

Erzurum'da Tüketime Sunulan Buğday Unlarının

Toplam Aflatoksin, Aflatoksin B₁ ve Okratoksin A Yönünden İncelenmesi*

Korhan ÖZTURAN¹
Ziya Gökalp CEYLAN²

Cemal ÜNSAL¹
Meryem AYDEMİR ATASEVER²

Yakup KARAKAYA²

Mustafa ATASEVER^{2**}
A. Kürşat DEMİRKAYA²

1: 9 ncu Kolordu "A" Tipi Gıda Kontrol Müfrez Komutanlığı, Erzurum

2: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Erzurum

**e-posta: atasever@atauni.edu.tr

Özet: Bu çalışmada Erzurum piyasasında satışa sunulan buğday unu örnekleri toplam aflatoksin, AFB₁ ve okratoksin A yönünden incelenmiştir. Çalışmada Erzurum yöresinden toplam 50 örnekte toplam aflatoksin, AFB₁ ve okratoksin A analizi yapılmıştır. Toksin varlığının belirlenmesinde ELISA tekniği kullanılmıştır. İncelenen toplam 50 buğday unu örneğinin 37 adedinde (%74), AFB₁ tespit edilmiştir. Örneklerin 13 (%26) adedinde ise ölçülebilir sınırlar içerisinde AFB₁ belirlenmemiştir. Numunelerin 8 tanesinde (%16) ise AFB₁ miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptanmıştır. Örneklerin 37 (%74) adedinde toplam aflatoksin belirlenmiş ve örneklerin 13(%26) adedinde ise ölçülebilir sınırlar içerisinde toplam aflatoksin tespit edilememiştir. Örneklerin 9 tanesinde (%18) ise toplam aflatoksin miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptanmıştır. İncelenen numunelerin 45 tanesinde (%90) okratoksin A tespit edilmiş, 5 (%10) adedinde ise ölçülebilir sınırlar içerisinde bu maddeye rastlanılmamıştır. Örneklerin 6 (%12.00) adedinde ise okratoksin A miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptanmıştır. Korelasyon analizi sonucu, onların toplam aflatoksin, AFB₁ ve okratoksin A içerikleri arasında önemli düzeyde (P<0.01) ilişki olduğu saptanmıştır. Toplam aflatoksin ve AFB₁ arasında 0.920, toplam aflatoksin ve okratoksin A arasında 0.519, AFB₁ ve okratoksin A arasında ise 0.537 korelasyon katsayıları hesaplanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Buğday unu, toplam aflatoksin, AFB₁, okratoksin A.

Examination of Total Aflatoxin, Aflatoxin B₁ and Ochratoxin A in Wheat Flour Consumed in Erzurum

Summary: In this study, the wheat flour samples purchased from markets and shops in Erzurum were analyzed for the presence of total aflatoxin, aflatoxin B₁ and ochratoxin A. The analyses for the toxins were conducted on a total 50 samples. ELISA method was utilized for the detection of the toxins. As a result, it was found that AFB₁ was detected in 37 (74%) of the 50 samples. The amount of AFB₁ detected 8 samples (16%) was higher than amount permitted by the Turkish Food Codex. It was found that AF Total was detected in 37 (74%) of the 50 samples. The amount of AF Total detected 9 samples (18 %) was higher than amount permitted by the Turkish Food Codex. It was found that ochratoxin A was detected in 45 (90%) of the 50 samples. The amount of ochratoxin A detected 6 samples (12%) was higher than amount permitted by the Turkish Food Codex. In the statistical analysis, there was positive correlation (P<0.01) among AFB₁, TotalAF, and Ochratoxin A.

Key words: Wheat flour, total aflatoxin, AFB₁, ochratoxin A

GİRİŞ

Küfler insan ve hayvanlar için toksik etki gösteren metabolitler üretebilmektedir. Küflerin ikincil metabolizmaları sonucu sentezlenen toksik maddelere "mikotoksin" denilmektedir. 1930 ve 1940'lı yıllarda fungus kaynaklı antibiyotik olarak kullanılan birçok metabolit, bugün yüksek canlılara gösterdikleri toksik etkiler nedeniyle mikotoksin olarak sınıflandırılmıştır. Mikotoksinler, esas olarak protein yapısında ve antijen özellikte olan bakteriyel toksinlerin aksine, çok çeşitli kimyasal yapı ve biyolojik aktiviteye sahip maddelerdir. Küflerin hemen her yerde bulunabilmeleri ve birçok gıda ve yem

maddesinde gelişerek toksinlerini oluşturabilmeleri nedeniyle, mikotoksinler çok önemli doğal toksinler olarak kabul edilmektedir (Chu, 1977; Hsieh, 1979; Pohland, 1993). Üzerinde en çok çalışılmış mikotoksin grubu olan aflatoksinler 1960 yılında keşfedilmiş ve 1962 yılında da güçlü bir "hepatotoksik" ve "hepatokarsinojen" etkisi olduğu anlaşılmıştır (Bullerman, 1979; Pohland, 1993). Aflatoksinler, *Aspergillus flavus*'un bazı suşları, *Aspergillus parasiticus*'un ise hemen hemen bütün suşları tarafından üretilmektedir (Bullerman, 1979; Scott, 1978). Ancak 1987 yılında *A. flavus*'a fenotipik

*2. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi (uluslararası katılımı) (18-20 Eylül 2006, İstanbul) bildiri kitabından alınmıştır.

olarak benzeyen *Aspergillus nomius* (Betina, 1989) ve son olarak da *Aspergillus pseudotamarii* olarak isimlendirilen bir türün (Ito ve ark., 2001) de aflatoksin ürettikleri belirlenmiştir.

Mikotoksinlerle bulaşmış yemlerle beslenen hayvanlarda akut ve kronik zehirlenmeler oluşabilmektedir. Bu durumda, verim kaybı, ağırlık artışında azalma ve immunosupresyon ve kanser oluşumu gözlemlenebilmektedir. Bu hayvanlardan elde edilen besinler insanlarda çeşitli sağlık problemlerine yol açabilmektedir. İnsan ve hayvanlarda toksik etkiler meydana getiren mikotoksinlerle ilgili olarak yapılmış çalışmaların büyük bir kısmını aflatoksinler oluşturmaktadır. Aflatoksinlerle birlikte hububat, tohum ve mısırdaki bulunan okratoksin A, trikotesenler ve fumonisin insan ve hayvan sağlığı açısından büyük problemler oluşturmaktadır (Fink-Gremmels, 1999; Kaya, 1984).

Aflatoksinler, aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂ olmak üzere başlıca altı ana gruba ayrılmaktadır. Bunlara ilave olarak, aflatoksinlerin gerek küflü kültürlerden gerekse hayvan vücudundan elde edilmiş metabolitleri ile (örn., aflatoksin B_{2a}, G_{2a}, P₁, Q₁ ve aflatoksikol) sayıları 18'i bulmaktadır (Pittet, 1998). Aflatoksinlerin kimyasal olarak bifuran halkası ve lakton bağı içeren kumarin türevleri oldukları saptanmıştır. Aflatoksinlerin isimlendirilmesinde kullanılan B ve G harfleri ultraviyole ışık altında mavi (Blue) ve yeşil (Green) floresans verme özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Pons ve ark., 1966). Aflatoksin M₁ (AFM₁) ve M₂ (AFM₂), aflatoksin B₁ (AFB₁) ve B₂ (AFB₂)'nin süt veren hayvanların bünyesinde metabolize olarak, OH içeren türevlere dönüşmesi ve süte salgılanması ile "süt kaynaklı toksin" (milk toxin) olduklarını belirtmek amacıyla M ile simgelenmiştir (Tunail, 2000).

Aflatoksinlerin halk sağlığı üzerine olan etkilerini araştıran IARC (1993) (International Agency for Research in Cancer; Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu)'nın yaptığı değerlendirmeler sonucunda; aflatoksin B₁ sınıf 1 olarak sınıflandırılmış ve insanlar için karsinojen oldukları kanısına varılmıştır.

Okratoksin A; *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium verrucosum* ve *P. chrysogenum* tarafından üretilen bir mikotoksindir. Dünyada yaygın olarak çoğunlukla *A. ochraceus* (Van Der Merve ve ark., 1965) ve *P. verrucosum* (Pitt, 1987) tarafından okratoksin A üretilmektedir. Nefrotoksik (proksimal tubuluslarda dejenerasyon ve glomeruluslarda hyalinizasyon), immunosupresif ve teratojen etkilere; renal adenom ve karsinom insidensinde artışa ve genotoksitaya yol açması nedeniyle insan ve hayvan sağlığı açısından oldukça önemli kabul edilmektedir (Gekle ve ark., 1998; Obrecht-Pflumio ve Dirheimer, 2000; Petzinger ve Ziegler, 2000). İn vitro olarak fare ve tavşan karaciğer böbrek mikrozomlarında yapılan bir çalışmada (Obrecht-Pflumio ve Dirheimer, 2000),

okratoksinin peroksidazları etkileyerek prostaglandin sentetaz ve lipooksijenaz aktivitesini değiştirdiği ve bunun sonucunda genotoksik metabolitlerin oluşumuna ve indirekt olarak genotoksik etkiye yol açtığı bildirilmiştir.

Son zamanlarda okratoksin A'nın oksidatif strese sebep olduğu ve beynin bütün bölgelerinde DNA'ya zarar verdiği tespit edilmiş ve bu gelişmelerden yola çıkarak okratoksin A'nın Alzheimer, Amyotrophic Lateral Sclerosis ve Parkinson hastalığına sebep olup olmadığı araştırılmaktadır (Sava ve ark., 2006).

Okratoksin A'nın nefrotoksik, immunosupresif, teratojenik ve karsinojenik etkileri vardır. Son zamanlarda okratoksin A'nın gıdalarda doğal olarak meydana geldiği (Speijers ve Van Egmond 1993) ve Kuzey Afrika'da insanlarda kan serumunda görüldüğü rapor edilmiştir (Bacha ve ark., 1993; Khalef ve ark., 1993).

Okratoksin A IARC (1993) tarafından muhtemel insan karsinojeni olarak sınıflandırılmıştır. Avrupa Komisyonu yiyecekler için bazı mikotoksin standartlarını belirlemek için çeşitli çalışmalar yapmıştır (De Koe, 1999). Komisyon okratoksin A için çığ tahıl ürünlerinde 5 µg/kg, diğer işlenmiş tahıl ürünlerinde ise 3 µg/kg olarak maksimum limitleri tespit etmiştir (Anonim, 2001).

Okratoksin A insan kanında da tespit edilmiştir. Fransa da yapılan bir çalışmada (Mac Donold ve ark., 2001) ele alınan örneklerden yaklaşık % 22'sinin kanında okratoksin A tespit edildiği ve konsantrasyonlarının 0.1 ile 130 µg/L seviyesinde olduğu belirtilmiştir. İtalya'da bir çalışmada (Abouzi ve ark., 2002) insanlara ait kan örneklerinin %97'sinde okratoksin A seviyesi 0.12 ve 2.84µg/L düzeyinde tespit edilmiştir. Ayrıca idrarda ve insan sütünde de okratoksin A maddesine rastlandığı bildirilmiştir.

Okratoksin A Balkan Endemik Nefropatisi etiyojisine neden olduğu için aynı zamanda hem nefrotoksik hemde karsinojenik olduğu düşünülmektedir. Bu duruma Bosna, Bulgaristan, Hırvatistan, Romanya, Sırbistan ve Karadağ bölgelerinde çok yüksek oranda rastlanılmakta ve insanlarda ölümcül vakaların görülmesine neden olabilmektedir. Ayrıca nadir olarak renal pelvis ve ureterlerde ürotelyal tümörler oluşumuna zemin hazırlayabilmektedir (Fuchs ve Perica, 2005).

MATERYAL ve METOD

Numunelerin Alınması

Bu çalışmada Nisan 2005-Nisan 2006 tarihleri arasında Erzurum piyasasında satışı sunulan 50 adet buğday unu numunesi kullanıldı. Toplanan örnekler steril poşetlerde, oda sıcaklığında muhafaza edildi.

ELISA yönteminin kullanıldığı bu çalışmada toplam aflatoksin, aflatoksin B₁ ve okratoksin A test kitleri (biopharm RIDASCREEN) ile çalışıldı. Toplam aflatoksin Anonim, (2002a), aflatoksin B₁ Anonim, (2002b),

okratoksin A Anonim, (2002c) de bildirilen yöntemlere göre yapıldı.

AFB₁ İçin Örneklerin Hazırlanması

2 g öğütülmüş örnek tartılarak vidalı kapaklı cam bir kaba alındı. 3ml PBS-buffer veya distile su ve 0.2 ml amilaz solüsyonu ilave edildi. 20 d oda sıcaklığında karıştırıldı. 7 ml %100'lük metanol eklendi ve ekstraksiyon için 10 d çalkalandı. Örnek solüsyon filtre kâğıdından süzüldü. 2 ml filtrat üzerine 2 ml distile su ile 3 ml diklorometan ilave edildi ve 5 d kuvvetlice çalkalandı. 10 d, 3500 devir/dakika, 10-15°C'de santrifüj edildi. Üstteki sıvı kısım ayrılarak kısa bir süre vortekste karıştırıldı. Karışım tamamen kuruması için 50-60°C'de yaklaşık 30 d bekletildi. Kuru artık üzerine 1 ml % 100'lük metanol ile tekrar çözüldü ve üzerine 1 ml distile su, 1,5 ml n-Heptan eklenerek 5 d çalkalandı. 5 d 3500 devir/dakika, 10-15°C'de santrifüj edildi. Üstteki n-Heptan tabakası tamamen ayrıldı ve alttaki metanolik tabakadan 100 µl alınarak 400 µl sample dilüsyon buffer ile dilue edildi ve testte bu karışımdan 50 µl kullanıldı.

AFB₁ İçin Test Prosedürü

Standart ve örnekler için yeterli sayıda mikrotiter strip pleyte yerleştirildi. Her standarttan ve hazırlanmış örneklerden 50 µl kuyucuklara konuldu. Üzerlerine 50 µl dilue edilmiş enzim konjugat ilave edilerek 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp yıkama solüsyonuyla otomatik yıkayıcıda 3 kez yıkandı. Daha sonra her kuyucuğa 50 µl substrat ve 50 µl kromojen konularak 30 d oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 100 µl stop solüsyonu konularak absorbansı 450 nm'de okundu. Kalibrasyon eğrisi üzerinden okunarak elde edilen sonuçlar dilüsyon faktörü olan 25 ile çarpıldı.

Toplam Aflatoksin İçin Örneklerin Hazırlanması

2 g öğütülmüş örnek tartılarak bir kaba alındı. Üzerine 10 ml %70'lik metanol ilave edildi ve 10 d oda sıcaklığında karıştırıldı. Bütün örnek solüsyon fitre kâğıdından süzüldü. 100 µl süzüntü 600 µl örnek dilüsyon buffer ile dilue edilerek bundan 50 µl analizde kullanıldı.

Toplam Aflatoksin Test Prosedürü

Standart ve örnekler için yeterli sayıda mikrotiter strip pleyte yerleştirildi. Her standarttan ve hazırlanmış örneklerden 50 µl kuyucuklara konuldu. Üzerlerine 50 µl dilue edilmiş enzim konjugat ilave edildi. Bundan sonra her kuyucuğa dilue edilmiş antibody'den 50 µl ilave edilerek oda ısısında 30 d inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp yıkama solüsyonuyla otomatik yıkayıcıda 3 kez yıkandı. Daha sonra her kuyucuğa 50 µl substrat ve 50 µl kromojen konularak 30 d oda ısısında karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 100 µl stop solüsyonu konularak absorbansı 450 nm'de okundu. Kalibrasyon eğrisi üzerinden okunarak

elde edilen sonuçlar dilüsyon faktörü olan 35 ile çarpıldı.

Oktratoksin A İçin Örneklerin Hazırlanması

2 g öğütülmüş örnek tartılarak vidalı kapaklı cam bir kaba alındı. 3 ml distile su ve 0,2 ml amilaz solüsyonu ilave edildi. 20 d oda sıcaklığında karıştırıldı. 1 ml 5 N HCl ile 5 d karıştırıldı. 10 ml diklorometan ilave edildi ve 15 d karıştırıldı. 15 d, 3500 devir/dakika, 15°C'de santrifüj edildi. Üstteki tabaka atılarak geri kalan kısım filtre edildi. Üzerine filtratın hacmi kadar 0.13M sodyum hidrojen karbonat eklenerek 15 d karıştırıldı. Tekrar 15 d, 3500devir/dakika, 15°C'de santrifüj edildi. Dilüsyonun üst fazından 100 µl alınarak 400 µl 0.13 M Sodyum hidrojen karbonat ile dilue edildi ve buradan 50µl alınarak testte kullanıldı.

Oktratoksin A için Test Prosedürü

Standart ve örnekler için yeterli sayıda mikrotiter strip pleyte yerleştirildi. Her standarttan ve hazırlanmış örneklerden 50 µl kuyucuklara konuldu. Üzerlerine 50 µl dilue edilmiş enzim konjugat ilave edilerek 2 saat sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp yıkama solüsyonuyla otomatik yıkayıcıda 3 kez yıkandı. Daha sonra her kuyucuğa 50 µl substrat ve 50 µl kromojen konularak 30 d oda ısısında karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 100 µl stop solüsyonu konularak absorbansı 450 nm'de okundu. Kalibrasyon eğrisi üzerinden okunarak elde edilen sonuçlar dilüsyon faktörü olan 25 ile çarpıldı.

BULGULAR

Analiz edilen numunelerde belirlenen toplam aflatoksin, AFB₁ ve oktratoksin A düzeyleri Tablo 1'de verilmiştir.

İncelenen numunelerden 37 tanesinde (%74) toplam aflatoksin rastlanırken örneklerin 13 (%26) adedinde bu maddenin ölçülebilir sınırların altında olduğu belirlendi. 9 (%18) numunede belirlenen toplam aflatoksin miktarının Türk Gıda Kodeksi'nin belirlediği kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptandı. İncelenen toplam 50 buğday unu örneğinin 37 (%74) adedinde AFB₁ belirlendi. Numunelerin 13 (%26) adedinde ise ölçülebilir sınırlar içerisinde AFB₁ tespit edilemedi. Örneklerin 8 (%16) adedinde belirlenen AFB₁ düzeyinin Türk Gıda Kodeksinin kabul edilebilir sınırlarının üzerinde olduğu saptandı. Analiz edilen numunelerin 45 (%90) adedinde oktratoksin A tespit edildi. Örneklerin 5 (%10) adedinde ise söz konusu maddenin düzeyi ölçülebilir sınırların altında olduğu saptandı. Yapılan bu çalışmada örneklerin 6 (%12) adedinde oktratoksin A miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre, kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu saptandı.

Yapılan korelasyon analizi sonucu, araştırmada incelenen toplam aflatoksin, AFB₁ ve oktratoksin A arasında çok önemli düzeyde ($P<0,01$) ilişki olduğu gözlemlendi. Toplam aflatoksin ve AFB₁ arasında 0.920, AFTotal ve

Okratoksin A arasında 0.519, AFB₁ ve okratoksin A arasında ise 0.537 korelasyon katsayıları hesaplandı.

Şeviktürk ve Gönülalan, (2007) tarafından ELISA yöntemiyle yapılan çalışmada, 25'er adet buğday unu, pirinç ve bulgur numunesi okratoksin A yönünden ele alınmıştır. Buna göre buğday ununa ait en yüksek okratoksin A (OA) değeri 1011,84 ± 0,08 ppt olurken, en düşük değer 145,66 ± 0,09 ppt olarak bildirilmiş, ortalama OA değeri 360,93 ppt olarak kaydedilmiştir. Pirinç numunelerinde yapılan incelemede, en yüksek ve en düşük değerler sırasıyla 381,93 ± 0,08 ppt ile 153,76 ± 0,06 ppt olup, ortalama değer 241,07 ppt olarak bulunmuştur. Bulgur numunelerinin ise en yüksek OA değeri 548,80 ± 0,06 ppt, en düşük

OA değeri 158,53 ± 0,07 ppt ve ortalama OA değeri 384,10 ppt olarak belirlenmiştir.

Giray ve ark.,(2007) HPLC (High Performance Liquid Chromatography) yöntemiyle buğday numunelerinde yaptıkları çalışmada AFB₁ seviyesini 10,4–144,2 ng/kg, total aflatoksin düzeyini ise 10,4 – 643,5 ng/kg. arasında belirlediklerini bildirmişlerdir.

Zinedine ve ark., (2006), mısır buğday, arpa numunelerinde HPLC yöntemiyle belirledikleri okratoksin A düzeylerini yüzde olarak sırasıyla 40, 40, ve 55 olarak bildirmişlerdir. Mısır örneklerinde OA düzeyini en yüksek 7,22 µg, ortalama 1,08 µg/kg şeklinde ifade etmişlerdir. Ayrıca buğday ve arpa örneklerinde ortalama OA değerinin sırasıyla 0,42 ve 0,17 µg/kg olduğunu saptamışlardır.

Tablo 1. Tespit Edilen Toplam Aflatoksin, AFB₁ ve Okratoksin A Düzeyleri*

Numune sayısı	Toplam Aflatoksin			AFB ₁			Okratoksin A		
	<1,75 ^a	>1,75	<4 ^d	<1 ^b	>1	>2 ^d	<0,625 ^c	>0,625	>3 ^d
50	13	37	9	13	37	8	5	45	6

*: ppb

<:den az

>:den fazla

a:Toplam aflatoksin için ELISA metodu ile tespit edilebilen en alt limit

b: AFB₁ için ELISA metodu ile tespit edilebilen en alt limit

c: Okratoksin A için ELISA metodu ile tespit edilebilen en alt limit

d:Türk Gıda Kodeksinin izin verdiği miktardan daha fazla tespit edilen numune sayısı

SONUÇ

Gıda ve yemlerde aflatoksin ve okratoksin oluşumunun önlenmesi büyük önem taşımaktadır. Aflatoksin oluşumunun önlenmesinde öncelikle hammaddenin tarlada gelişimi, hasadı, depolanması, nakliyesi, ürünün işlenmesi ve ürün elde edilmesi aşamalarındaki küf kontaminasyonunun engellenmesi veya en aza indirilmesi önem taşımaktadır. Mikrobiyal kontaminasyonu tarlada kontrol altında tutmak çok güçtür. Ancak, mikrobiyal kontaminasyon ürünün hasadı ve onu izleyen aşamalarda alınacak hijyen ve sanitasyon önlemleri ve bilinçli uygulamalarla büyük ölçüde engellenebilir. Aflatoksin ve okratoksin oluşumunun önlenmesinde ikinci ve daha da önemli adım ise hammadde, ara ürünler ve son ürüne çeşitli şekillerde bulaşan küflerin gelişiminin önlenmesidir. Bununla birlikte üretimde iyi bir teknolojinin kullanımı ve bilinçli uygulamalarla mümkün olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abouzed, M.M, Horvath A.D, Podlesny P.M, Regina N.P. 2002 Ochratoxin A concentrations in food and feed from a region with Balkan Endemic Nephropathy, Food Additives and Contaminants, 19: 755-764.

Anonim, 2001. Standing Committee on Foodstuffs at the European Commission. Summary Record of the 80th Meeting, Available at http://europa.eu.int/comm/food/re/scfs/index_en.html

Anonim, (2002a). ELISA for the quantitative analysis of total aflatoxins in cereals and feed. GmbH, darmstadt, 1-6, Germany.

Anonim, (2002b). ELISA for the quantitative analysis of aflatoxin B1 in cereals, feed, nuts, dried fruit and other food products GmbH, darmstadt, 1-6, Germany

Anonim, (2002c). ELISA for the quantitative analysis of ochratoxin A in cereals and feed.GmbH, darmstadt, 1-6, Germany.

Bacha, H., Maaroufi, K., Achour, A., Hammami, M., Ellouz, F. and Creppy E.E. 1993. Human ochratoxicosis and its pathologies, Collog Inserm, 231: 101-110.

Betina, V. 1989. Mycotoxins, Chemical, Biological and Environmental Aspects, Elsevier, ISBN 0-444-98885-8, Amsterdam-Oxford-New York, Tokyo, 437p.

Bullerman, L.B. 1979. Significance of Mycotoxins to Food Safety and Human Health, Journal of Food Protection, 42: 65–86.

Chu, F.S. 1977. Mode of Action of Mycotoxins and Related Compounds. Adv. Appl. Microbiol., 22: 83-142.

De Koe, W.J. 1999. Regulations of the European Union for mycotoxins in foods, Arhiv Za Higijenu Rada Toksikologiju, 50: 37-46.

Fink-Gremmels, J. 1999. Mycotoxins: Their implications for human and animal health, Vet.Quart., 21: 115-120.

Fuchs, R., Perica, M. 2005. Ochratoxin A in human kidney diseases, Food Additives and Contaminants, Supplement 1:53-57.

- Gekle, M., Sauvant, C., Schwerdt G, Silbernagl S, 1998. Tubulotoxic Mechanisms of ochratoxin A. *Kidney Blood Press Res.*, 21: 277-279.
- Giray, B., Girgin, G., Basak, E.A., Aydın, S., Sahin, G. 2007. Aflatoxin levels in wheat samples consumed in some regions of Turkey, *Food Control*, 18: 23-29.
- Hsieh, D.P.H. 1979. Mycotoxins – Their Biosynthesis in Fungi: General Introduction, *Journal of Food Protection*, 42:804.
- Höhler, D. 1998. Ochratoxin A in food and feed: occurrence, legislation and mode of action, *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, 37: 2-12.
- IARC, (1993). International IARC-International Agency for Research in Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human, Some naturally occurring substances: Food items and constituents, Heterocyclic aromatic amines and mycotoxins, IARC Scientific Publications, 56, Lyon.
- Ito, Y., Peterson, S.W, Wicklow, D.T., Goto, T. 2001. *Aspergillus pseudotamarii*, A New Aflatoxin Producing Species in *Aspergillus* Section *Flavi*, *Mycological Research*, 105: 233-239.
- Kaya, S. 1984. Mikotoksinler: Hayvan ve insan sağlığı yönünden önemi. *A.Ü. Vet.Fak.Derg.*, 31: 388-409.
- Khalef, A., Zidane, C., Charef, A., Gharbi, A., M., Betbeder, A.M. and Creppy, E.E. 1993. Human ochratoxicosis and its pathologies, *Collog. Inserm.*, 231: 123-128.
- Mac Donald, S.J, Landton S., Brereton, P.A. 2001. Assesment of human exposure to ochratoxin in the UK- relationship between dietary intake and plasma and urine levels, *Mycotoxins and Phycotoxins in Perspective at the Turn of the Century*, 21-25 May, 181-188.
- Obrecht-Pflumio, S., Dirheimer, G. 2000. In vitro DNA and dGMP adducts formation caused by ochratoxin A. *Chem. Biol. Interact.*, 15: 29-44.
- Petzinger, E., and Ziegler, K. 2000. Ochratoxin A from a toxicological perspective, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 23: 91-98.
- Pitt, J.I. 1987. *Penicillium viridicatum*, *Penicillium verrucosum* and production of ochratoxin A, *Applied and Environmental Microbiology*, 53: 266-269.
- Pittet, A. 1998. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an updated review, *Rev. Med. Vet.*, 149: 479-492.
- Pohland, A.E. 1993. Mycotoxins in Review., *Food Additives and Contaminants*. 10:17-28.
- Pons, W.A Jr, Robertson J.A and Goldblatt L.A. 1966. Objective fluorometric measurement of aflatoxins on TLC plates, *J Am Oil Chem Soc.*, 43: 665-669.
- Sava, V., Reunova, O., Velasquez, A., Harbison, R., Sanchez-Ramos, J. 2006. Acute neurotoxic effects of the fungal metabolite ochratoxin A, *Neurotoxicology*; 27: 82-92.
- Scott, P.M. 1978. Mycotoxins in Feeds and Ingredients and their Origin, *Journal of Food Protection*, 41:385-398.
- Speijers, G.J.A., Van Egmond, H.P. (1993),. Worldwide Ochratoxin A levels in food and feeds, *Collog Inserm.*, 231:85-100.
- Şeviktürk, M., Gönülalan, Z. 2007. Kayseri’de tüketime sunulan bazı tahıl ürünlerinde Ochratoxin A miktarları, *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)*, 16: 86-90.
- Tunail, N. 2000. Aflatoksinlerin Detoksifikasyonu In" *Gıda mikrobiyolojisi ve Uygulamaları p153" Sim Matbaacılık*, 522, Ankara.
- Van Der Merve, K.J., Steyn, P., Fourrje, L., Scott, D., Theron, J.J. 1965. Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus*, *Nature*, 205:1112-1113.
- Zinedine, A., Brera, C., Elakhdari, S., Catano, C., Debegnach, F., Angelini, S., De Santis, B., Faid, M., Benlemlih, M., Minardi, V., Miraglia, M. 2006. Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco, *Food Control*, 17: 868-874.