark., 2001; Üstün ve Aydın, 2007).

Tanenler hayvan beslemede performansa olumsuz etkileri olan bileşikler olarak bilinirler (Yıldız ve ark., 2005). Proteinlerle, aminoasitlerle, polisakkaritlerle,

mineraller ve bazı vitaminlerle kompleks bileşikler oluşturarak onların sindirilme düzeylerini düşürürler (Hagerman ve ark., 1992; Kaya ve Yavuz, 1993; Akar ve ark., 1994; Schofield ve ark.; 2001 Açıkgöz ve Özkan, 2002).

Tanenler yemlerde fazla miktarda bulunması durumunda, bu yemleri tüketen hayvanlarda toksik etkilere ya da gelişme geriliği ile yemden yararlanmanın azalması ve verim düşüklüğüne neden olurlar. Ayrıca güçlü bir karaciğer ve böbrek zehiri olarak bilinen tanenler, kanserojenik etkiye de neden olabilirler. Tanenlerin toksisitesi astrenjan, iritan ve hemoliz yapıcı etkilerinden ileri gelmektedir (Price ve ark., 1993; Reed, 1995; Üstün ve Aydın, 2007).

Kanatlı hayvanların yemlerinde %1 ve daha yüksek oranda tanen bulunması bu hayvanlarda gelişme geriliğine yol açabilmektedir, %5 ve üzerindeki miktarlarda tanen içeren yemle beslenen kanatlılarda ise yüksek mortalite ile seyreden toksikasyonlar görülmektedir (Kratzer ve ark., 1975; Blakeslee ve Wilson; 1979; Kaya ve Yavuz, 1993; Akar ve ark., 1994; Yavuz ve ark., 1997).

Yapılan taramalarda kafes kuşu yemi ve yem hammaddelerindeki tanen miktarlarına yönelik herhangi bir yayına rastlanmadı.

Akar ve arkadaşları (1994) tarafından çeşitli yem ve yem hammaddelerinde tanen ve siyanür miktarlarının belirlenmesi üzerine yaptıkları araştırmada yem ve yem hammaddelerindeki tanen miktarları yüzde olarak ortalama 0 ile 5,70 arasında bulunmuş ve bulunan bu miktarlardaki tanenin kanatlı hayvanlarda sağlık sorunlarına neden olabileceği ve yemden yararlanmayı olumsuz yönde etkileyeceği bildirilmiştir.

Blakeslee ve Wilson (1979) tarafından yumurtacı tavuklar üzerinde yapılan bir çalışmada %1 tanen içeren yemle beslenen hayvanlarda herhangi bir yem tüketiminde azalma, yumurta veriminde azalma ya da yemden yararlanmada kontrol grubuna göre önemli bir fark olmadığı; ancak, %2 ve %4 tanen içeren yemle beslenen tavuklarda yem tüketiminde, yumurta veriminde ve yemden yararlanmada azalma olduğu bildirilmiştir.

Yemlerde bulunan tanen miktarlarını belirlemek amacıyla birçok analiz yönteminden yararlanılabilmektedir. Bu amaçla kolorimetrik, protein presipitasyon ve gravimetrik yöntemler gibi analitik yöntemlerden; ayrıca HPLC, radyal difüzyon testi, polietilen glikol (PEG) bağlanması testi ve mikrobiyal gelişmenin inhibisyonu testlerinden yararlanılmaktadır. Kolorimetrik yöntemler tanenlerin kimyasal özelliklerine bağlı olarak çözelti ve tanen arasındaki reaksiyon sonucu oluşan rengin spektrofotometrik olarak ölçülüp, miktar tayini yapılması esasına dayanır. Bu amaçla kullanılan metotlardan başlıcaları Folin-Denis ve modifiye Folin-Ciocalteu testi, asit-butanol testi, vanilin testi, prussian mavisi testi, rodanin analizi ve Wilson ve Hagerman analizleridir. Tüm polifenolik yapıdaki bileşikler protein presipitasyon testi ile saptanabilmektedir. Bu testin esası tanenlerin proteinleri bağlama ve çöktürme özelliklerine dayanmaktadır. Gravimetrik yöntemlerden ytterbium presipitasyon ve polivinilprolidon testleri tanen analizi için kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin standart gerektirmemeleri bir avantajken, sadece çözünebilen tanenleri tespit etmesi bir dezavantajdır. Gravimetrik yöntemler bu nedenden dolayı tanen ölçümlerinde kolorimetrik yöntemlere göre daha az duyarlıdır (Bae ve ark., 1993; Schofield ve ark., 2001; Aydın ve Üstün, 2007).

#### **1.4. Sodyum klorür**

Temel bir besin maddesi olan sodyum klorür hayvan yemlerinde normal olarak %0,5-1 oranlarında bulunur. Su ve mineral madde karışımlarında da mevcuttur. Tadının çekici ve az irkiltici olması sebepleriyle bazen hayvanlar tarafından fazla miktarda alınabilmekte ve zehirlenmelere neden olabilmektedir. Kanatlılar sodyum klorür ile zehirlenmeye karşı çok duyarlıdır. Sodyum klorürün yeme %2 oranında katılması halinde ördek palazlarında gelişme geriliği, damızlıklarda döl verimi ve yumurtadan yavru çıkma oranı düşer. Kanatlıların sodyum klorür ile zehirlenmeye diğer hayvan türlerine göre daha duyarlı olmalarının başlıca nedenleri, tat duyularının zayıf olması dolayısıyla fazla miktarda yemeleri, glomerullardan süzülme olaylarının daha sınırlı olması, plazma protein miktarının düşük olması ve böylece ödem şekillenme eğilimlerinin bulunmasıdır (Kaya ve Akar, 2002; Merck, 2008a).

Kafes kuşlarında özellikle kraker, abur cubur yiyecekler, cips, fast-food tarzı yiyecekler ve konserve sebzeler yüksek sodyum klorür içeriğinden dolayı zehirlenmeye neden olabileceği ve bu tür yiyeceklerin verilmemesi gerektiği bildirilmektedir (Hawley, 2009).

### **1.5. Sınır değerler**

Kafes kuşu yemlerindeki aflatoksinler, nitrat-nitrit, tanen ve sodyum klorür miktarları ile ilgili bir yasal sınır olmamakla birlikte, Türkiye Avrupa Birliği uyum yasaları çerçevesinde 5 Şubat 2005 tarih ve 25718 sayılı Resmi Gazete’de yayınlanan 2005/3 sayılı yemlerde istenmeyen maddeler hakkında tebliğ ve 11 Haziran 2008 sayı ve 26903 sayılı Resmi Gazete’de yayınlanan yemlerde istenmeyen maddeler hakkında tebliğinde değişiklik yapılmasına dair tebliğe göre yem maddelerinde bulunabilecek en fazla AFB<sub>1</sub> miktarı 0,02 mg/kg (20 ppb) olarak bildirilmiştir.

Kafes kuşu yemlerinde bulunan aflatoksin, nitrat, nitrit, tanen ve sodyum klorür miktarları ile ilgili olarak Türkiye’de ve yurt dışında yapılmış yeterince çalışmaya rastlanamamıştır. Kanatlı hayvanlarda yapılan çalışmaların daha çok ekonomik değeri bulunan tavuk ve hindi gibi hayvanların yemleriyle ilgili olduğu gözlenmiştir. Türkiye’de son yıllarda, veteriner hekimliğinin sorumluluk alanına kuşların bakım, besleme ve tedavisi ağırlıklı olarak girmiştir. Ekonomik değeri nedeniyle tavuk, hindi ve ördek gibi kanatlı yemlerindeki zehirli-zararlı maddelerle ilgili birçok araştırmaya rastlanırken, kafes kuşlarının yemlerindeki olumsuzluk faktörleri ile ilgili çalışmalar ise çok az sayıdadır. Bu nedenle, koruyucu hekimlik ve de tanı açısından kuş yemlerinin çeşitli kalıntı ve kirleticiler yönünden toksikolojik analizlerinin yapılması gerekmektedir. Bu yönüyle değerlendirildiğinde yapılan bu çalışma sonucunda bulunan değerlerin konu ile ilgili yapılacak araştırmalara kaynak oluşturacağı düşünülmektedir.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada muhabbet kuşu, kanarya ve papağan yemi olmak üzere 3 farklı kuş türüne ait 20'şer adet ve toplamda 60 adet yem örneği incelendi. Yem örnekleri Ankara'daki Petshoplar, kuş dükkanları ve marketlerden toplandı. Alınan yem örneklerinin nitrat-nitrit, tanen ve sodyum klorür analizi Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Uygulama Laboratuvarları'nda, aflatoksin analizi ise Türk Akreditasyon Kurumu tarafından akredite bir laboratuvarında yapıldı.

### 2.1. Aflatoksin Analizi

Aflatoksin analizleri Stroka ve arkadaşlarının (2003) bildirdiği yöntemle göre HPLC'de yapıldı.

#### 2.1.1. Yöntemin uygulama alanı

Yöntem, karma yemlere, yem ham maddelerine (buğday, yulaf, kanola vb.) ve yüksek lifli örneklerle uygulanabilir.

#### 2.1.2. Prensip

Yöntem, analiz örneğinin aseton/su solvent karışımıyla özütlenmesi; aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>'ye spesifik monoklonal antikorlar içeren immüno-affinite kolonla (IAK) temizleme; kolon sonrası elektrokimyasal brom türevlendirme ve floresan dedektörlü ters faz sıvı kromatografi (RP-HPLC) ile aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>'nin tayin edilmesine dayanmaktadır.

#### 2.1.3. Alet-ekipman ve aksesuarları

1. Genel laboratuvar alet ve malzemeleri.

2. Öğütücü ve homojenize edici: Örneği 1 mm'lik elekten geçecek boyutta küçültebilen uygun bir değirmen, et kıyma makinesi, mikser, blender vb.



3. alkalama cihazı: Bilek hareketi (wrist-action) Şeklinde hareket eden mekanik alkalayıcı.
4. Blender: Yüksek hızlı, 1 ve 5 L'lik, Waring veya eŐdeęeri.
5. Tp karıştırıcı: Girdap karıştırma yapan, tercihen aynı anda birden fazla tüpü karıŐtırabilen.
6. stten kefeli yarı hassas terazi.
7. Otomatik pipet.
8. Vakum pompası.
9. HPLC cihazı.
  - 9.1. Degaser, Agilent 1100.
  - 9.2. Gradient Pompa, Agilent 1100.
  - 9.3. Oto rnekleyici, Agilent 1100.
  - 9.4. Floresan dedektör, (FLD), Agilent 1100.
  - 9.5. Kolon fırını, Agilent 1100.
  - 9.6. Bilgisayar ve yazılım, (HP Chemstation).
  - 9.7. RP-HPLC kolonu: ACE C-18 250 x 4,6 mm (ACE 121 – 2546) ve ODS-2; aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>'yi diğer bütün piklerden ve birbirinden ayırabilen. Uygun bir n kolon da kullanılabilir.
  - 9.8. Elektrokimyasal olarak elde edilen bromla türevlendirme sistemi Kobra Cell ve bağlantı hortumları. Bağlantı ve artık hortumlarının hepsi 0,5 mm iç çapında ve reaksiyon hortumu 34 cm uzunluğundadır.
10. Tek kullanımlık Şırınga filtreleri: 0,45 m.

#### 2.1.4. Kimyasal maddeler

1. zcler: Asetonitril (Merck 1.00030), metanol (Sigma-Aldrich-34885); HPLC saflıkta. Metanol, aseton(Sigma-Aldrich-24201); analitik saflıkta.

2. Potasyum bromür (KBr) (Merck 1.04904); Nitrik asit (HNO<sub>3</sub>) (4 mol/L); analitik saflıkta.

3. Fosfat tampon çözeltisi (PBS):

8.0 g NaCl,

1.2 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,

0.2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,

0.2 g KCl.

Yaklaşık 990 ml saf suda çözüldü. 0,2 M NaOH ile pH: 7,0'ye ayarlandı ve saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

4. İmmüno-affinite kolon: Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>'ye karşı spesifik antikorlar içermelidir. Kolon, aflatoksin B<sub>1</sub> için 100 ng'dan daha az kapasiteye sahip olmamalıdır ve her aflatoksinde 5 ng içeren metanol/su solüsyonu geçirildiğinde geri alma aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> için %80'den aflatoksin G<sub>2</sub> için de %60'dan daha az olmamalıdır.

5. Standart aflatoksin (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>) çözeltileri (Sigma aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>) [Toluen (Merck) + ACN (Labscan)] (2 + 98).

5.1. Stok standart çözeltisi: Dört aflatoksin fraksiyonu da ayrı ayrı toluen-asetonitril (98+2) (v/v) ile çözülerek, yoğunluğu 8-10 µg/ml olacak şekilde stok solüsyonlar hazırlandı.

5.2. Ara stok ve kalibrasyon çözeltileri: Stok aflatoksin standart çözeltilerinden, 1 µg/ml B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub> ile 0,2 µg/ml B<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub> içeren II. düzey ara standart stok çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden 10 ml'lik ölçülü balona 1 ml pipetlenip 10 ml'ye toluen+asetonitril ile (98+2) (v/v) tamamlanarak 0,1 µg/ml B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub> ile 0.02 µg/ml B<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub> içeren III. düzey ara standart stok çözeltisi hazırlandı. III. düzey ara stok çözeltisinden tabloda verilen miktarlarda viallere alınarak çözücü azot altında oda sıcaklığında uçuruldu. Her bir viale 1 ml metanol (HPLC saflıkta, süzölmüş) eklendi, tüp karıştırıcıda karıştırılarak aflatoksinlerin çözünmesi sağlandı ve süzölmüş damıtık su ile 2,5 ml'ye tamamlandı. İhtiyaç duyulduğunda kalibrasyon için farklı yoğunluklarda ki standartlar da eklendi.

Hazırlanan ara stok çözeltiler, HPLC viallerine alınarak kapakları kapatıldı, renksiz vialler ışık almaması için alüminyum folyo ile kaplandı ve derin dondurucuda muhafaza edildi. Kullanılacağı zaman oda sıcaklığına getirildikten sonra kapakları açıldı. Kalibrasyon çözeltileri ise sulu çözeltilerde aflatoksinler stabil olmadığından günlük olarak hazırlandı. Yöntemde geri kazanımlar AFB<sub>1</sub> %85-95, AFB<sub>2</sub> %80-90, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> ise %70-90 oranları aralığında, teşhis limiti 0,2 ppb düzeyindedir.

### **2.1.5. Özütleme ve temizleme**

#### **1. Örnek hazırlama**

Örnekler, gözenek büyüklüğü 0,8-1 mm olan elekten geçecek şekilde öğütüldü. Çok büyük hacimli örneklerde önce kaba bir öğütme yapıp iyice karıştırıldı ve bunun 1/20'si alınıp, analiz örneğini hazırlamak üzere daha ince öğütüldü. Bu şekilde hazırlanan örnekten, 4'e bölme yöntemi ile örnekleme yapılarak analiz örneği ayrıldı.

#### **2. Özütleme**

- 50 g analiz örneği 500 ml'lik erlenmayere tartıldı ve 250 ml aseton-su (85+15) (v/v) eklendi ve 30 dak bilek hareketli çalkalayıcıda karıştırıldı.

- Özüt katlanmış süzgeç kağıdından süzüldü ve 100 ml'lik balonjojeye süzüntüden 5 ml alınarak PBS ya da saf su ile 100 ml'ye tamamlandı ve iyice karıştırıldı.

- Seyreltilmiş özüt kirli ise cam mikrofiber filtreden süzüldü.

Uyarı: Bu işlemde sonra IAK uygulamasına kadar geçen süre 30 dak'yı aşmamalıdır.

#### **3. İmmünoaktivite kolon temizleme**

- Affinite kolonun tepesindeki kapak çıkarılıp, ucu kesildi ve yeniden kolona takıldı. 50 ml örnek özütü (0,5 g örneği temsil eder), yaklaşık 3 ml/dak (1 damla/sn) hızla kolondan geçirildi. Özütten sonra kolondan 2-3 ml hava geçirildi (kolondan her yeni hava ya da solüsyon geçirileceğinde şırınga kolondan ayrılmalı ve piston bu durumda çıkarıldıktan sonra şırınga kolona tekrar takılmalıdır).

- Kolon 20 ml su geçirilerek (1 damla/sn) yıkandı (2 kez 10'ar ml'lik olmak üzere), ardından tekrar 2-3 ml hava geçirildi.

- Aflatoksinler 0,5 ml metanol geçirilerek viale alındı (yer çekimi ile) 1 dak bekleddikten sonra 1,25 ml metanol kolona uygulandı ve kolondan hava geçirilerek vialde toplam 1,75 ml olacak şekilde yıkanma tamamlandı. HPLC enjeksiyonu yapılacağı zaman 3,25 ml su ilave edilerek girdap karıştırıcıda karıştırıldı.

## 2.1.6. Kromatografi

### 1. Kromatografik koşullar

- HPLC mobil faz: Su – asetonitril – metanol (6+2+3) (v/v/v) karışımının her litresine, 119 mg potasyum bromür ve 350 µl nitrik asit eklendi.
- Akış hızı: 1,0 ml/dak.
- Dalga boyu: Eksitasyon: 360 nm, emisyon: 430 nm.
- Enjeksiyon hacmi: 200 µl.
- Kolon sıcaklığı: Oda sıcaklığı.
- Yaklaşık alikonulma zamanı: AFB<sub>1</sub>: 13,5 dak, AFB<sub>2</sub>: 11,5 dak, AFG<sub>1</sub>: 9,7 dak ve AFG<sub>2</sub>: 8,5 dak.
- Kobra cell: Akım kaynağı 100 µA'e ayarlandı.

### 2. Kromatografik işlem

- HPLC çalıştırıldı.
- Yaklaşık 30-40 dak mobil faz geçirilerek kolonun şartlanması sağlandı.
- "Baseline" stabil hale gelince pompa durdurularak Kobra Cell bağlantıları yapıldı.
- Mobil fazın 5-10 dak Kobra Cell bağlanmış sistemden geçmesi sağlandıktan sonra, akım kaynağı Kobra Cell'e takılarak 100 µA'e ayarlandı.
- Sistemin bu koşullarda da 15 dak şartlanması beklendi.
- İlk sırada bir karışık standart (kalibrasyon standartlarından biri) olmak üzere örnek eluatları sıralanarak enjeksiyonları yapıldı.
- Standartlarla (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>) aynı alikonma süresine (retention time) sahip pik olup olmadığı kontrol edildi (standartların alikonma süreleri önceden verildiğinde,

örneklerde aynı alıkonma sürelerine sahip piklerin üzerine adı yazılarak tanımlama cihazın yazılımı tarafından yapılır).

### 3. Doğrulama

IAK'ların aflatoksine spesifik antikorlar içermesi sebebiyle, genellikle yukarıda verilen kromatografik koşullarda standartla aynı alıkonulma zamanına sahip pikler aflatoksin olarak kabul edildi ve doğrulama yapılmadı. Şüpheli durumlarda aşağıdaki doğrulama uygulandı.

- Mobil faz değiştirilerek, tekrar standart ve örneğin enjeksiyonu yapıldı. Örnekteki piklerle standarda ait piklerin alıkonulma zamanı farklı ise aflatoksin olmadığına karar verildi. Alıkonulma süreleri aynı ise aşağıdaki işlem uygulandı.

- HPLC kolonu, bromla türevlendirme cihazına (Kobra Cell) olan bağlantısından ayrıldı ve direkt olarak dedektöre bağlandı. Bu durumda örnek ve standartlara ait pikler yeniden değerlendirildi. Aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub> piklerinde küçülme görülürse şüpheli piklerin aflatoksin olduğuna karar verildi.

#### 2.1.7. Veri analizi ve sonuçların hesaplanması

##### 1. Kalibrasyon grafiğinin oluşturulması

Madde 5.5.2'de verilen yoğunluklarda hazırlanan aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>'yi birlikte içeren standart solüsyonların HPLC'ye enjeksiyonları yapıldı. Enjekte edilen aflatoksin miktarına (ng/ml) karşı, elde edilen sinyallerin (pik alanı) grafiği çizildi ve doğrusal regresyon ( $y = ax + b$ ) hesaplandı.

Kalibrasyon grafiği (fonksiyonu), ölçülen solüsyonun yoğunluğunu hesaplamak için doğrusal regresyonla elde edildi:

$$C_{\text{smp}} [\text{ng/ml}] = a \times \text{sinyal}_{\text{smp}} [\text{birim}] + b$$

##### 2. Örnekteki aflatoksin miktarının hesaplanması

Örnekteki aflatoksin miktarı da aşağıdaki eşitlikle hesaplandı:

$$\text{Aflatoksin (ng/g)} = \frac{C_{\text{smp}} (\text{ng/ml}) \times S (\text{ml}) \times E (\text{ml}) \times D (\text{ml})}{W (\text{g}) \times V_e (\text{ml}) \times V_{\text{IAK}} (\text{ml})}$$

Burada;

W (weight) : Analiz için alınan örnek miktarı (g),

S (solvent) : Özütleme solventi hacmi (ml),

E (elution) : IAK'dan elusyondan sonra elde edilen son hacim (HPLC enjeksiyonundan önce) (ml),

D (dilution) : PBS veya saf su ile seyreltikten sonraki hacim (ml),

V<sub>e</sub> : Özütten alınan hacim (ml),

V<sub>IAK</sub> : IAK'dan geçirilen örnek özütü (ml),

C<sub>smp</sub> : Doğrusal regresyonla hesaplanan aflatoksin yoğunluğu (ng/ml),

Sinyal<sub>smp</sub> : Ölçülen son solüsyondan elde edilen aflatoksin pikinin sinyali.

**Not:** Mevcut HPLC cihazında, 5 ml'lik son özüt, 0,5 g örneği temsil ettiği için çarpım (multiplier) faktörü 5 olarak verildiğinde, örnekteki miktar µg/kg (ppb) olarak raporda görülmektedir.

## 2.2. Nitrat ve Nitrit Analizi

Yemlerdeki nitrat ve nitrit tayini için temel olarak Sen ve Donaldson (1978) tarafından bildirilen, Yavuz (1992) ve Oruç ve Ceylan (2001) tarafından modifiye edilen, Becer (2008) tarafından uygulanan yöntem kullanıldı. Yöntem homojenize edilmiş veya öğütülmüş örneklerden nitrat ve nitritin damıtık su ile özütlenmesi esasına dayanır. Yönteme göre özütlenen nitrat kadmiyum kolonundan geçirilerek nitrite indirildi. Asidik pH'daki nitrit içeriğini renk ayırıcı olarak sülfanilik asitle karıştırılan N-(1-Naftil) etilen daimin (NED) dihidroklorid ilave edilerek kırmızı azo boyası formuna dönüştürülen nitrit, kolorimetrik bir yöntemle ölçüldü.

### 2.2.1. Ayıraçlar

1. Amonyum klorür tampon çözeltisi (pH = 9,6-9,7): 20 ml HCl, 500 ml damıtık su ve 50 ml NH<sub>4</sub>OH (Merck, Art.1.05423) ile karıştırıldı. 1 L'ye sulandırıldı. İyice karıştırıldı ve pH kontrol edildi. Eğer yüksek ise HCl ile düşük ise NH<sub>4</sub>OH ile 9,6-9,7 olacak şekilde ayarlandı.
2. Çinko sülfat çözeltisi (0,42 M): 120 g ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O (Merck, Art.1.08883) 1 L'lik bir balon jojeye tartılıp bir miktar damıtık su ile çözdürüldükten sonra 1 L'ye tamamlandı.
3. Sodyum hidroksit çözeltisi: Sodyum hidroksit'in (Merck, Art.1.06498) damıtık su ile %2'lik çözeltisi hazırlandı.
4. Kadmiyum sülfat: (0.14 M): Litrede 37 g CdSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O (Merck, Art.1.02027) içeren çözeltisi damıtık su ile hazırlandı.
5. Çinko granülü: (Merck, Art.1.08755). 40-60 mesh.
6. N-(1-Naftil) etilen diamin dihidroklorür (NED) çözeltisi: NED (SIGMA-N-9125 Lod 39H0711) %60'lık glasiyal asetik asit içerisinde %0,1'lik olarak hazırlandı. Çözelti ağzı cam kapaklı bir şişede saklandı. Bu çözelti buzdolabında bir hafta dayanır ve haftada bir yenilenir.
7. Sülfanilamid çözeltisi: 2,5 g Sülfanilamid (Merck, Art.1.11799) 175 ml damıtık suda çözdürüldü ve üzerine 75 ml Glasiyel asetik asit eklendi. Ağzı cam kapaklı bir şişede oda ısısında saklandı.
8. Hidroklorik asit çözeltisi (0,1 N): Derişik HCl'den (Merck, Art.1.00314) 4,14 ml alınıp damıtık su ile 500 ml'ye seyreltilmek suretiyle hazırlandı.
9. Sülfanilik asit çözeltisi: 10 g Sülfanilik asit (Merck,Art.685) 700 ml damıtık suda çözdürüldü. Üzerine 300 ml glasiyel asetik asit eklendi. Ağzı cam kapaklı bir şişede oda ısısında saklandı.
10. Renk ayıracı: Kullanmadan önce eşit hacimde sülfanilik asit çözeltisi ile NED çözeltisi karıştırıldı.

### 2.2.2. Aletler

1. Kadmiyum indirgeme kolonu. (Şekil 2.1).
2. Spektrofotometre: SHIMADZU-UV-1601.
3. Deiyonize su cihazı (Nüve NS 103).
4. Homojenizatör: Virtis-23 model.
5. Su banyosu ve gerekli cam malzemeler.

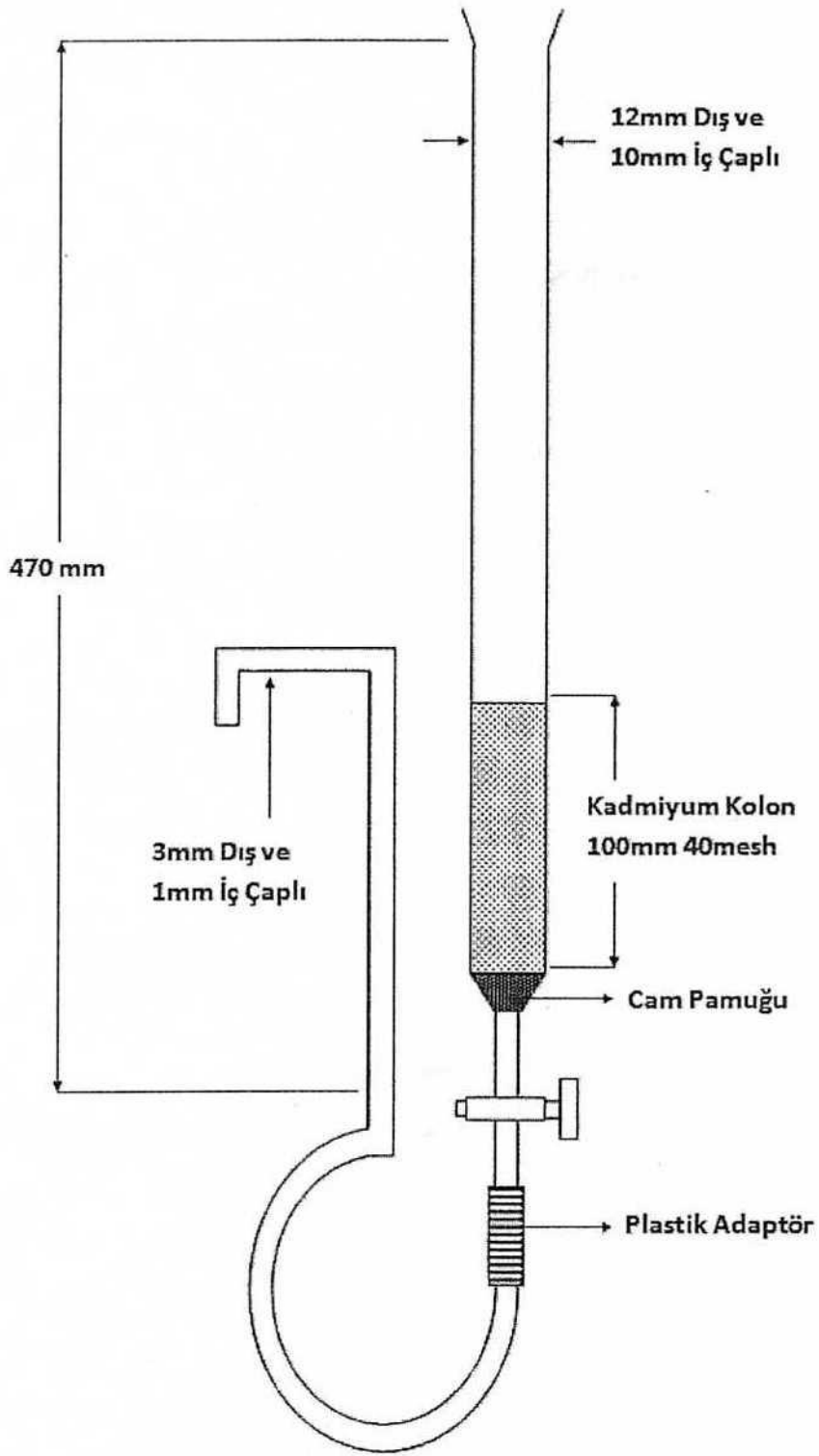
### 2.2.3. Kadmiyum indirgeme kolonunun hazırlanması

500 ml kadmiyum sülfat çözeltisi içeren bir erlenmayere yeterli miktarda çinko granülü konularak 7 saat süre ile bekletildi. Bu süre sonunda sıvı içeriği döküldü ve çinko granülleri 2 kez 500 ml damıtık su ile yıkandı. Erlenmayere 200 ml damıtık su konularak su altında çalışmak koşulu ile çinko granülleri üzerinde biriken süngerimsi yapıdaki kadmiyum presipitatu ayrıldı. Kadmiyum içeriği karıştırıcı kabına aktarılarak su içeriği ile birlikte 5-10 sn süre ile yüksek devirde karıştırıldı. Islak halde iken uygun elekten (40 mesh) geçirildi. Uygun bir beherglas içinde aralıklarla çalkalanarak 0,1 N HCl ile yıkandı ve asit içerisinde 1 gece bırakıldı. Belirtilen işlemden sonra seyreltik asit içeriği dökülerek 500 ml damıtık su ile yıkama işlemi 2 kez tekrarlandı. İndirgeme kolonunun hazırlanması için Şekil 2.1.'de görülen kolonun alt ucuna küçük bir cam pamuğu yumağı yerleştirildi. Kolon damıtık su ile doldurulduktan sonra ortalama 12 cm yüksekliğe kadar kadmiyum katmanı oluşturacak şekilde süngerimsi kadmiyum tozu eklendi. Kolon musluğu ılımlı bir akıntı sağlayacak şekilde açılmak suretiyle kadmiyum katmanının yerleşmesi sağlandı. Daha sonra kadmiyum katmanının üst kısmına da uygun bir cam pamuğu yumağı yerleştirildi. Kolon kullanıldığı sürece damıtık su dolu tutuldu. Etkili bir indirgeme işleminin sağlanabilmesi için kolondan geçen sıvı akış hızı 4,6 ml/dak olacak şekilde ayarlandı.

### 2.2.4. Kadmiyum indirgeme kolonunun etkinleştirilmesi

Kadmiyum indirgeme kolonun günlük uygulamalardan önce etkinleştirilmesi gereklidir. Bunun için kolondan sırası ile 2 defa 25 ml 0,1 N HCl, 2 defa 25 ml damıtık su ve 2 defa 25 ml amonyum klorür tampon çözeltisi geçirildi. Bu işlemlerden sonra örnekler kolondan geçirildi. Her örnekten sonra etkinleştirme işlemi tekrarlandı.





Şekil 2.1. Kadmiyum indirgeme kolonu (Becer, 2008)

### 2.2.5. Nitrat ve nitrit için standart eğrinin hazırlanması

Nitrat için ml'de 1 mg/ml nitrat azotu ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) olacak şekilde stok standart çözelti hazırlandı. Standart çözeltiler; 1  $\mu\text{g/ml}$ , 0,6  $\mu\text{g/ml}$ , 0,3  $\mu\text{g/ml}$ , 0,1  $\mu\text{g/ml}$ , 0,05  $\mu\text{g/ml}$ , 0,02  $\mu\text{g/ml}$  ve 0,01  $\mu\text{g/ml}$  olacak şekilde 50'şer ml'lik seyreltmeler yapıldı ve bu seyreltilen çözeltiler kullanılarak indirgeme işlemleri gerçekleştirildi.

Nitrit için de ml'de 1 mg nitrit azotu ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ) olacak şekilde stok standart çözelti hazırlandı. Bu standart çözeltiler; 1  $\mu\text{g/ml}$ , 0,5  $\mu\text{g/ml}$ , 0,2  $\mu\text{g/ml}$ , 0,1  $\mu\text{g/ml}$ , 0,05  $\mu\text{g/ml}$ , 0,02  $\mu\text{g/ml}$  ve 0,01  $\mu\text{g/ml}$  olacak şekilde 50'şer ml'lik seyreltmeler yapıldı.

Yöntemde örnekler için belirtilen işlemlere devam edildi. Ölçüm sonucunda elde edilen absorbanslara göre hazırlanan nitrat ve nitrit standart eğrileri çizildi.

### 2.2.6. Nitrat ve nitrit yoğunluklarının hesaplanması

Nitrat yoğunlukları nitrat azotu olarak ve nitrit yoğunlukları nitrit azotu olarak kalibrasyon eğrilerinden hesaplandı. Analiz aşamasında özütlenen filtratın bir kısmı doğrudan nitrit ölçümü için kullanıldı ve nitrit yoğunluğu direkt nitrit kalibrasyon eğrisinden hesaplandı. Aynı filtratın bir kısmı da kadmiyum indirgeme kolonundan geçirilerek filtratın içindeki nitratın nitrite indirgenmesi sağlandı. Aynı filtratta başlangıçta ayrılarak ölçülen normal nitrit de bulunmaktadır. Bu nedenle kolondan geçirildikten sonra ölçülen nitrit yoğunluğu toplam nitrit yoğunluğudur (nitratın indirgenmesi ile elde edilen nitrit + başlangıçtaki örnekte bulunan nitrit). Nitrat yoğunluğu, toplam nitrit yoğunluğu absorbansından başlangıçtaki nitrit yoğunluğu absorbansı çıkarılıp ortaya çıkan absorbansın nitrat kalibrasyon eğrisinden hesaplanmasıyla elde edildi. Sonuçlar ppm olarak verildi.

### 2.2.7. Örneklerin özütleme ve arıtılması işlemi

Örneklerden en az 5 g alınarak öğütme makinesinde öğütüldü. Öğütülmüş örnekten hassas terazide 5 g olacak şekilde tartıldı. Homojenizatör kabına alınan örneklerin üzerine 35-40 ml damıtık su ve 0,5 ml NaOH ilave edilerek 5 dak süreyle homojenizatörde yüksek devirde karıştırıldı. Bu karıştırma işleminden sonra pH

kontrol edildi. Eğer pH değeri 7'nin altında ise pH 7-8 arasında oluncaya kadar dikkatlice %2 NaOH solüsyonu ilave edildi. Cam balonlara aktarılan örnekler sıcak su banyosuna yerleştirilip banyonun sıcaklığı 50 °C oluncaya kadar içinde tutularak belirli aralıklarla karıştırıldı. İstenilen sıcaklığa ulaşıldığında her bir örneğe 5 ml ZnSO<sub>4</sub> çözeltilisinden ilave edilerek karıştırıldı. 10 dak süre ile 50 °C sıcak su banyosunda bekletildi. Bu sürenin sonunda sıcak su banyosundan oda ısısındaki soğuk su banyosuna alındı ve soğutuldu. Örneklerin hacmi damıtık su ilave edilerek 100 ml'ye tamamlanıp iyice karıştırıldı. 5 dak beklenip süzgeç kağıdından süzöldü. Bu süzöntünün ilk 20 ml'lik kısmı atıldıktan sonra süzme işlemeine devam edildi. Elde edilen filtrat ile hemen aynı gün içinde analiz yapıldı.

#### **2.2.8. Nitrit ölçümü**

Örnek filtrattan 5 ml ölçölerek 50 ml'lik ölçü silindirine aktarıldı. Üzerine sırayla 9 ml amonyum klorür tamponu, 5 ml %60'lık asetik ait, 5 ml sülfanilamid, 2 ml NED ilave edildi. Damıtık su ile 50 ml'ye tamamlandı. Filtrat yerine damıtık su kullanılarak aynı şekilde kör örneği de hazırlandı. Hazırlanan örnek ve kör karanlık ortamda 25 dak bekletildi. Spektrofotometrede 550 nm dalga boyunda köre karşı absorbansı okundu.

#### **2.2.9. Nitrat ölçümü**

Örnek filtrattan 2 ml ölçölerek 50 ml'lik ölçü silindirine aktarıldı. Üzerine 5 ml amonyum klorür tamponu ilave edilip karıştırıldı. Nitrat tayini aşamasına geçmeden önce etkinleştirilmiş kadmiyum indirgeme kolonundan 3-5 ml/dak hızla geçirilerek nitrat nitrite indirgendii. Her örnek filtrat kolondan geçtikten sonra 15 ml damıtık su ile kolon yıkandı.

Kolondan geçen örneğe sırasıyla 5 ml %60'lık asetik asit, 5 ml sülfanilamid, 2 ml NED ilave edildi. Damıtık su ile 50 ml'ye tamamlandı. Filtrat yerine damıtık su kullanılarak aynı şekilde kör örneği de hazırlandı. Hazırlanan örnek ve kör karanlık ortamda 25 dak bekletildi. Spektrofotometrede 550 nm dalga boyunda köre karşı absorbansı okundu.

### 2.3. Tanen Analizi

Yemlerdeki tanen miktarları Horwits (1970) ve Lepper (1950) tarafından bildirilen spektrofotometrik yöntemle göre yapıldı.

Tanen, sodyum karbonatla birlikte Folin-Denis ayırıcı ile mavi renk oluşturdu. Mavi renkli bileşik 760 nm'de spektrofotometrede (nitrat-nitrit analizi bölümünde özellikleri verildi) ölçülerek tanen miktarı belirlendi. Sonuçlar yüzde olarak verildi.

#### 2.3.1. Ayıraçlar

Folin-Denis Ayırıcı: 750 ml damıtık suya 100 g sodyum volframmat (sodyum tungstat), 20 g fosfomolibdik asit ve 50 ml H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> konuldu. Geri soğutucuda 2 saat ısıtıldı sonra soğutuldu ve hacmi damıtık su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

Doymuş sodyum karbonat çözeltisi: 100 ml suya 35 g susuz Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> katıldı. 70-80 °C'de çözdürüldü. Bir gece bekletildi. Doymuş Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.10 H<sub>2</sub>O kristalleri ile kristallendirildi. Kristalizasyondan sonra cam pamuğundan süzüldü.

#### 2.3.2. Özütleme

1 g örnek tartıldı, üzerine 50 ml sıcak damıtık su eklenip 1 saat bekletildi. Daha sonra süzülerek süzüntüden 1 ml alındı ve 100 ml'lik balon jöjeye konuldu. Üzerine 90 ml damıtık su + 1 ml Folin-Denis ayırıcı + 5 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> konulup damıtık su ile hacmi 100 ml'ye tamamlandı. 30 dak karanlıkta bekletildikten sonra 760 nm'de spektrofotometrede okundu.

#### 2.3.3. Standart hazırlanması

0,1 mg/ml'lik tannik asit stok çözeltisinden 50 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 500 µl, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 5 ml ve 10 ml alınıp içerisinde 75 ml damıtık su bulunan 100 ml'lik balon jöjelere konuldu. Üzerine 1 ml Folin-Denis ayırıcı + 5 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> konulup damıtık su ile hacim 100 ml'ye tamamlandı. 30 dak karanlıkta bekletildikten sonra 760 nm'de spektrofotometrede okundu ve standart eğri çizildi. Çözelti her analiz için taze hazırlandı.

## 2.4. Sodyum Klorür Analizi

Sodyum klorür miktarı tayini USP-NF 1985'e göre yapıldı.

5 g yem örneği bir miktar damıtık suyla karıştırıcıda karıştırılıp, karışım 500 ml'lik balona aktarıldı; karıştırıcı ve hunideki örnek artıkları damıtık suyla yıkandı. Tuzun erimesi ve albüminin çökmesi için 45 °C'de 25-30 dak ısıtıldı, hacmi damıtık suyla 500 ml'ye tamamlandı; soğutuldu ve süzüldü. Süzüntüden 50 ml alındı, 1 ml belirteç (potasyum kromat %5, suda hazırlandı) katılarak 0,1 N AgNO<sub>3</sub> çözeltisi ile tuğla kırmızısı renge kadar titre edildi. Aynı şekilde bir de kör (5 ml su ile) yapıldı. Harcanan 0,1 N AgNO<sub>3</sub> hacim olarak belirlendi. Sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplandı ve yüzde olarak verildi.

### Hesaplama:

Hesaplama aşağıda verilen formüle göre yapıldı.

$$\%NaCl = \frac{\text{Harcanan } 0,1N \text{ AgNO}_3 \text{ (ml)} \times 500 \times 100 \times 0,0058454}{\text{Alınan örnek (g)} \times 50}$$

**2.5. İstatistik:** Çalışma sonunda elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi SPSS 17 istatistik paket programı ile yapıldı. "Kolmogrov-Smirnov testi" ile toplam aflatoksin, nitrat-nitrit, tanen ve sodyum klorür değerlerinin normal dağılım gösterip göstermediği saptandıktan sonra, normal dağılım gösteren yemler arasında belirtilen değişkenler yönünden ortalamalardaki farklılık "Tek Yönlü Varyans Analizi" ile belirlendi, farklılık gösteren gruplar "Duncan" en küçük önemli fark yöntemi ile tespit edildi.

Analiz sonuçlarına göre aflatoksin miktarları ppb (µg/kg), nitrat-nitrit miktarları ppm (mg/kg), sodyum klorür ve tanen miktarları ise yüzde (%) olarak ifade edildi.

### 3. BULGULAR

Yapılan analizlerle muhabbet kuşu, kanarya ve papağan yemleri, toplam aflatoksin, nitrat-nitrit, tanen ve sodyum klorür yönünden incelendi.

Analiz sonuçlarına göre toplam aflatoksin miktarları (Çizelge 3.1) muhabbet kuşu yemlerinin 11'inde (%55) 2,44-34,30 ppb (Çizelge 3.5), kanarya yemlerinin 8'inde (%40) 0,91-16,75 ppb (Çizelge 3.6) ve papağan yemlerinin 10'unda (%50) 1,43-19,29 ppb (Çizelge 3.7) düzeylerinde bulunmuştur. Aflatoksin çeşitlerine göre ise, AFB<sub>1</sub> (Çizelge 3.2) muhabbet kuşu yemlerinin 11'inde (%55) 2,44-28,14 ppb (Çizelge 3.5), kanarya yemlerinin 8'inde (%40) 0,91-15,5 ppb (Çizelge 3.6) ve papağan yemlerinin 10'unda (%50) 1,43-18,5 ppb (Çizelge 3.7); AFB<sub>2</sub> (Çizelge 3.3) muhabbet kuşu yemlerinin 9'unda (%45) 0,29-1,66 ppb (Çizelge 3.5), kanarya yemlerinin 3'ünde (%15) 0,27-1,25 ppb (Çizelge 3.6) ve papağan yemlerinin 5'inde (%25) 0,25-1,44 ppb (Çizelge 3.7); AFG<sub>1</sub> (Çizelge 3.4) muhabbet kuşu yemlerinin 3'ünde (%15) 3,9-8,13 ppb (Çizelge 3.5) ve papağan yemlerinin 1'inde (%5) 1,46 ppb (Çizelge 3.7) ve AFG<sub>2</sub> sadece 1 muhabbet kuşu yeminde (Çizelge 3.5) 0,6 ppb düzeylerinde tespit edildi. Şekil 3.1. ve 3.2.'de analiz edilen örneklere ait birer negatif ve pozitif kromatogram örneği ve Şekil 3.3.'te standarda ait kromatogram örneği verildi.

**Çizelge 3.1.** Yemlerde bulunan toplam aflatoksin miktarlarının dağılım aralıkları.

Yem çeşitleri	Toplam aflatoksin (ppb)										
	Negatif		0,01-5		5,01-10		10,01-20		20 ↑		Toplam
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Muhabbet kuşu yemi	9	<b>45</b>	3	<b>15</b>	3	<b>15</b>	3	<b>15</b>	2	<b>10</b>	20
Kanarya yemi	12	<b>60</b>	6	<b>30</b>	1	<b>5</b>	1	<b>5</b>	-	-	20
Papağan yemi	10	<b>50</b>	6	<b>30</b>	-	-	4	<b>20</b>	-	-	20
Genel	31	<b>51,7</b>	15	<b>25</b>	4	<b>6,7</b>	8	<b>13,3</b>	2	<b>3,3</b>	60

**Çizelge 3.2.** Yemlerde bulunan AFB<sub>1</sub> miktarlarının dağılım aralıkları.

Yem çeşitleri	AFB <sub>1</sub> (ppb)										Toplam
	Negatif		0,01-5		5,01-10		10,01-20		20 ↑		
	n	%	N	%	n	%	n	%	n	%	
Muhabbet kuşu yemi	9	<b>45</b>	3	<b>15</b>	4	<b>20</b>	3	<b>15</b>	1	<b>5</b>	20
Kanarya yemi	12	<b>60</b>	6	<b>30</b>	1	<b>5</b>	1	<b>5</b>	-	-	20
Papağan yemi	10	<b>50</b>	6	<b>30</b>	-	-	4	<b>20</b>	-	-	20
Genel	31	<b>51,7</b>	15	<b>25</b>	5	<b>8,3</b>	8	<b>13,3</b>	1	<b>1,7</b>	60

**Çizelge 3.3.** Yemlerde bulunan AFB<sub>2</sub> miktarlarının dağılım aralıkları.

Yem çeşitleri	AFB <sub>2</sub> (ppb)										Toplam
	Negatif		0,01-5		5,01-10		10,01-20		20 ↑		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Muhabbet kuşu yemi	11	<b>55</b>	9	<b>45</b>	-	-	-	-	-	-	20
Kanarya yemi	17	<b>85</b>	3	<b>15</b>	-	-	-	-	-	-	20
Papağan yemi	15	<b>75</b>	5	<b>25</b>	-	-	-	-	-	-	20
Genel	43	<b>71,7</b>	17	<b>28,3</b>	-	-	-	-	-	-	60

**Çizelge 3.4.** Yemlerde bulunan AFG<sub>1</sub> miktarlarının dağılım aralıkları.

Yem çeşitleri	AFG <sub>1</sub> (ppb)										Toplam
	Negatif		0,01-5		5,01-10		10,01-20		20 ↑		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Muhabbet kuşu yemi	17	<b>85</b>	2	<b>10</b>	1	<b>5</b>	-	-	-	-	20
Kanarya yemi	20	<b>100</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	20
Papağan yemi	19	<b>95</b>	1	<b>5</b>	-	-	-	-	-	-	20
Genel	56	<b>93,3</b>	3	<b>5</b>	1	<b>1,7</b>	-	-	-	-	60

**Çizelge 3.5.** Muhabbet kuşu yemlerindeki aflatoksin miktarları.

Örnek numarası	Sonuç (ppb)				Toplam
	AFB <sub>1</sub>	AFB <sub>2</sub>	AFG <sub>1</sub>	AFG <sub>2</sub>	
1	14,76	1,66	3,9	-	20,32
2	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	13,79	0,6	-	-	14,39
8	2,53	0,29	-	-	2,82
9	2,95	0	-	-	2,95
10	6,48	0,38	-	-	6,86
11	-	-	-	-	-
12	7,14	0,42	-	-	7,56
13	9,41	0,47	-	-	9,88
14	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-
16	28,14	1,66	3,9	0,6	34,3
17	-	-	-	-	-
18	12,7	0,8	-	-	13,5
19	7,95	0,55	8,13	-	16,63
20	2,44	-	-	-	2,44

- : Tespit edilebilir düzeyde bulunamadı.



**Çizelge 3.6.** Kanarya yemlerindeki aflatoksin miktarları.

Örnek numarası	Sonuç (ppb)				Toplam
	AFB <sub>1</sub>	AFB <sub>2</sub>	AFG <sub>1</sub>	AFG <sub>2</sub>	
1	-	-	-	-	-
2	2,78	-	-	-	2,78
3	-	-	-	-	-
4	4,38	0,27	-	-	4,65
5	-	-	-	-	-
6	15,5	1,25	-	-	16,75
7	1,77	-	-	-	1,77
8	-	-	-	-	-
9	4,93	-	-	-	4,93
10	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-
15	0,91	-	-	-	0,91
16	2,65	-	-	-	2,65
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	5,05	0,3	-	-	5,35
20	-	-	-	-	-

- : Tespit edilebilir düzeyde bulunamadı.

**Çizelge 3.7.** Papağan yemlerindeki aflatoksin miktarları.

Örnek numarası	Sonuç (ppb)				Toplam
	AFB <sub>1</sub>	AFB <sub>2</sub>	AFG <sub>1</sub>	AFG <sub>2</sub>	
1	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-
3	11,69	1,23	-	-	12,92
4	10,21	0,51	-	-	10,72
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	2,18	-	-	-	2,18
8	3,29	-	-	-	3,29
9	-	-	-	-	-
10	1,43	-	-	-	1,43
11	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-
13	18,5	0,79	-	-	19,29
14	-	-	-	-	-
15	1,58	-	1,46	-	3,04
16	-	-	-	-	-
17	14,6	1,44	-	-	16,04
18	-	-	-	-	-
19	3,68	0,25	-	-	3,93
20	2,52	-	-	-	2,52

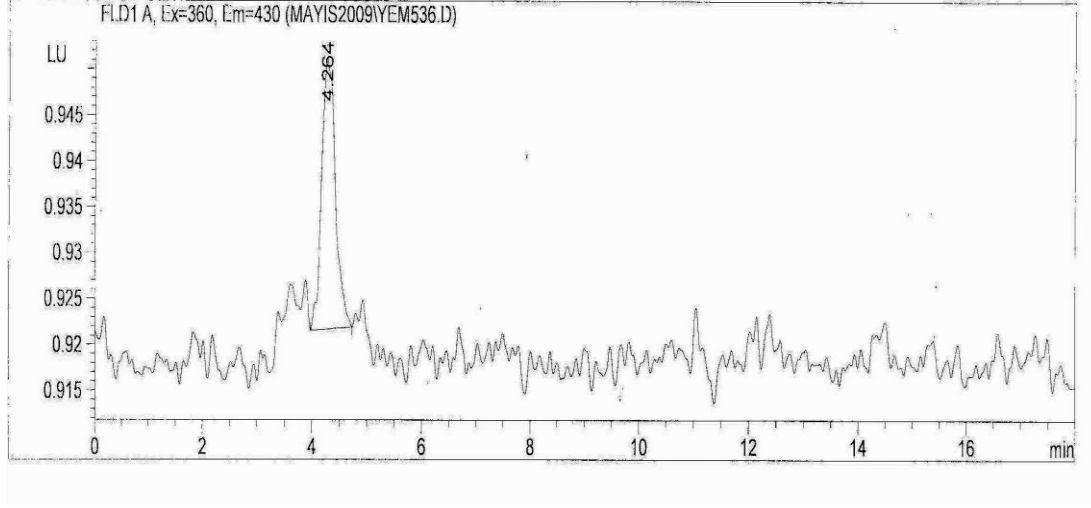
- : Tespit edilebilir düzeyde bulunamadı.

**Çizelge 3.8.** Tüm yemlerde aflatoksin miktarları (ppb)

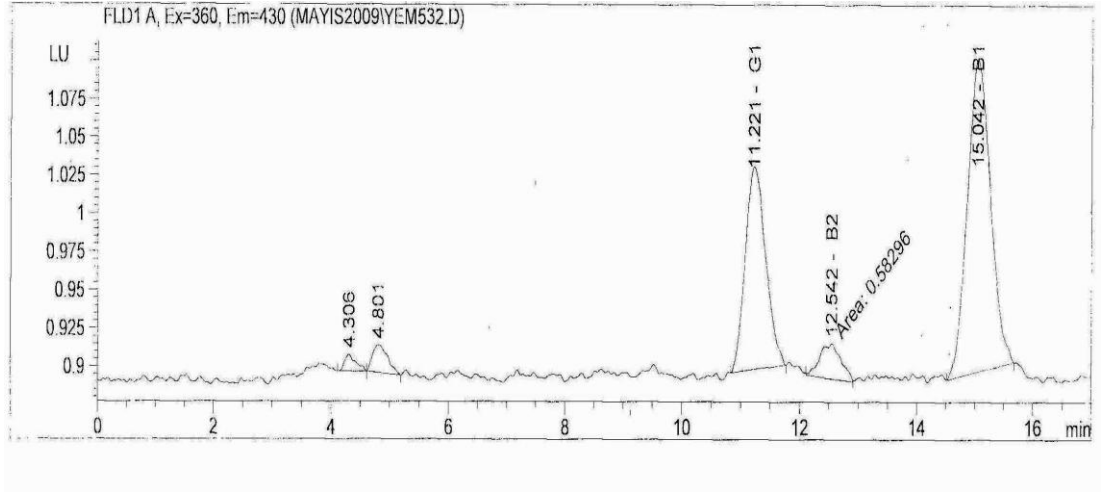
Aflatoksinler	Muhabbet kuşu X ± Sx	Kanarya X ± Sx	Papağan X ± Sx	Genel X ± Sx
AFB <sub>1</sub> en az - en çok	5,41 ± 1,65 0,00 - 28,14	1,90 ± 0,82 0,00 - 15,50	3,48 ± 1,25 0,00 - 18,50	3,60 ± 0,75 0,00 - 28,14
AFB <sub>2</sub> en az - en çok	0,34 ± 0,12 0,00 - 1,66	0,09 ± 0,06 0,00 - 1,25	0,21 ± 0,10 0,00 - 1,44	0,21 ± 0,06 0,00 - 1,66
AFG <sub>1</sub> en az - en çok	0,80 ± 0,47 0,00 - 8,13	TEDB	0,07 ± 0,07 0,00 - 1,44	0,29 ± 0,16 0,00 - 8,13
AFG <sub>2</sub> en az - en çok	0,03 ± 0,03 0,00 - 0,60	TEDB	TEDB	0,01 ± 0,01 0,00 - 0,60
Toplam AF en az - en çok	6,58 ± 2,06 0,00 - 34,30	1,99 ± 0,88 0,00 - 16,75	3,76 ± 1,33 0,00 - 19,29	4,11 ± 0,88 0,00 - 34,30

TEDB : Tespit edilebilir düzeyde bulunamadı.

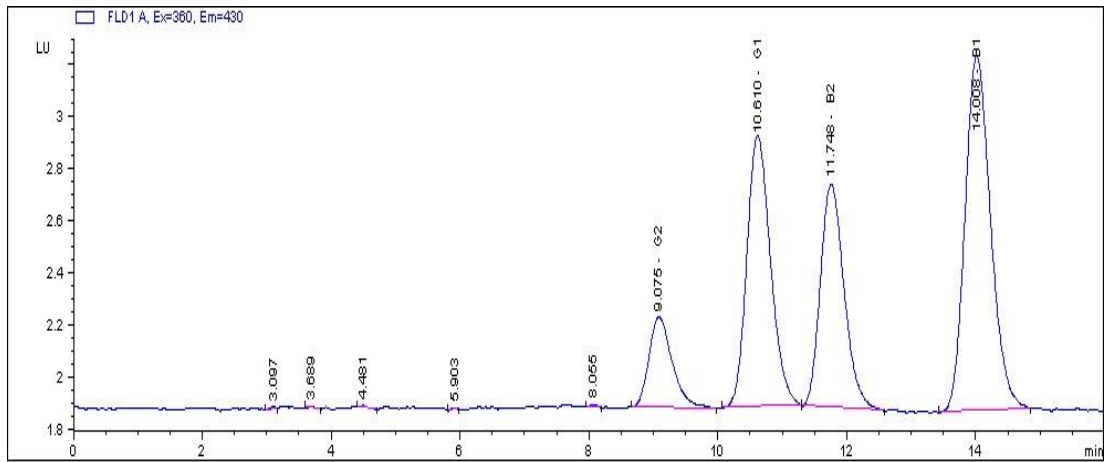
Yem çeşitleri toplam aflatoksin, AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> düzeyleri açısından benzerlik göstermektedir (p>0,05).



Şekil 3.1. Negatif yem örneği kromatogramı.



Şekil 3.2. Pozitif yem örneği kromatogramı.



Şekil 3.3. Standarda ait kromatogram.

Analizlerin sonucunda 32 örnekte (%53,33) nitrit (Çizelge 3.10) 0,48-6,19 ppm; nitrat (Çizelge 3.9, 3.11) 1,31-25,55 ppm arasındaki miktarlarda tespit edildi. Yem çeşitlerine göre ise nitrat (Çizelge 3.11) muhabbet kuşu yemlerinde  $7,95 \pm 1,33$  ppm (1,31-25,55 ppm), kanarya yemlerinde  $7,47 \pm 0,60$  ppm (2,62-13,76 ppm), papağan yemlerinde  $6,95 \pm 0,60$  ppm (1,97-12,45 ppm); nitrit (Çizelge 3.9, 3.11) muhabbet kuşu yemlerinde 10 örnekte (%50)  $1,48 \pm 0,41$  ppm (0,00-6,19 ppm); kanarya yemlerinde 8 örnekte (%40)  $0,83 \pm 0,28$  ppm (0,00-3,81 ppm) ve papağan yemlerinde 14 örnekte (%70)  $2,21 \pm 0,38$  ppm (0,00-4,76 ppm) miktarlarında bulundu.

**Çizelge 3.9.** Yemlerdeki nitrat miktarları ve sayısal dağılımları.

Yem çeşitleri	Miktarlar* (ppm)						Toplam
	0-10		10,01-20		20,01 ve üstü		
	n	%	n	%	n	%	
Muhabbet kuşu yemi	15	<b>75</b>	4	<b>20</b>	1	<b>5</b>	20
Kanarya yemi	18	<b>90</b>	2	<b>10</b>	-	-	20
Papağan yemi	18	<b>90</b>	2	<b>10</b>	-	-	20
Genel	51	<b>85</b>	8	<b>13,33</b>	1	<b>1,67</b>	60

\* Tüm yemler nitrat en az 1,31 ppm, en çok 25,55 ppm miktarlarında bulundu.

**Çizelge 3.10.** Yemlerdeki nitrit yönünden negatif ve pozitif örneklerin dağılımları.

Yem çeşitleri	Miktarlar (ppm)					Toplam
	Negatif		Pozitif		Miktar	
	n	%	n	%	En az - en çok	
Muhabbet kuşu yemi	10	<b>50</b>	10	<b>50</b>	0,95 - 6,19	20
Kanarya yemi	12	<b>60</b>	8	<b>40</b>	0,48 - 3,81	20
Papağan yemi	6	<b>30</b>	14	<b>70</b>	0,95 - 4,76	20
Genel	28	<b>46,67</b>	32	<b>53,33</b>	0,48 - 6,19	60

Tanen tüm yemlerde %0,04-0,74 arasındaki oranlarda bulundu (Çizelge 3.11). Yem çeşitlerine göre ise muhabbet kuşu yemlerinde  $0,10 \pm 0,007$  (%0,04-0,15), kanarya yemlerinde  $0,12 \pm 0,005$  (%0,09-0,15) ve papağan yemlerinde  $0,66 \pm 0,013$  (%0,52-0,74) oranlarında bulundu.

Sodyum klorür tüm yemlerde %0,05-0,44 arasındaki oranlarda bulundu. Yem çeşitlerine göre ise muhabbet kuşu yemlerinde %0,25±0,018 (%0,11-0,44), kanarya yemlerinde %0,11±0,009 (0,05-0,18) ve papağan yemlerinde %0,23±0,015 (%0,09-0,35) oranlarında bulundu (Çizelge 3.11).

**Çizelge 3.11. Yemlerdeki nitrat, nitrit, tanen ve sodyum klorür miktarları.**

Madde	n	Muhabbet kuşu X ± Sx	Kanarya X ± Sx	Papağan X ± Sx	Genel* X ± Sx	p
Nitrit (ppm) en az - en çok	20	1,48 ± 0,41 <sup>ab</sup> 0,00 - 6,19	0,83 ± 0,28 <sup>b</sup> 0,00 - 3,81	2,21 ± 0,38 <sup>a</sup> 0,00 - 4,76	1,51 ± 0,22 0,00 - 6,19	x
Nitrat (ppm) en az - en çok	20	7,95 ± 1,33 <sup>a</sup> 1,31 - 25,55	7,47 ± 0,60 <sup>a</sup> 2,62 - 13,76	6,95 ± 0,60 <sup>a</sup> 1,97 - 12,45	7,46 ± 0,52 1,31 - 25,55	-
Tanen (yüzde) en az - en çok	20	0,10 ± 0,007 <sup>a</sup> 0,04 - 0,15	0,12 ± 0,005 <sup>a</sup> 0,09 - 0,15	0,66 ± 0,013 <sup>b</sup> 0,52 - 0,74	0,29 ± 0,034 0,04 - 0,74	xx
Sodyum klorür (yüzde) en az - en çok	20	0,25 ± 0,018 <sup>a</sup> 0,11 - 0,44	0,11 ± 0,009 <sup>b</sup> 0,05 - 0,18	0,23 ± 0,015 <sup>a</sup> 0,09 - 0,35	0,19 ± 0,012 0,05 - 0,44	-

a, b : aynı satırda farklı harfleri taşıyan gruplar arası farklılıklar anlamlıdır.

xx : p < 0,001

x : p < 0,05

- : p > 0,05

\* : n = 60

Yem çeşitleri analiz edilen değişkenler yönünden ortalamalarda nitrit yönünden muhabbet kuşu yemi kanarya ve papağan yemi ile benzer, kanarya ve papağan yeminde ise anlamlı bir farklılık vardır (p<0,05). Nitrat yönünden gruplar benzerlik göstermektedir (p>0,05). Tanen yönünden muhabbet kuşu ve kanarya yemleri benzer; papağan yemi ise bu gruplardan anlamlı bir farklılık göstermektedir (p<0,001). Sodyum korür yönünden ise muhabbet kuşu ve papağan yemi benzerlik gösterirken, kanarya yeminde anlamlı bir farklılık vardır (p>0,05).

#### 4. TARTIŞMA

Yapılan taramalar sonucu kafes kuşu yemlerindeki doğal olumsuzluk faktörlerinden aflatoksinler, nitrat-nitrit, tanen ve sodyum klorür miktarları ile ilgili çok sınırlı sayıda çalışmaya rastlandı.

Oruç ve arkadaşları (2001) tarafından Bursa'daki 12 muhabbet kuşu, 5 kanarya ve 5 hayvanat bahçesi kuşu yemi olmak üzere toplam 22 kuş yeminde ELISA yöntemi ile yapılan çalışmada analiz edilen yemlerde aflatoksine %72,72 oranında rastlanmış ve 0,0-9,2 ppb miktarlarında olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma Türkiye'de kuş yemlerinde yapılan tek tarama çalışmasıdır. Burada yapılan çalışmada tespit edilen aflatoksin miktarları ve rastlanma oranları karşılaştırıldığında, araştırmacılar tarafından bulunan sonuçlara göre daha düşük oranda (%48,3) ancak daha yüksek miktarlarda (0,00-34,30 ppb) aflatoksin varlığının tespit edildiği görülmektedir (Çizelge 3.1). Buna rağmen tespit edilen aflatoksin miktarları büyük oranda (%80) araştırmacıların bildirdiği miktarlar aralığındadır.

Nizamlioğlu ve Gözün (1996) tarafından zehirlenme şüphesiyle laboratuvara getirilen 12 farklı tür ve yaştaki kanatlı ve bunların tükettiği yemlerde İTK yöntemi ile yapılan araştırmada yemlerde 2,5-25 ppb miktarlarında AFB<sub>1</sub> tespit edilmiş ve hayvanlarda yapılan nekropsi sonucunda karaciğer ve böbreklerinde aflatoksine bağlı patolojik bozuklukların gözlemlendiği bildirilmiştir. Bu çalışmada bulunan AFB<sub>1</sub> miktarları (0,91-28,14 ppb) araştırmacılar tarafından yapılan analiz sonuçlarına göre bulunan miktarlarla (2,5-25 ppb) benzerlik göstermektedir (Çizelge 3.8).

Martins ve arkadaşları (2003) tarafından 20 adet kuş yeminde (10 kanarya, 10 papağan yemi) HPLC yöntemi ile yapılan mikotoksin analizlerinde hiçbir örnekte aflatoksin tespit edilmemiştir.

Henke ve arkadaşları (2001) tarafından yapılan bir tarama çalışmasında, Teksas'ın farklı bölgelerinden topladıkları mısır, darı, ayçiçeği tohumu ve tahıl tanelerinden oluşan 142 adet yabancı kuş yemi örneğinde Aflatest kitleri ve florimetrik yöntem ile

0-2 780 ppb arasında değişen miktarlarda aflatoksin tespit edilmiş ve bu yemlerin %17'sinde 100 ppb'nin üzerinde aflatoksine rastlandığı bildirilmiştir. Bu çalışmada bulunan aflatoksin değerlerinin (0,00-34,30 ppb) Henke ve arkadaşları tarafından bulunan değerlerin çok altında olduğu görölmektedir (Çizelge 3.8).

Maia ve Pereira Bastos de Siquiera (2002) tarafından yapılan çalışmada, 30 kuş yeminde İTK yöntemi ile yapılan analizlerde, kuş yemlerinin %26,7'sinde ortalama 110 ppb miktarında AFB<sub>1</sub> tespit edilmiştir. Aflatoksin tespit edilen tüm yemlerin içeriğinde fıstık olduğunu bildirilmiştir. Buradaki çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında araştırmacıların bulduğu AFB<sub>1</sub> miktarlarının (ortalama 110 ppb) burada bulunan ortalama AFB<sub>1</sub> miktarlarının (3,60±0,75) çok üzerinde olduğu görölmektedir (Çizelge 3.8).

Yapılan taramalarda kafes kuşu yemlerinde bulunan aflatoksin miktarları hakkında sınırlı sayıda yayına rastlandığından dolayı ayrıca diğer kanatlı ve tavuk yemlerinde yapılan aflatoksin miktar belirleme çalışmaları ile de karşılaştırma yapıldı.

Brezilya'da Oliveira ve arkadaşları (2006) tarafından kanatlı yemlerinde HPLC yöntemi ile yapılan bir çalışmada AFB<sub>1</sub> miktarları 1,2 – 17,5 ppb arasında bulunmuştur. Buradaki çalışma sonuçlarıyla karşılaştırıldığında Olivera ve arkadaşlarının bulduğu değerler ile benzerlik göstermektedir (28,14 ppb AFB<sub>1</sub> içeren 1 yemin haricinde) (Çizelge 3.2).

Zinedine ve arkadaşları (2007) tarafından HPLC yöntemi ile 58 örnekte (20 mısır unu, 17 buğday unu ve 21 kanatlı yemi) yapılan çalışmada aflatoksin bulunma oranları sırasıyla %80, %17,6 ve %66 ve AFB<sub>1</sub> miktarlar sırasıyla 0,23-11,2 ppb, 0,03-0,15 ppb ve 0,05-5,38 ppb miktarlarında bulunmuştur. Yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında Zinedin ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmadaki AFB<sub>1</sub> bulunma oranı, bu çalışmada bulunan orandan daha yüksek fakat daha düşük miktarlarda bulunduğu görölmektedir (Çizelge 3.2).

Beg ve arkadaşları (2006) tarafından Kuveyt'teki kanatlı yem ve yem hammaddelerinde mikotoksin varlığının taranması için HPLC yöntemi ile yapılan araştırmada, ortalama aflatoksin miktarları mısırdaki 0,27 ppb (0-1,69 ppb), soya fasulyesinde 0,20 ppb (0-1,27 ppb), buğday kepeğinde 0,15 ppb (0-1,07 ppb), etçi piliç başlangıç yeminde 0,48 ppb (0-3,26 ppb), etçi piliç bitiş yeminde 0,39 ppb (0-1,05 ppb) ve yumurtacı tavuk yemlerinde 0,21 ppb (0-1,30 ppb) bulunmuştur. Araştırmacılar tarafından yapılan çalışma ile karşılaştırıldığında bu çalışmada bulunan değerler (toplam aflatoksin 0-34,30 ppb) daha yüksek görünmektedir (Çizelge 3.8).

Giambone ve arkadaşları (1985) 400 ppb ve üzerindeki miktarlarda aflatoksin içeren yemle beslenen hindilerde yüksek oranda ölümlerin görüldüğünü; Witlock ve Wyatt (1981) ve Quist ve arkadaşlarının (2000) yaptığı çalışmalarda ise 100 ppb ve daha yüksek miktarda aflatoksin içeren yemlerle kısa süreli (14 gün), Rauber ve arkadaşlarının (2007) ise daha uzun süreli (21-42 gün) beslenen hindilerde, kan parametrelerinde değişim, karaciğer hasarı ve canlı ağırlık artışında azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bildirilen çalışmalarla karşılaştırıldığında bu çalışmada bulunan değerlerin bildirilen değerlerden çok düşük olduğu görülmektedir (Çizelge 3.8).

Yem ve yem hammaddelerinin aflatoksinlerle kirlenme durumu, toksin oluşumuna neden olan hazırlayıcı faktörlerden dolayı, yem içeriğine, ülkelere, bölgelere, mevsimlere ve yıllara göre önemli ölçüde değişiklikler göstermektedir. Bu nedenle yapılan çalışmaların bulguları arasında da önemli farklılıklar mevcuttur.

Kafes kuşu yemlerinde, aflatoksin tolerans düzeyleri ile ilgili bir veri bulunmamaktadır. Araştırma sonucunda elde edilen değerler, Avrupa Birliği uyum yasaları çerçevesinde 5 Şubat 2005 tarih ve 25718 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan 2005/3 sayılı yemlerde istenmeyen maddeler hakkında tebliğ ve 11 Haziran 2008 sayılı ve 26903 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan yemlerde istenmeyen maddeler hakkında tebliğinde değişiklik yapılmasına dair tebliğe göre değerlendirildi. Bu tebliğe göre yem maddelerinde bulunabilecek en fazla AFB<sub>1</sub> miktarı 0,02 mg/kg (20 ppb) olarak bildirilmiştir. Benzer bir şekilde İngiltere Hayvan Yem Maddeleri için Danışma Komisyonu (Advisory Committee on Animal Feedingstuffs) tarafından



yabani kuşlar için yem maddelerinde bulunabilecek en yüksek AFB<sub>1</sub> miktarı 0,02 mg/kg olarak bildirilmiştir. Araştırma sonucunda sadece muhabbet kuşu yemlerinden 1 örneğin belirten düzeyleri aştığı görüldü.

Oruç ve arkadaşları (2001) tarafından 12 muhabbet kuşu, 5 kanarya ve 5 hayvanat bahçesi kuşu yemi olmak üzere toplam 22 kuş yeminde yapılan bir çalışmada, yapılan analizler sonucunda yemlerde 0,0-3,1 ppm nitrat ve 0,0-1,3 ppm miktarlarında nitrit bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçlarıyla (nitrat 1,35-25,5 ppm ve nitrit 0,00-6,19 ppm) karşılaştırıldığında araştırmacılar tarafından bulunan değerlerin daha düşük olduğu görülmektedir (Çizelge 3.11).

Atef ve arkadaşları (1991) tarafından horoz yavrularında yapılan bir çalışmada yemle birlikte 4,2 g/kg sodyum nitrat ve 1,7 g/kg sodyum nitrit verilen farklı iki grubun her ikisinde de büyümenin yavaşladığı, methemoglobinemi şekillendiği, eritrosit, glutamik pirüvik transaminaz, kreatinin ve üre miktarlarında değişimler olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle de nitrat ve nitritin kümes hayvanlarının karaciğer, böbrek ve immün sistemle ilgili hastalıkların etiolojisinde rol alabileceği belirtilmiştir.

Burada yapılan çalışmada bulunan nitrat ve nitrit miktarlarının Atef ve arkadaşlarının (1991) bildirdiği miktarlarla kıyaslanmayacak derecede düşük olduğu görülmektedir. Burada bulunan miktarlar Diaz ve arkadaşlarının (1995) bildirdiği tahıl tanelerinde normal olarak bulunan nitrat ve nitrit miktarları (0,5-18 ppm) ile benzerdir (Çizelge 3.11)

Kafes kuşu yemlerindeki tanen miktarlarını belirlemeye yönelik yapılan çalışmalara ait taramalarda herhangi bir literatüre rastlanmamasından dolayı bazı tavuk yemlerinde ve daha çok kuş yemi olarak kullanılan darıya ait çalışmalarla karşılaştırmalar yapıldı.

Geervani ve Eggum (1989) tarafından yapılan çalışmada farklı darı türlerinde tanen oranlarını %0,21-0,87 arasında bulunmuştur. Benzer olarak Onweluzo ve Nwabugwu (2009) tarafından darıdaki tanen oranları %0,24-0,28 olarak bildirilmiştir. Bildirilen değerler bu çalışmada bulunan tanen oranları (0,04-0,74) ile karşılaştırıldığında bildirilen değerlerle benzerlik gösterdiği görülmektedir (Çizelge 3.11).

Akar ve arkadaşları (1994) çeşitli yem ve yem ham maddelerinde tanen ve siyanür miktarları üzerine yaptıkları bir araştırmada yem ve yem ham maddelerindeki tanen oranlarını yüzde olarak ortalama 0 ile 5,70 arasında bulmuşlar ve buldukları bu oranlardaki tanenin kanatlı hayvanlarda sağlık sorunlarına neden olabileceği ve yemden yararlanmayı olumsuz yönde etkileyeceği sonucuna varmışlardır. Bu çalışmada elde edilen sonuçların (%0,04-0,74) araştırmacıların bulduğu sonuçlardan daha düşük olduğu görülmektedir (Çizelge 3.11).

Blakeslee ve Wilson (1979), yumurtacı tavuklar üzerinde yapılan bir çalışmada %1 oranında tanen içeren yemle beslenen hayvanlarda yem tüketiminde, yumurta veriminde azalma ya da yemden yararlanmada kontrol grubuna göre önemli bir fark olmadığını; ancak, %2 ve %4 oranda tanen içeren yemle beslenen tavuklarda yem tüketiminde, yumurta veriminde ve yemden yararlanmada azalma olduğu bildirilmiştir. Benzer olarak Açıkgoz ve Özkan (2002) tarafından da %1'in üzerindeki oranlarda tanen içeren yemle beslenen kanatlılarda toksik etkiler görülebileceği bildirilmiştir.

Pour ve Edriss (1997) tarafından etçi piliçlerde yapılan çalışmada %0,26'ya kadar tanen içeren yemle beslenen hayvanlarda herhangi bir olumsuzluk görülmezken, bu değer üzerinde tanen içeren yemle beslenen hayvanlarda performansta azalma olduğu bildirilmiştir.

Kubena ve arkadaşları (1983) tarafından yapılan çalışmada 1 günlük erkek etçi piliçler %1,5 oranlarında tanen içeren yemle beslendiklerinde canlı ağırlık artışında ve yemden yararlanmada önemli derecede azalma olduğu kaydedilmiştir.

Chan ve Fuller (1964) tarafından yemlerde %2 oranında tanen bulunmasının civcivlerde gelişme ve yem tüketimini azaltacağı bildirilmiştir.

Burada yapılan analizler sonucunda yemlerde bulunan tanen oranları (%0,04-0,74) literatür bilgileri ile karşılaştırıldığında hayvanlarda herhangi bir olumsuzluk oluşturabilecek düzeyde olmadığı görülmektedir (Çizelge 3.11).

Kanatlılar sodyum klorür ile zehirlenmeye karşı diğer türlere göre daha duyarlıdırlar. Bu hayvanlar için sodyum klorürün güvenli ve toksik miktarları birbirine çok yakındır (Balnave, 2006).

Yapılan taramalarda kafes kuşu yemlerindeki sodyum klorür miktarları hakkında herhangi bir literatüre rastlanmaması nedeni ile elde edilen sonuçlar diğer bazı kanatlı türlerine ait yemlerde yapılan sodyum klorür miktarları ile ilgili çalışmalarla karşılaştırıldı.

Matterson ve arkadaşları (1946) sodyum klorüre karşı hindilerin tavuklardan daha duyarlı olduğunu ve hindilerin, yemlerindeki %2'ye kadar ki sodyum klorürü tolere edebileceklerini bildirmişlerdir.

Berger (2006) tarafından tavuk, hindi, ördek, kaz, sülün ve bıldırcınların yemlerindeki sodyum klorür oranının %0,25-0,5 arasında olması gerektiği bildirilmiştir.

Kaya ve Akar (2002) tarafından yemlere %2 oranında sodyum klorür katılması halinde ördek palazlarında gelişme geriliği, damızlıklarda döl verimi ve yumurtadan yavru çıkma oranında azalma meydana geleceği bildirilmiştir.

Kafes kuşlarının sodyum klorüre karşı duyarlılık sınırları hakkında herhangi bir veri bulunmama ile birlikte yapılan analizler sonucunda tespit edilen değerlerin (%0,05-0,44) (Çizelge 3.11) literatürlerde belirtilen değerlerin altında olduğundan kafes kuşlarında herhangi bir sağlık sorununa neden olmayacağı kanısına varıldı.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kanatlı hayvanların sağlığı açısından yem ve yem ham maddelerinde bulunan çok sayıdaki doğal olumsuzluk faktörlerinin önemi yıllardır bilinmektedir. Bu maddelerden ileri gelebilecek sakıncaların ortadan kaldırılması ya da ekonomik kayıpların en aza indirilmesi için; yemlerde bulunan miktarlarının nitel ve nicel yönden ortaya konulmasına yönelik yapılan çalışmalar son derece önem taşımaktadır. Veteriner hekim tarafından hasta hayvanların durumları değerlendirilirken, enfeksiyöz etkenlerin yanı sıra yemlerde doğal olarak var olan ya da oluşabilen toksik maddelerin de değerlendirilmesi, doğru tanı ve uygun sağaltım açısından oldukça önemlidir. Ayrıca koruyucu hekimlik açısından da bu maddeler büyük önem taşımaktadır.

Bu araştırmada bazı kafes kuşu yemlerinde doğal olarak var olan ya da oluşabilen olumsuzluk faktörlerinden aflatoksinler, nitrat-nitrit, tanen ve sodyum klorür miktarlarının belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla muhabbet kuşu, kanarya ve papağan yemlerinin her birinden 20'ser adet olmak üzere toplam 60 adet yem örneği kullanıldı.

Türkiye'de kafes kuşu yemlerinde aflatoksin, nitrat-nitrit, tanen ve sodyum klorür tolerans düzeyleriyle ilgili bir veri ya da yasal bir düzenleme bulunmamaktadır. Yemlerdeki aflatoksin seviyeleri 5 Şubat 2005 tarih ve 25718 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan 2005/3 sayılı yemlerde istenmeyen maddeler hakkında tebliğ ve 11 Haziran 2008 sayı ve 26903 sayılı Resmi Gazete'de yayınlanan yemlerde istenmeyen maddeler hakkında tebliğinde değişiklik yapılmasına dair tebliğe göre değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirmede yemlerde bulunan AFB<sub>1</sub> miktarları 1 adet yem haricinde (28,14 ppb) ilgili mevzuatta bildirilen miktarın altında olduğu saptandı.

Nitrat-nitrit, tanen ve sodyum klorür miktarları kanatlı hayvanlarla ilgili literatürler ışığında değerlendirildi ve bulunan miktarların hayvanlarda herhangi bir sağlık sorununa neden olmayacak düzeylerde olduğu kanısına varıldı.

Sonuç olarak yemlerde tespit edilen aflatoksin, nitrat-nitrit, tanen ve sodyum klorür miktarlarının kafes kuşlarının sağlığı açısından herhangi bir risk oluşturması mümkün görünmemektedir. Fakat kuş yemlerinde bulunan doğal olumsuzluk faktörleri ve bunların kuşların sağlığına yönelik etkileri konusunda yeterli çalışma bulunmaması, konunun daha iyi değerlendirilebilmesi ve yasal limitlerin belirlenmesi açısından yeni çalışmaların yapılmasını gerekli kılmaktadır. Özellikle de bazı araştırmalarda tespit edilen yüksek düzeyler ve zehirlenme olguları, belirli aralıklarla kuş yemlerinin doğal olumsuzluk faktörleri yönünden taranmasının yararlı olacağını göstermektedir.

## ÖZET

### **Bazı Kafes Kuşu Yemlerinde Doğal Olumsuzluk Faktörlerinin (Aflatoksinler, Nitrat, Nitrit, Tanen ve Sodyum Klorür) Belirlenmesi**

Bu çalışmada bazı kafes kuşu yemlerinde doğal olarak bulunan ya da sonradan oluşabilen doğal olumsuzluk faktörlerinden aflatoksinler, nitrat-nitrit, tanen ve sodyum klorür miktarları araştırıldı. Bu amaçla Ankara ili sınırları içerisindeki satılan muhabbet kuşu, kanarya ve papağan yemlerinin her birinden 20'şer adet olmak üzere toplam 60 örnek analiz edildi. Aflatoksin analizlerinde yüksek basınçlı sıvı kromatografi cihazı (HPLC) kullanıldı. Nitrat, nitrit ve tanen analizleri spektrofotometrik yöntemle, sodyum klorür analizi ise renk reaksiyonuna dayalı bir yöntemle yapıldı.

Yapılan analizlerin sonucunda toplam aflatoksin miktarları muhabbet kuşu yemlerinin 11'inde (%55) 2,44-34,30 ppb, kanarya yemlerinin 8'inde (%40) 0,91-16,75 ppb ve papağan yemlerinin 10'unda (%50) 1,43-19,29 ppb düzeylerinde bulundu. AFB<sub>1</sub> muhabbet kuşu yemlerinin 11'inde (%55) 2,44-28,14 ppb, kanarya yemlerinin 8'inde (%40) 0,91-15,5 ppb ve papağan yemlerinin 10'unda (%50) 1,43-18,5 ppb; AFB<sub>2</sub> muhabbet kuşu yemlerinin 9'unda (%45) 0,29-1,66 ppb, kanarya yemlerinin 3'ünde (%15) 0,27-1,25 ppb ve papağan yemlerinin 5'inde (%25) 0,25-1,44 ppb; AFG<sub>1</sub> muhabbet kuşu yemlerinin 3'ünde (%15) 3,9-8,13 ppb ve papağan yemlerinin 1'inde (%5) 1,46 ppb ve AFG<sub>2</sub> sadece 1 muhabbet kuşu yeminde 0,6 ppb miktarlarında tespit edildi. Yemlerin tümünde nitrit 0,00-6,19 ppm; nitrat 1,31-25,55 ppm; tanen %0,04-0,74; sodyum klorür ise %0,05-0,44 oranları aralığında bulundu.

Kafes kuşu yemleri hakkında herhangi bir yasal ya da bilimsel bir değer olmamakla birlikte sonuç olarak yapılan analizler sonucunda sadece 1 adet muhabbet kuşu yeminde bulunan AFB<sub>1</sub> miktarının kafes kuşlarının sağlığı açısından bir risk oluşturabileceği, diğer yemlerde bulunan AFB<sub>1</sub> miktarlarının kafes kuşlarının sağlığı açısından herhangi bir olumsuzluk yapmayacağı; ayrıca tüm yemlerde yapılan nitrat-nitrit, tanen ve sodyum klorür analizleri sonucunda bulunan miktarların ise herhangi bir sağlık sorununa neden olmayacağı kanısına varıldı.

**Anahtar Sözcükler:** Kuş yemi, aflatoksinler, nitrat, nitrit, tanen, sodyum klorür.

## SUMMARY

### **Determination of Natural Negative Agents (Aflatoxins, Nitrite, Nitrate, Tanin and sodium Chlorure) in Some Cage Bird Feeds**

In this study, among the naturally occurring and/or induced negative factors aflatoxin, nitrate-nitrite, tannin and sodium chloride amounts in cagebird feeds were determined. For this purpose, a total of 60 samples, 20 from each lovebird, canary and parrot feed collected from the markets around Ankara were analyzed. High pressure liquid chromatography (HPLC) was used in aflatoxin analysis. Spectrophotometrical analysis were carried out for nitrite-nitrate and tanin content and colorimetric analysis was done for sodium chloride determination.

It was found out that 11 samples (55%) from lovebird feeds contained 2,44-34,30 ppb; 8 samples (40%) from canary feeds contained 0,91-16,75 ppb and 10 samples (50%) from parrot feed contained 1,43-19,29 ppb of total aflatoxin. Among the total aflatoxin count; AFB<sub>1</sub> was found from 11 samples (55%) of lovebird feeds as 2,44-28,14 ppb; 8 samples (40%) from canary feeds as 0,91-15,5 ppb and 10 samples (50%) from parrot feeds as 1,43-18,5 ppb; AFB<sub>2</sub> was found from 9 samples (45%) of lovebird feeds as 0,29-1,66 ppb, 3 samples (15%) from canary feeds as 0,27-1,25 ppb and 5 samples (25%) from parrot feeds as 0,25-1,44 ppb; AFG<sub>1</sub> was found from 3 samples (15%) of lovebird feeds as 3,9-8,13 ppb and 1 sample (5%) of parrot feed as 1,46 ppb and AFG<sub>2</sub> was found only in one lovebird seed as 0,6 ppb. All feeds contained between 0,00-6,19 ppm of nitrite; 1,31-25,55 ppm of nitrate; %0,04-0,74 of tanin and %0,05-0,44 of sodium chloride.

Eventhough, there is no legal of scientific assessment of the described negative factors on cagebird feeds, results indicate that AFB<sub>1</sub> amount found in one of the lovebird feed might cause a health risk; whereas the rest does not necessarily cause any health problems on cagebirds. The results also indicate that nitrate-nitrite, tanin and sodium chloride amounts analyzed in all feeds are below the risk amounts and will not cause any health problems.

**Key words:** Cagebird feed, aflatoxins, nitrate, nitrite, tannin, sodium chloride.

## KAYNAKLAR

- ACAF (2001). Aflatoxin in wild bird foods. ACAF/01/47.
- ACET, H.A., DEMET, Ö., TRAŞ, B. (1989). Yem ve yem maddelerinde aflatoksin, okratoksin A ve zearalenon kalıntılarının kromatografik yöntem ile araştırılması. *Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg.* **5 (1)**: 125-133.
- AÇIKGÖZ, Z., ÖZKAN, K. (2002). Etlik piliçlerde yem atma sendromu. *Hayvansal Üretim.* **43 (2)**: 9-15.
- AKANDE, K.E., ABUBAKAR, M.M., ADEGBOLA, T.A., BOGORO, S.E. (2006). Nutritional and health implications of mycotoxins in animal feeds. *Pakistan J. Nutr.* **5 (5)**: 398-403.
- AKAR, F., KAYA, S., FİLAZİ, A., YARSAN, E. (1994). Yem ve yem ham maddelerinde bulunan bazı doğal olumsuzluk faktörleri: 1. Tanen ve siyanür düzeyleri. *Ank. Üniv. Vet. Fak. Derg.* **41 (1)**: 119-131.
- ALÇİÇEK, A., BAŞLAR, S. (1995). Bitki ve sularda aşırı nitrat birikiminin sonuçları. *Ekoloji Çevre Dergisi.* Ocak-Şubat-Mart. **14**: 15-18.
- ANONİM (2008a). Mikotoksikozisler. Erişim: [<http://www.volkanderinbay.net/tarimnet/tavuk.asp>]. Erişim Tarihi: 08.07.2008.
- ANONİM (2008b). Mycotoxins. Erişim: [<http://www.nwhc.usgs.gov/publications/fieldmanual/chapter37.pdf>]. Erişim Tarihi: 11.07.2008.
- ANONİM (2008c). Aflatoxins in food. Erişim: [<http://www.wellvet.com/aflatoxins.html>]. Erişim Tarihi: 14.07.2008.
- ANONİM (2009a). Mycotoxin affect everyone. Erişim: [[http://www.mycotoxins.info/myco\\_info/science\\_moa.html](http://www.mycotoxins.info/myco_info/science_moa.html)]. Erişim Tarihi: 05.09.2009.
- ANONİM (2009b). Factors affecting mycotoxin formation in the field. Erişim: [<http://www.knowmycotoxins.com/ndairy4.htm>]. Erişim Tarihi: 17.10.2009.
- ANONİM (2009c). Mycotoxin. Erişim: [<http://en.wikipedia.org/wiki/Mycotoxin>]. Erişim Tarihi: 19.10.2009.
- ANONİM (2009d). Aflatoxin. Erişim: [<http://www.knowmycotoxins.com/ndairy4.htm>]. Erişim Tarihi: 21.10.2009.
- ANONİM (2009e). Azot Döngüsü. Erişim: [<http://www.wikipedia.org>]. Erişim Tarihi: 24.10.2009.
- ANONİM (2009f). What are mycotoxins. Erişim: [<http://www.knowmycotoxins.com/npoultry.htm>]. Erişim Tarihi: 29.10.2009.



- ARDA, M. (2000). Mantarların Genel Karakterleri (Genel Mikoloji). Alınmıştır: Temel Mikrobiyoloji. ARDA, M. Baskı: 2, s. 315-364. Medisan Yayınevi, ANKARA.
- ATEF, M., ABO-NORAGE, M.A., HANAFY, M.S., AGAG, A.E. (1991). Pharmacotoxicological aspects of nitrate and nitrite in domestic fowls. *Br. Poult. Sci.* **32** (2): 399-404.
- AYDIN, N. (2007). Hayvan sağlığında mikotoksinler ve mikotoksikozisler. 5. Ulusal Mantar Hastalıkları ve Klinik Mikoloji Kongresi. Konferans.
- AYDIN, S.A., ÜSTÜN, F. (2007). Tanenler. 1. Kimyasal yapıları, farmakolojik etkileri, analiz yöntemleri. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.* **33** (1): 21-31.
- BAE, H.D., McALLISTER, T.A., MUIR, A.D., YANKE, L.J., BASSENDOWSKI, K.A., CHENG, K.J. (1993). Selection of a method of condensed tannin analysis for studies with rumen bacteria. *J. Agric. Food Chem.* **41**: 1256-1260.
- BALNAVE, D. (2006). Minerals in drinking water and poultry production. Erişim: [www.novusint.com/Public/Library/DocViewer.asp?ID=98]. Erişim Tarihi: 10.10.2009.
- BARUG, D., VAN EGMOND, H., LOPEZ-GARCÍA, R., VAN OSENBRUGGEN, T., VISCONTI, A. (2003). Meeting the mycotoxin menace. Erişim: [<http://www.thepoultrysite.com/books/b173/meeting-the-mycotoxin-Menace>]. Erişim Tarihi: 11.07.2008.
- BASMACIOĞLU, H., ERGÜL, M. (2003). Yemlerde bulunan toksinler ve kontrol yolları. *Hayvansal Üretim.* **44** (1): 9-17.
- BAYDAN, E., KAYA, S., UZUN, R. (1996). Kafes kuşlarında ilaç kullanımı. *Türk Vet. Hek. Derg.* **8** (3): 22-41.
- BECER, Ü.K. (2008). Ticari kedi ve köpek mamalarında mikotoksin, nitrat ve nitrit analizi. Doktora Tezi.
- BEG, M.U., AL-MUTARİ, M., BEG, K.R., AL-MAZEEDİ, H.M., ALİ, L.N., SAEED, T. (2006). Mycotoxins in poultry feed in Kuwait. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **50** (4): 594-602.
- BERGER, L.L. (2006). Salt and trace minerals for livestock, poultry and other animals. Erişim: [<http://www.saltinstute.org>]. Erişim Tarihi: 11.10.2009.
- BLAKE, H. (2008). Toxicoses in birds. Erişim: [<http://www.oldworldaviaries.com/text/miscellaneous/toxicoses.html>]. Erişim Tarihi: 11.07.2008.
- BLAKESLEE, J.A., WILSON, H.R. (1979). Response of hens to various dietary levels of tannic acid. *Poult. Sci.* **58** (1): 255-6.
- BULLERMAN, L.B., SCHROEDER, PARK, K.Y. (1984). Formation and control of mycotoxins in food. *J. Food Protec.* **42**: 637-646.

- BOMMAKANTİ, A.S., WALİYAR, F. (2009). Importance of aflatoxins in human and livestock health. Erişim: [<http://www.icrisat.org/aflatoxin/health.asp>]. Erişim Tarihi: 12.10.2009.
- CASH, D., FUNSTON, R., KING, M., WİCHMAN, D. (2004). Nitrate toxicity of Montana Forages. Erişim: [<http://www.animalrangeextension.montana.edu/articles/forage/general/nitrate-tox.htm>]. Erişim Tarihi: 11.07.2008.
- CHANG, S.I. ve FULLER, H.Z. (1964). Effect of tanin content of grain sorghum on their feeding value for growing chicks. *Poult. Sci.* **43**: 30-36.
- DIAZ, G.J., JULIAN, R.J., SQUIRES, E.J. (1995). Effect of graded levels of dietary nitrite on pulmonary hypertension in broiler chickens and dilatory cardiomyopathy in turkey poults. *Avian Pathology.* **24**: 109-120.
- DIAZ, G.J., CALABRESE, E., BLAIN, R. (2008). Aflatoxicosis in chickens (*Gallus gallus*): an example of hormesis? *Poult. Sci.* **87(4)**: 727-732.
- DORINA, T., BARBIERI, C., LUGANO, S., GARAVAGLIA, L. (2008). Aflatoxin contamination risk: Bioactive natural compounds for animal health and healthy food. in: Impact of Pollution on Animal Products. Ed.: FAYE, B., SINYAVSKIY. s. 177-184. Springer Netherlands.
- GEERVANI, P., EGGUM, B.O. (1989). Nutrient composition and protein quality of minnor millets. *Plant Foods for Human Nutrition.* **39**: 201-208.
- GIAMBRONE, J.J., DEINER, U.L., DAVIS, N.D., PANAGALA, A.S., HOERR, F.J. (1985). Effect of prufied aflatoxin on turkeys. *Poult. Sci.* **64**: 859-865.
- HAGERMAN, E.A., ROBBINS, T.C., WEERASURIYA, Y., WILSON, C.T., MEARTHUR, C. (1992). Tannin chemistry in relation to digestion. *Journal of Range Management.* **45 (1)**: 57-62.
- HARRISON, A. (2003). The nitrogen cycle of microbes and men. Erişim: [[http://visionlearning.com/library/module\\_viewer.phd](http://visionlearning.com/library/module_viewer.phd)]. Erişim tarihi: 24.10.2009.
- HAWLEY, B. (2009). Food toxicoses in birds. Erişim: [<http://www.realmacaw.com/pages/toxi.html>]. Erişim Tarihi: 21.10.2009.
- HENKE, S.E., GALLARDO, V.C., MARTİNEZ, B., BAILEY, R. (2001). Survey of aflatoxin concentration in wild bird seed purchased in Texas. *Journal of Wildlife Disease.* **37 (4)**: 831-835.
- HIBBS, C.M.; STENCEL, E.L., HILL, R.M. (1978). Nitrate toxicosis in cattle. *Veterinary Human Toxicology.* **20**: 1-2.
- HORWITZ, W. (1970). A.O.A.C. Washington.

- HUFF, W.E., RUFF, M.D., CHUTE, M.B. (1992). Characterization of the toxicity of the mycotoxins aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin in game birds. II. Ringneck pheasant. *Avian Diseases*. **36**: 96-105.
- HUSSEIN, S.H., BRASEL, J.M. (2001). Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*. **167**: 101-134.
- KAYA, S. (2002). Mikotoksinler. Alınmıştır: Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Ed.: KAYA, S., PİRİNÇCİ, İ., BİLGİLİ, A. Baskı: 2, s. 285-384. Medisan Yayınevi, ANKARA.
- KAYA, S., AKAR, F. (2002). Metaller, Diğer İnorganik Maddeler ve Radyoetkin Maddeler. Alınmıştır: Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Ed.: KAYA, S., PİRİNÇCİ, İ., BİLGİLİ, A. Baskı: 2, s. 207-250. Medisan Yayınevi, ANKARA.
- KAYA, S., BİLGİLİ, A. (1989). Yumurtalarda aflatoksin kalıntıları. *Ank. Üniv. Vet. Fak. Derg.* **36 (3)**: 641-645.
- KAYA, S., ŞANLI, Y., YARSAN, E. ÖZSOY, A., AKKAYA, R., BİLGİLİ, A. (1996). Çok yönlü hayvan yetiştiriciliğinde karma yem ve yem ham maddelerinden kaynaklanan olumsuzluk faktörlerinin araştırılması. 1. Türkiye’de üretilen veya ithal edilen yem ve yem ham maddelerinin mikotoksinlerle kirlenme durumunun araştırılması. *Etlik Vet. Mikrob. Derg.* **8 (4)**: 59-80.
- KAYA, S., YARSAN, E. (1999). Kanatlılarda gelişme geriliği, verim azalması ve zehirlenmelere yol açabilen başlıca maddeler: 3. Mikotoksinler ve diğer zehirler. *Tarım Kredi Koop. Derg.* **3 (7)**: 92-98.
- KAYA, S., YARSAN, E., ÖZDEMİR, M. (1999). Kanatlılarda gelişme geriliği, verim azalması ve zehirlenmelere yol açabilen başlıca maddeler. Uluslar arası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı. 3-6 Haziran İstanbul.
- KAYA, S., YAVUZ, H. (1993). Yem ve yem ham maddelerinde bulunan bazı olumsuzluk faktörleri ve hayvanlara yönelik etkileri: 1. Organik nitelikli olumsuzluk faktörleri. *Ank. Üniv. Vet. Fak. Derg.* **40 (4)**: 586-614.
- KRATZER, F.H., SINGLETON, V.L., KADIRVEL, R., RAYUDU, V.N. (1975). Characterization and growth depressing activity for chickens of several natural phenolic materials. *Poult. Sci.* **54**: 2124-2127.
- KUBENA, L.F., PHILLIPS, T.D., CREGER, C.R., WITZEL, D.A., HEIDELBAUGH, N.D. (1983). Toxicity of ochratoxin A and tannic acid to growing chicks. *Poult. Sci.* **62 (9)**: 1786-1792.
- KVASNICKA, B., KRYSL, L.J. (2009). Nitrate poisoning in livestock. Erişim: [<http://iowabeefcenter.org/pdfs/bch/03405.pdf>]. Erişim Tarihi: 24.10.2009.
- LAWLOR, P., LYNCH, P.B. (2005). Mycotoxin management. *African Farming and Food Processing*. **46**: 12-13.

- LAWSON, B., MACDONALD, S., HOWARD, T., MACGREGOR, S.K., CUNNINGHAM, A.A. (2006). Exposure of garden birds to aflatoxins in Britain. *Sci. Total Environ.* **361(1-3)**: 124-131.
- LEPPER, H.A. (1950). A.O.A.C. Washington.
- LEUNG, M.C.K., DIAZ-LLANO, G., SMITH, T.K. (2006). Mycotoxin in pet food: A review on worldwide prevalence and preventative strategies. *J. Agric. Food Chem.* **54**: 9623-9635.
- LİMAN, B.C., DOĞAN, A. (1994). Kars bölgesinde tüketime sunulan yemlerde nitrat ve nitrit düzeyleri. *Vet. Bil. Derg.* **10 (1-2)**: 139-142.
- LUTSKY, I., MOR, N. (1981). Alimentary toxic aleukia (septic angina, endemic panmyelotoxicosis, alimentary toxic hemorrhagic aleukia): t-2 toxin-induced intoxication of cats. *Am. J. Pathol.* **104 (2)**: 189-191.
- MAIA, P.P., PEREIRA BASTOS DE SIQUEIRA, M.E. (2002). Occurrence of aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> in some Brazilian pet foods. *Food Addit. Contam.* **19**: 1180-1183.
- MARAGOS, C.M. (2001). Mycotoxin protocols. Erişim: [[www.springerlink.com/content/q0r5002xjh156716/](http://www.springerlink.com/content/q0r5002xjh156716/)]. Erişim Tarihi: 29.10.2009.
- MARTINS, M.L., MARTINS, H.M., BERNARDO, F. (2003). Fungal flora and mycotoxins detection in commercial pet food. *Revista Portuguesa De Ciencias Veterinarias.* **98 (548)**: 179-183.
- MATTERSON, L.D., SCOTT, H.M., JUNGBEER, E. (1946). Salt tolerance of turkeys. *Poult. Sci.* **25**: 53-58.
- MCKOWN, C.T., WEIK, J.C. (2004). Comparison of laboratory and quick-test methods for forage nitrate. *Crop Sci.* **44**: 218-226.
- MIROCHA, C.J., PATHRE, S. (1973). Identification of the toxic principle in a sample of poaefusarin. *Applied Microbiology.* **26 (5)**: 719-724.
- MERCK (2008a). Salt Toxicity. The Merck Veterinary Manual. Merck&Co. inc., USA.
- MERCK (2008b). Nitrate and nitrite poisoning: Introduction. The Merck Veterinary Manual. Merck&Co. inc., USA.
- NİCHOLAS, J. (2003). Aflatoxins in wild bird foods. Erişim: [<http://www.food.gov.uk/consultations/ukwideconsults/2003/aflatoxinsinwildbirdfoods/>]. Erişim Tarihi: 11.07.2008.
- NİZAMLIOĞLU, F. (1996). Mikotoksin şüphesiyle laboratuvara getirilen yem ve yem ham maddelerinde aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> araştırılması. *Veterinarium.* **7 (1-2)**: 42-45.

- NİZAMLIOĞLU, F., GÖZÜN, H. (1996). Yemlerinde aflatoksin tespit edilen kanatlıların karaciğer ve böbreklerinde meydana gelen patolojik değişiklikler. *Veterinarium*. **7 (1-2)**: 46-49.
- O'KEEFFE, M., (2003). Mycotoxins in Foods and Feeds. In: Farm and Food – The Teagasc Research and Digest. Erişim: [<http://www.foodassurance.teagasc>]. Erişim Tarihi: 12.07.2008.
- OLIVEIRA, G.R., RIBEIRO, J.M., FRAGA, M.E., CAVAGLIERI, L.R., DIREITO, G.M., KELLER, K.M., DALCERO, A.M., ROSA, C.A. (2006). Mycobiota in poultry feeds and natural occurrence of aflatoxins, fumonosins and zearalenone in the Rio de Janeiro State, Brazil. *Mycopatologia*. **162(5)**: 355-362.
- ONWELUZO, J.C., NWABUGWU, C.C. (2009). Fermentation of millet (*Pennisetum americanum*) and pigeon pea (*Cajanus cajan*) seeds for flour production: Effects on composition and selected functional properties. *Pakistan J. Nutr.* **8 (6)**: 737-744.
- ORUÇ, H.H. (2005). Mikotoksinler ve tanı yöntemleri. *Uludağ Üniv. J. Fac. Vet. Med.* **24 (1-2-3-4)**: 105-110.
- ORUÇ, H.H., CEYLAN, S. (2001). Bursa yöresinde sığırların yemlerinde, içme sularında ve Rumen içeriğinde nitrat, nitrit ve kanda methemoglobin düzeylerinin araştırılması. *Uludağ Üniv. J. Fac. Vet. Med.* **20 (1-2)**: 25-32.
- ORUÇ, H.H., SONAL, S., CEYLAN, S. (2001). Kuş yemlerinde total aflatoksin, nitrat ve nitrit. *Uludağ Üniv. J. Fac. Vet. Med.* **20**: 35-38.
- OSWEILER, G.D., CARSON, T.L., BUCK, W.B., VAN GELDER, G.A. (1985). Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology, 3<sup>rd</sup> Ed. Kendall-Hunt Publishing Company, Dubuque, Iowa, 460-466.
- ÖZGÜR, A. (1997). Veteriner Hekim terimi üzerine tarihsel bir araştırma. *Ank. Üniv. Vet. Fak. Derg.* **44 (1-8)**: 97-104.
- PETEK, M. (2004). Kafes Kuşları. *Uludağ Üniv. J. Fac. Vet. Med.* **23 (1-2-3)**: 131-136.
- PIDWIRNY, M. (2006). The nitrogen cycle. Erişim: [[www.physicalgeography.net/fundamentals/9s.html](http://www.physicalgeography.net/fundamentals/9s.html)]. Erişim Tarihi: 24.10.2009.
- PIER, A.C. (1992). Major biological consequences of aflatoxicosis in animal production. *J. Anim. Sci.* **70**: 3964-3967.
- POUR, R.J., EDRISS, M.A. (1997). Effects of dietary sorghum of different tannin concentrations and tallow supplementation on the performance of broiler chicks. *Br. Poult. Sci.* **38 (5)**: 512-517.
- PRICE, M.D., LOWELL, R.A., Mc CHESNEY, D.G. (1993). Naturally occurring toxins in feedstuffs center for veterinary medicine perspective. *J. Anim. Sci.* **71**: 2556-2562.

- QUIST, C.F., BOUNOUS, D.I., KILBURN, J.V., NETTLES, V.F., WYATT, R.D. (2000). The effect of dietary aflatoxin on wild turkey poult. *Journal of Wildlife Disease*. **36 (3)**: 436-444.
- RASBY, R., ANDERSON, B., SCHNIDER, N. (1996). Nitrates in livestock feeding. Nebguide. Cooperative Extension. G-74-170-A13.
- RATCLIFF, J., 2002. The role of mycotoxins in food and feed safety. Presented at AFMA (Animal Feed Manufacturers Association) on 16<sup>th</sup> August, 2002. Erişim: [<http://www.facs.org.uk>]. Erişim Tarihi: 11.07.2008.
- RAUBER, R.H., DILKIN, P., GIACOMINI, L.Z., ARAUJO DE ALMAIDA, C.A., MALLMANN, C.A. (2007). Performance of turkey poult fed defferent doses of aflatoxins in diet. *Poult. Sci.* **86**: 1620-1624.
- REDDY, S.V., WALIVAR, F. (2009). Proporties of aflatoxin and it producing fungi. Erişim: [<http://www.icrisat.org/aflatoxin/aflatoxin.asp>]. Erişim Tarihi: 13.10.2009.
- REED, J.D. (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *J. Anim. Sci.* **73**: 1516-1528.
- RESMİ GAZETE (2005). Yemlerde istenmeyen maddeler hakkında tebliğ. 5 şubat 2005 tarih 25718 sayılı Resmi Gazete.
- RESMİ GAZETE (2008). Yemlerde istenmeyen maddeler hakkında tebliğinde değişiklik yapılmasına dair tebliğ. 11 Haziran 2008 tarih 26903 sayılı Resmi Gazete.
- RICHARD, J.L., BENNETT, G.A., ROSS, P.F., NELSON, P.E. (1993). Analysis of naturally occuring mycotoxins in feedstuff and food. *J. Anim. Sci.* **71**: 2563-2574.
- ROBINSON, R.M., RAY, A.C., REAGOR, J.C., HOLLAND, L.A. (1982). Waterfowl mortality caused by aflatoxicosis in Texas. *Journal of Wildlife Disease*. **18 (3)**: 311-313.
- RUSTOM, I.Y.S. (1997). Aflatoxin in food and feed: Occurence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry*. **59**: 57-67.
- SALT, S., ÖZBİLGİN, S., ÖZMEN, Ö., MISIRLIOğLU, D. (2000). Bazı yabancı ve kafes kuşlarında gözlenen klinik ve patolojik bulgular. *Uludağ Üniv. J. Fac. Vet. Med.* **19 (1-2)**: 127-132.
- SCHOFİELD, P., MBUGUA, D.M., PELL, A.N.(2001). Analysis of condanced tannins: a Review. *Animal Feed Science and Tecnology*. **91**: 21-40.
- SEN, N.P., DONALDSON, B. (1978). Improved colorimetric method for determinig nitrate and nitrite in foods. *J.A.O.A.C.* **61 (6)**: 1389-1394.
- SHEPHARD, G.S. (2008). Determination of mycotoxins in human foods. *Chem. Soc. Rev.* **37 (11)**: 2468-2477.

- SONAL, S., ORUÇ, H.H. (2000). Bursa bölgesindeki tavuk çiftliklerinden sağlanan yemlerde mikotoksin düzeyleri. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.* **20 (2)**: 1-6.
- SULAK, M., AYDIN, İ. (2005). Yem bitkilerinde nitrat birikmesi. *O.M.Ü. Zir. Fak. Derg.* **20 (2)**: 106-109.
- SWICK, R.A. (1984). Hepatic metabolism and bioactivation of mycotoxins and plant toxins. *J. Anim. Sci.* **58**: 1017-1027.
- STOLTENOW, C., LARDY, G. (1998). Nitrate poisoning of livestock. Erişim: [<http://www.ag.ndsu.edu/pubs/ansci/livestock/v839w.htm>]. Erişim Tarihi: 24.10.2009.
- STROKA, J., HOST, V., ANKLAM, E. (2003). Immunoaffinity column cleanup with Liquid Chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxin B<sub>1</sub> in cattle feed: Collaborative Study. *J. A.O.A.C. Int.* **86 (6)**: 1179-1186.
- ŞANLI, Y., CEYLAN, S., KAYA, S. (1982). Tavuk yemlerinde ve yem ilkel maddelerinde aflatoksinler. *Ank.Üniv. Vet. Fak. Derg.* **29 (3-4)**: 473-492.
- THOMPSON, C., HENKE, S.E. (2000). Effect of climate and type of storage container on aflatoxin production in corn and its associated risks to wildlife species. *Journal of Wildlife Disease.* **36**: 172-179.
- TRAŞ, B., BAŞ, A. L. (1992). Mikotoksinlerin immün sistem üzerindeki etkileri. *Türk Vet. Hek. Derg.* **4 (3)**: 17-19.
- TURNER, N.W., SUBRAHMANYAN, S., PILETSKY, S.A. (2009). Analytical methods for determination of mycotoxins. *Anal. Chim. Acta.* **632 (2)**: 168-180.
- USHER, C.D., TELLIN, G.M. (1975). Analysis of nitrate and nitrite in feedstuffs. A Critical Review. *J. Sci. Food Agric.* **2**: 1973-1805.
- USP-NF (1985). XVI. US Pharmacopial Convention, Inc.
- ÜSTÜN, F., AYDIN, S.A. (2007): Tanenler. 2. Toksisiteleri, beslenme üzerine etkileri, detannifikasyon. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.* **33 (1)**: 33-41.
- WHO (1979). Enviromental health criteria, Mycotoxins, Geneva. World Health Organization. Erişim: [<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc011.htm>]. Erişim Tarihi: 14.10.2009.
- WILSON, B.J., TEER, P.A., BARNEY, G.H., BLOOD, F.R. (1967). Relationship of aflatoxin to epizootics of toxic hepatitis among animals in Southern United States. *Amer. J. Vet. Res.* **28 (126)**: 1217-1230.
- WILSON D.M. (2009). Aflatoxin analytical methods for groundnuts. Erişim: [<http://www.fao.org>]. Erişim Tarihi: 19.10.09.

- WITLOCK, D.R., WYATT, R.D. (1981). Effect of dietary aflatoxin on hemostasis of young turkey poults. *Poult. Science.* **60**: 528-531.
- WOOD, G. E. (1992). Mycotoxins in foods and feeds in the United States. *J. Anim. Sci.* **70**: 3941-3949.
- YARSAN, E., ÖZDEMİR, M. (1997). Aflatoksinlerin insan ve hayvan sağlığı yönünden önemi ve aflatoksinlerin yıkılmasına yönelik uygulamalar. *Tarım Kredi Koop. Derg.* **1 (1)**: 41-49.
- YAVUZ, H. (1992). Türkiye’de üretilen karma yem ve yem hammaddelerindeki nitrat ve nitrit içeriğinin çeşitli faktörlere göre değişimi üzerine araştırmalar. *Ank. Üniv. Vet. Fak. Derg.* **39 (1-2)**: 93-118.
- YAVUZ, H., AKAR, F., KERMAN, M., ŞANLI, Y., YARSAN, E., FİLAZİ, A. (1997). Türkiye’de üretilen veya ithal edilen yem ve yem ham maddelerinin hayvan sağlığı ve verimliliği yönünden önem taşıyan nitrat-nitrit, tannik asit ve siyanür içerikleri üzerine araştırmalar. *Etlik Vet. Mikrob. Derg.* **9 (1)**: 57-88.
- YILDIZ, A.Ö. PARLAT, S.S., CUFADAR, Y., OLGUN, O. (2005). Japon Bildircinleri’nda deneysel aflatoksin zehirlenmesine karşı tanen kullanımı. *S. Ü. Zir. Fak. Derg.* **19 (37)**: 21-26.
- ZINEDINE, A., JUAN, C., SORIANO, J.M., MOLTO, J.C., IDRİSSI, L., MANES, J. (2007). Limited survey fort he occurence of aflatoxins increals and poultry feeds from Rabat, Morocco. *Int. J. Food Microbiol.* **115 (1)**: 124-127.



## ÖZGEÇMİŞ

### I- Bireysel Bilgiler

Adı : Hakan  
Soyadı : GÜRELİ  
Doğum yeri ve tarihi : Ankara / 1981  
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti  
Medeni durumu : Bekar  
Askerlik durumu : Tamamladı (Ocak-2009)  
İletişim adresi/telefonu : Feridun Çelik Mah. 1048. Cad. No: 328  
Altındağ/ANKARA  
Telefon : 0505 362 78 73  
312 375 51 31  
e-posta : [hakan\\_gureli@hotmail.com](mailto:hakan_gureli@hotmail.com)

### II- Eğitim

Lisans : Ank. Üniv. Veteriner Fakültesi (1999-2004)  
Lise : Ankara Gazi Lisesi (1996-1999)  
İlköğrenim : Hüseyin Güllü Ceylan İlköğretim Okulu  
(1988- 1996)  
Yabancı dili : İngilizce

### III- Unvanları

Veteriner Hekim (2004)

### IV- Mesleki Deneyim

Teknik ve Ruhsatlandırma Sorumlusu (İnterhas A.Ş./2006-2008)

### V- Bilimsel İlgi Alanları

Makale:

GÜRELİ, H. (2009). Sığırlarda solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotikler. Türk Vet. Hekim Der. Derg. **80 (3)**: 29-33.

Poster:

GÜRELİ, H., BİLGİLİ, A. (2009). Bazı kafes kuşu yemlerinde tanen düzeyleri. V. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi (Uluslar arası katılımlı). Çorlu, Tekirdağ.