

Tahıl ve Tahıl Ürünlerinin Aflatoksin, Okratoksin A, Zearalenon, Fumonisin ve Deoksinivalenol Mikotoksinleri Yönünden İncelenmesi

Gözde Türköz Bakırcı ✉

Aybak Natura Gıda Analiz Laboratuvarı, Bornova, İzmir

Geliş Tarihi (Received): 27.01.2014, Kabul Tarihi (Accepted): 15.03.2014

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): gozde.turkoz@naturalab.com.tr (G.T. Bakırcı)

☎ 0 232 461 09 00 📠 0 232 461 28 18

ÖZET

Bu çalışmada tahıl ve tahıl bazlı numuneler; aflatoksin, okratoksin A, deoksinivalenol, zearalenon ve fumonisin mikotoksinleri yönünden incelenmiştir. Çalışmada 381 adet tahıl ve tahıl bazlı ürün analizi yapılmıştır. Okratoksin A analizi yapılan 67 adet tahıl ve tahıl ürünlerinin 4'ünde değer tespit edilmiş olup, bu değerlerin 2'si Türk Gıda Kodeksi'nin belirlediği kabul edilebilir sınırların üstünde olduğu, aflatoksin analizi yapılan 24 adet tahıl ve tahıl ürününün analiz sonuçlarının ölçüm limitleri altında olduğu saptanmıştır. Fumonisin analizi yapılan 57 adet tahıl ve tahıl ürününün tümü mısır ve mısır bazlı ürünler olup, 42'sinde değer bulunmuş ve değerlerden 3'ünün yasal limitin üzerinde olduğu saptanmıştır. Deoksinivalenol analizi yapılan 144 adet tahıl ve tahıl ürününün 13'ünde, zearalenon analizi yapılan 89 tahıl ve tahıl ürününün 8'inde değer tespit edilmiş ve bu değerlerin Türk Gıda Kodeksi'nin belirlediği kabul edilebilir sınırların altında olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tahıl, Tahıl ürünleri, HPLC, Mikotoksin.

Determination of Aflatoxin, Ochratoxin A, Zearalenone, Fumonisin and Deoxynivalenol Mycotoxins in Cereals and Cereal Based Products

ABSTRACT

In this study, 381 samples of cereals and cereal based products were analysed for aflatoxin, ochratoxin A, deoxynivalenol, zearalenone and fumonisin mycotoxins. Of 67 cereals and cereal products analysed for ochratoxin A, 4 samples were identified as positive and two of them were above the acceptable limits set by the Turkish Food Codex. The results of aflatoxin analysis in 24 cereals and cereal based products were below the limit of quantification. All of the 57 cereals and cereal based products analysed for fumonisin were corn or corn based products and fumonisin was detected in 42 samples and three of them had a fumonisin level higher than the legal limit. Of 144 cereals and cereal based products analysed for deoxynivalenol, 13 samples had a value below the acceptable limits. Moreover, 8 samples out of 89 were identified as positive for zearalenone and their concentration was below the acceptable limits set by the Turkish Food Codex.

Key Words: Cereals, Cereal products, HPLC, Mycotoxin

GİRİŞ

Mikotoksinler; *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Claviceps* gibi mantar (küf) cinslerinin sekonder metabolizması sonucu oluşan, düşük molekül ağırlıklı, çok çeşitli kimyasal yapıya sahip doğal

toksindir ve insan-hayvan sağlığı üzerinde güçlü ve çeşitli toksik etkiler oluşturmaktadırlar [1-3]. Mikotoksinleri üreten mantarlar rüzgar ve hava akımlarıyla taşınarak her yerde (atmosferin çeşitli katmanları da dahil) bulunabilirler. Mikotoksin kontaminasyon düzeyi; iklim koşullarına, ürünün cinsine

ve coğrafi konuma bağlı olarak mevsimden mevsime, yıldan yıla farklılık gösterebilir. Dünyadaki mahsullerin dörtte birinin mikotoksin ile kontaminasyon riskinin olduğu bildirilmiştir. Kimyasal ve etkinlik açısından farklı olan mikotoksinler, üretici mantarın gelişebildiği vasatlara göre sınıflandırılabilirler [1].

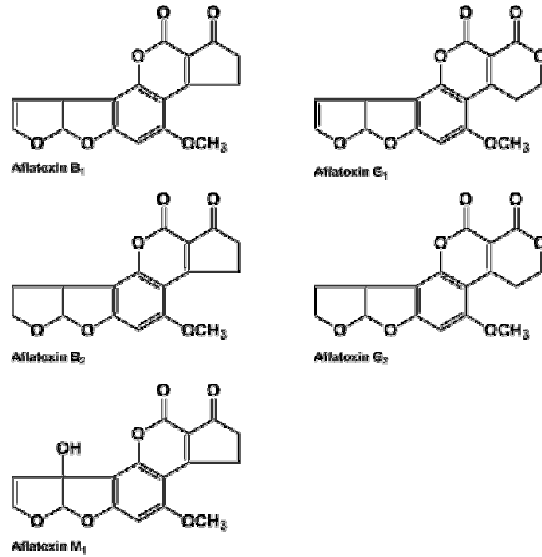
Pek çok cins mantar; büyüme, gelişme ve mikotoksin üretimi için belli koşullara ihtiyaç duyar. Bu koşullar özetle; nem, sıcaklık, substrat tipi ve besinsel faktörler, atmosfer oksijen ve karbon dioksit düzeyleri, diğer mantar türlerinin varlığı, coğrafi konum ve genetik şartlar olarak sıralanabilir [12,16]. Toksin üretiminin boyutu aynı zamanda eser metaller, böcek faaliyetleri, bitkisel ilaçlar, baharatlar, Krebs döngüsü ara ürünleri ve besin katkı maddeleri gibi faktörlerden de etkilenebilir.

Mikotoksinler; yetiştirme sürecinde, doğrudan hasat sırasında, işleme sırasında, işlemeyi izleyen evrede ya da depolama evresinde gıdalara bulaşabilir veya gıdalarda gelişebilirler. Hayvanlar da toksin riskinin bulaşması bakımından doğrudan tehlike taşıyan faktörler olabildiği gibi, yaşamdaki büyüme sürecinde veya tüketim esnasında doğal biyodöngü ile bağlantılı olarak toksik maddelerin tüketiciye geçişinde etken faktör olabilmektedirler [3].

Mikotoksikozis, mikotoksinlerle kontamine olmuş gıda ve yemlerin tüketilmesiyle ortaya çıkan hastalıklardır. Bu hastalıklar; karsinojenik (kanserojen), teratojenik (embriyonal hasarlar), tremorgenik (titreme ve refleks kayıpları sorunları), hemorajik (doku ve organlarda kanama sorunları), dermatitik (deride lezyonlar), hepatoksik (karaciğer hasarları), nefrotoksik (böbrek sistemi hasarları), nörotoksik (sinir sistemi hasarları) vb. sağlık sorunları bu olumsuzluklara örnekler olarak sayılabilmektedir. Bu hastalıkların yanı sıra mikotoksikozis, ölüme sebep olabilen akut riskler de taşımaktadır [23].

Aflatoksinler

Aflatoksinler (AF), *A. nomius* ve *A. tamarii* mantarları tarafından da üretilebilmelerine rağmen esas olarak *A. flavus* ve *A. parasiticus* mantarlarının belli suşlarının sekonder metabolitleridirler [6-10, 17]. Ultraviyole ışık altında mavi floresans verenler AFB1 ve AFB2, yeşil floresans verenler ise AFG1 ve AFG2 olarak adlandırılmaktadır. Benzer yapıya sahip toksinler olmakla birlikte başlıca aflatoksinler AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2'dir (Şekil 1). Bu toksinler çeşitli besin ve tohumlarda değişen miktarlarda bulunmalarına rağmen AFB1 genellikle en etkin olanıdır.



Şekil 1. Aflatoksin yapıları

Aflatoksinler; mısır, yerfıstığı, ceviz, Brezilya fıstığı, keten tohumu, karbonhidrat içeriği yüksek olan diğer gıdalar ve hatta bitki ve baharatların sık görülen kontaminantlarındandır. Gıdaları tarlada ekili oldukları zamandan başlayarak büyüme, hasat, nakliyat, kötü depolama koşulları, üretim sırasındaki koşullar ve hatta hazır gıda olarak kullanılan ürünün raf ömrü esnasında, kısacası ekimden tüketime kadar her aşamada kontamine edebilirler [24, 25].

Aflatoksinlerle oluşan zehirlenmelere "aflatoksikoz" adı verilir. İnsanlar aflatoksinlere doğrudan, mesleki maruziyet sonucu veya özellikle kontamine yemle

beslenmiş hayvanlardan elde edilen ürünler vasıtasıyla maruz kalabilirler. Bir salgında neden tanımlanamaması, durumun gözden kaçırılmayacak kadar belirgin ve sendromların belirli tipte yiyeceklerle ilişkili olması, antibiyotik veya diğer ilaçlarla tedaviye cevabın düşüklüğü ve salgının mevsimsel olması durumunda aflatoksikozdan şüphelenilmelidir. Aflatoksinler tüm canlı organizmalarda karsinojenite, teratojenite ve mutajeniteye neden olmaktadır. DNA, RNA ve protein sentezi inhibisyonu, çeşitli enzim aktivitelerinde azalma, glukoz metabolizması depresyonu, fosfolipidler, serbest yağ asitleri, trigliseritler, kolesterol ve esterleri dahil olmak üzere lipid sentezi inhibisyonu ve pıhtılaşma

faktörü inhibisyonu gibi metabolik etkileri vardır. Bazı hayvan türlerinde akut nekroz, siroz ve karaciğer kanserine yol açarlar. AFB1, Uluslararası Kansere Araştırma Vakfı (IARC) tarafından Grup I karsinojen olarak sınıflandırılmıştır [17,19, 22].

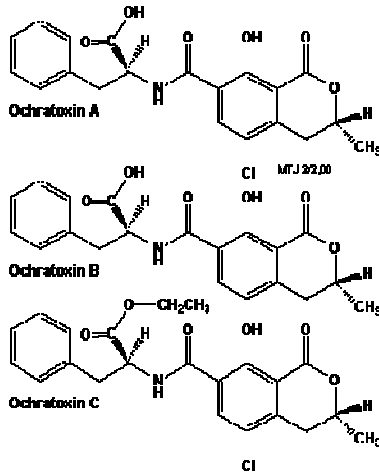
Ülkemizde 29 Aralık 2011 tarihinde yayımlanan 28157 no'lu Resmi Gazete'nin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği Ek-1 Bölüm 2'de aflatoksinler için belirtilen 'müsaade edilen en yüksek değerler' tahıllarda Tablo 1'deki gibidir.

Tablo 1. Aflatoksinlerin tahıllarda bulunabileceği maksimum limit değerleri

Gıda	Aflatoksin B1, B2, G1, G2 Toplamı (µg/kg)	Aflatoksin B1 (µg/kg)
Tahıllar, bunlardan elde edilen ürünler ve bunların işlenmiş ürünleri	4	2
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	-	0.10
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	-	0,10
Pirinç ve Mısır (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	10	5

Okratoksin

Okratoksinler, *A. ochraceus* (*A. alutaceus*), *A. melleus*, *A. alliaceus*, *A. ostianus*, *A. sclerotium*, *A. albertensis*, *A. wentii*, *A. auricomus*, *A. niger* var. *niger*, *A. sulphureus* (*A. fresenii*) ve *P. viridicatum* (*P. verrucosum*) mantarları tarafından üretilen mikotoksinlerdir (Şekil 2). Okratoksin A (OTA) doğada sık olarak bulunması ve neden olduğu patolojik durumlar itibarıyla oldukça önemli bir okratoksin [15, 17].



Şekil 2. Okratoksin A, B ve C'nin kimyasal yapısı

Tablo 2. Okratoksin A'nın tahıllarda bulunabileceği maksimum limit değerleri (Türk Gıda Kodeksi)

Gıda	Okratoksin A (µg/kg)
İşlenmemiş tahıllar	5
İşlenmemiş tahıldan elde edilen tüm ürünler (doğrudan insan tüketimine sunulan tahıllar ve işlenmiş tahıl ürünleri dahil)	3
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0.5
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0.5

Zearalenon

Zearalenon (ZON); mısır, arpa, yulaf, buğday ve darınlarda yaygın olarak bulunabilen, *Fusarium* türleri tarafından farklı şartlarda üretilebilen östrojenik yapılı bir mikotoksin [26]. Örneğin *F. roseum* tarafından ZON üretimi için yüksek (24-27°C) ve düşük (12-14°C) olmak üzere iki farklı sıcaklık alternatifi bulunmaktadır. Düşük

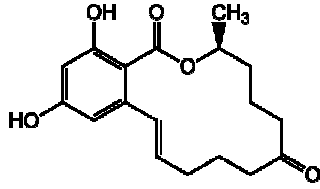
Okratoksinler (OTA); arpa, mısır, buğday, çavdar ve yulafın yanı sıra fasulye, incir, kuru üzüm, zeytin, kabuklu yemişler, kahve tohumu, baharatlar ve greylift suyunda da bulunabilmektedirler. Şifalı bitkiler ve bitki çayları uygunsuz ve mantar üremesine elverişli koşullarda saklanırsa kullanılmadan önce mikotoksin analizi yapılmalıdır. Kahvede olduğu kadar, bira gibi fermentasyon ürünlerinde de OTA kalıntılarına rastlanmıştır. OTA kontaminasyon düzeyi en çok tahıl (özellikle mısır, buğday, arpa) ve hayvansal ürünlerde gözlenmiştir. OTA'nın insan sütünde de gözlenmiş olması emziren annelerin toksini kontamine yiyeceklerden alabileceğini göstermektedir. Kontaminasyon genellikle ılıman iklim, hasat ve hasat sonrası depolama koşulları ile yakından ilişkilidir. Üretim başlıca sıcaklık, substratın nem miktarı ve tipi, farklı bir mikroflora varlığı, mevcut mantarın suyu ve tohumun kalitesine bağlıdır [1]. Toksinin üretimi pH 5.5'te demir, bakır ve çinko varlığında maksimumdur. İlıman iklim koşullarında *Penicillium* OTA'nın ana kaynağıdır.

Ülkemizde 29 Aralık 2011 tarihinde yayımlanan 28157 no'lu Resmi Gazete'nin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği Ek -1 Bölüm 2'de Okratoksin A için belirtilen 'müsaade edilen en yüksek değerler' tahıllarda Tablo 2'deki gibidir.

sıcaklık enzim aktivasyonu için şarttır fakat enzim bir kere aktive olduğunda yüksek sıcaklıklarda da toksin üretebilmektedir (Şekil 3).

ZON'un nispeten düşük akut toksisitesinin yanında çoğu hayvan türünde belirgin östrojenik ve anabolik etkileri vardır [11]. Koyun, sığır ve domuzlarda fiziksel gelişimi arttırdığı gözlenmiştir; fakat bu etki, toksinin insanlarda östrojenik reseptör üzerine olan argonistik etkileri

nedeniyle ciddi tehlikelere sebebiyet verebileceğinden önemi tartışılır durumdadır. ZON'un karsinojenik özellikleri hakkında çok farklı veriler bulunmaktadır ve bu konuda daha detaylı çalışmalar gerekmektedir.



Şekil 3. Zearalenon yapısı

Ükemizde 29 Aralık 2011 tarihinde yayımlanan 28157 no'lu Resmi Gazete'nin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği Ek-1 Bölüm 2'de Zearalenon için belirtilen 'müsaade edilen en yüksek değerler' tahıllarda Tablo 3'teki gibidir.

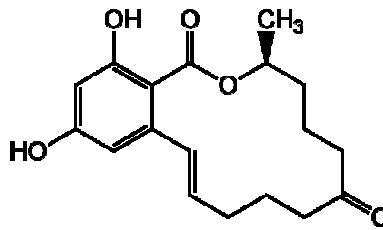
Tablo 3. Zearalenonun tahıllarda bulunabileceği maksimum limit değerleri

Gıda	Zearalenon (µg/kg)
İşlenmemiş tahıllar (mısır hariç)	100
İşlenmemiş mısır (ıslak öğütülecekler hariç)	350
Tahıl, tahıl unları, kepek ve rüşeym (doğrudan insan tüketimine sunulan)	75
Ekmek (hafif fırıncılık ürünleri dahil), pastacılık ürünleri, bisküvi, tahıl çerezleri, kahvaltılık tahıllar (mısır çerezleri ve mısır bazlı kahvaltılık tahılları hariç)	50
Doğrudan insan tüketimine sunulan mısır, mısır çerezleri ve mısır bazlı kahvaltılık tahıllar	100
İşlenmiş mısır bazlı bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	20
500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısırın kabaca öğütülmesinden elde edilen küçük parçalar ve mısır irmiği veya mısırdan elde edilen pelletler ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri	200
500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır unu ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri	300

Çoğu trikotesen hem mikotoksik hem de zootoksik ajanlardır. Bazı Trikotesenler antifungal, antiviral ve antibakteriyeldir. Ciltte yanma, kaşıntı, şişlik, peteşik kanama, kuruma, çatlama, pul pul dökülme; ayrıca enterit, kusma, oral nekroz, gastroenterik nekroz gibi toksisite belirtileri göstermektedir [11]. Bu bileşikler oldukça güçlü enflamatuvar etkiler ve ödem gibi önemli sistemik etkilere sahiptirler. Özellikle abdominal ödem diğer dokularda toksik etki gözlenmeyecek kadar düşük konsantrasyonlarda toksinle dahi görülebilen bir etkidir.

Deoksinivalenol

Trikotesenler, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Myrothecium*, *Verticimonisporium*, *Stachybotris*'in çeşitli türleri tarafından oluşturulurlar ve seskiterpenoit yapısındadırlar [27]. Tarım ürünlerinde Trikotesen kontaminasyonunun büyük kısmını A grubundan olan T-2 toksini ve Scirpentriol ile B grubuna dahil olan Deoksinivalenol (DON) ve Nivalenol (NIV) ve türevleri oluşturmaktadır [1]. Toksik etkilerini göstermek için metabolik aktivasyona gerek yoktur. Toksin oluşumu için pek çok defa erime, çözünme olaylarının gerçekleşmesi gerekir. Trikotesenler daha çok 8–14°C gibi nispeten düşük sıcaklıklarda oluşabilmektedir; fakat 25°C civarındaki sıcaklıklarda da *Fusarium acuminatum* tarafından üretilebildiğine dair raporlar da bulunmaktadır (Şekil 4) [27].



Şekil 4. Deoksinivalenol yapısı

Trikotesenler aynı zamanda kimyasal savaş silahları olarak da kullanılmaktadırlar. Kimyasal silah olarak kullanılan Trikotesenler; T-2 toksini, DON, Diasetilnivalenol ve NIV'dir. Trikotesenler, tahıllarda sık bulunmaları nedeniyle ekonomiye olduğu kadar insan sağlığı için de tehdit olmayı sürdürmektedirler. Bu nedenle başta tarım ürünleri olmak üzere gıdaları enfekte etmeleri dünya çapında sağlıkla ilgili büyük sorun olmaya devam etmektedir [28].

Ülkemizde 29 Aralık 2011 tarihinde yayımlanan 28157 no'lu Resmi Gazete'nin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği Ek-1 Bölüm 2'de Deoksinivalenol için

belirtilen 'müsaade edilen en yüksek değerler' tahıllarda Tablo 4'deki gibidir.

Tablo 4. Deoksinivalenolun tahıllarda bulunabileceği maksimum limit değerleri (Türk Gıda Kodeksi)

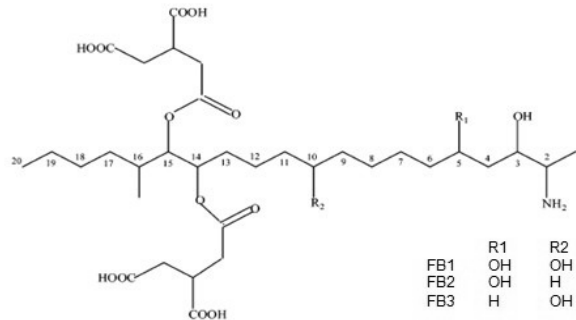
Gıda	Deoksinivalenol (µg/kg)
İşlenmemiş tahıllar (durum buğdayı, yulaf ve mısır hariç)	1250
İşlenmemiş durum buğdayı ve yulaf	1750
İşlenmemiş mısır (ıslak öğütülecekler hariç)	1750
Tahıllar, tahıl unları, kepek ve rüşeym (doğrudan insan tüketimine sunulan)	750
Makarna	750
Ekmek (hafif fırıncılık ürünleri dahil), pastacılık ürünleri, bisküvi, tahıl çerezleri, kahvaltılık tahıllar	500
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	200
500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısırın kabaca öğütülmesinden elde edilen küçük parçalar ve mısır irmiği veya mısırdan elde edilen pelleter ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri	750
500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır unu ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri	1250

Fumonisinler

Fumonisinler, *Fusarium moniliforme*, *F. dlamini*, *F. nygamai*, *F. subglutinans*, *F. napiforme*, *F. proliferatum* ve *F. anthophilum* gibi çeşitli mantarlar tarafından üretilebilmelerine rağmen en önemli kaynakları *F. moniliforme* küfüdür [27]. Fumonisin B1, fusarium ile kontamine besinlerle ilişkili olarak hayvanlarda problemler oluşturması sonucunda ilk olarak Güney Afrika'da ortaya çıkarılmıştır [18]. Fumonisinler (F), çeşitli türlerdeki farklı hastalıkların etiopatogenezinden sorumlu nongenotoksik karsinojenlerdir (Şekil 5). Üretimleri için optimum koşullar; nem, yaklaşık 20°C sıcaklık ve 11–13 haftalık bir süredir. Fumonisinler toksik etkilerini göstermek için metabolik aktivasyona ihtiyaç duymayan bileşiklerdir [27]. Daha çok FB1 ve FB2 olmak üzere fumonisinlerin, hayvanlar üzerinde türe bağlı olarak nörotoksisite, hepatotoksisite, nefrotoksisite, immünosupresyon (ve bazen de immünoestimulasyon), gelişim bozuklukları, karaciğer tümörleri olmak üzere

çeşitli toksik etkileri vardır [4]. Fumonisinler kanser başlatmasında ve ilerlemede genotoksik karsinojenleri taklit eder. FB1 normal yiyecek hazırlama işlemlerinin çoğuna dayanıklı olan bir bileşiktir. Su da dahil olmak üzere pek çok polar solventte çözünür ve polar olmayan çözücülerde çözünürlüğü yoktur. Fumonisinlerle kontamine olmuş yiyecek ve yemler için bilinen hiçbir detoksifikasyon yöntemi bulunmamaktadır.

Mısırdaki ince partiküllü materyal (< 3mm) en yüksek miktarda fumonisin düzeyine sahiptir [11]. İnce materyalin ayrılmasıyla fumonisin düzeylerinde belirgin azalma gözlenmiştir. Öğütme işlemi ve amonyak uygulanması da fumonisin düzeylerini düşürmektedir. Bir başka metot da mısırın 0,1 M kalsiyum hidroksitle 24 saat 25°C'de muamele edilmesidir. Tüm bu farklı uygulamalar fumonisinlerin mısır tohumlarının dış perikarp tabakasında konsantre olduğunu göstermektedir [27].



Şekil 5. Fumonisin B1, B2 ve B3'ün kimyasal yapısı

Ülkemizde 29 Aralık 2011 tarihinde yayımlanan 28157 no'lu Resmi Gazete'nin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği Ek-1 Bölüm 2'de Fumonisinler için belirtilen

'müsaade edilen en yüksek değerler' tahıllarda Tablo 5'deki gibidir.

Mikotoksin Oluşumunun ve Zararlı Etkilerinin Önlenmesi

Mikotoksinlerin kuvvetli karsinojenik etkilerine karşı koruma, önleme veya bu toksinleri parçalama ve oluşumlarını engelleme çalışmaları da üzerinde çalışılan önemli bir konudur. Afrika'nın çeşitli bölgeleri ve Güney Asya başta olmak üzere tüm dünyada risk oluşturan mikotoksin kontaminasyonunun önlenmesi için etkin, uygulanabilir ve ekonomik çözümlerin üretilmesi, insan sağlığının korunması açısından önem taşımaktadır. Gıda ve yemlerin kontaminasyonu, hasat veya saklama sırasında daha fazla ortaya çıkmaları nedeni ile ürünlerin korunması (oluşumun önlenmesi) için en fazla çaba bu dönemlerde harcanmaktadır. Dolayısıyla sürekli

olarak detoksifikasyona yönelik yeni yaklaşımlar geliştirilmeye çalışılmaktadır [14]. Mikotoksinlerle ilgili olarak zararlı etkileri önleme veya oluşturabilecekleri riskleri azaltmaya ve toksinlerin degradasyonlarına yönelik yapılan çalışmalarda fiziksel teknikler (arındırma, mekanik sıralama ve dağılım, yıkama, yoğunluk farkının gözlenmesi, termal inaktivasyon, mikrodalga uygulamalarını da içeren radyasyon uygulaması ve solvan ekstraksiyonu), doğal veya sentetik kaynaklı kimyasal maddeler (antioksidan kullanımı) ve biyolojik yöntemler (spesifik mikroorganizma veya enzimler tarafından mikrobiyal inaktivasyon ve adsorptif materyaller tarafından bağlanma) gibi yöntemler kullanılmaktadır [4].

Tablo 5. Fumonisinlerin tahıllarda bulunabileceği maksimum limit değerleri (Türk Gıda Kodeksi)

Gıda	Fumonisin B1+B2 (µg/kg)
İşlenmemiş mısır (ıslak öğütülecekler hariç)	4000
Mısır ve mısır bazlı ürünler (doğrudan insan tüketimine sunulan)	1000
Mısır bazlı kahvaltılık tahıllar ve mısır bazlı çerez	800
İşlenmiş mısır bazlı bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	200
500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısırın kabaca öğütülmesinden elde edilen küçük parçalar ve mısır irmiği veya mısırdan elde edilen pelleter ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan büyük eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri	1400
500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır unu ve doğrudan insan tüketimine sunulmayan 500 mikrondan küçük ve eşit eleklerden geçirilerek üretilen mısır veya mısır ürünlerinin kabartılması veya kavrulması suretiyle elde edilen gıda maddeleri	2000

Mikotoksin Aranmasında Kullanılan Analiz Yöntemleri

Mikotoksinlerin tespiti için kullanılan; ince tabaka kromatografisi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) yöntemlerinin avantajlarının yanında dezavantajlarının da bulunması nedeniyle bilim insanları yeni yöntemler geliştirmeye devam etmektedirler. Bu yöntemlerden bazıları; kapiler elektroforez ve biyosensörlerin kullanımıdır [5].

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma Ocak 2010 ile Aralık 2012 tarihleri arasında İzmir'de süpermarketlerden tedarik edilen farklı cinslerden tahıl ve tahıl ürünleriyle yapılmış olup, çalışmada 67 adet Okratoksin A; 24 adet Aflatoksin G2, G1, B2, B1; 57 adet Fumonisin B1, B2; 144 adet Deoksinivalenol ve 89 adet Zearalenon olmak üzere 381 adet mikotoksin analizi yapılmıştır.

Mikotoksin Analizleri için Test Prosedürleri

Okratoksin A tayini için 50 µg/mL derişimindeki Supelco marka OTA standardı ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır. Örnek ekstraktları HPLC cihazına (Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) enjeksiyon yapılmış ve cihazda taşıyıcı faz olarak (47:51:2 v/v) asetonitril: su: asetik asit karışımı kullanılmıştır. Okratoksin A analizi için R Biopharm metodu kullanılmış olup, 10 g tahıl

numunesi blendıra alınıp üzerine 200 mL %1'lik Sodyum bikarbonat çözeltisi eklenmiştir. 2 dakika yüksek hızda karıştırılıp, süzgeç kağıdından süzülerek 20 mL alınmıştır. Süzütünün immünoafinite kolondan geçişinden sonra kolon 20 mL su ile yıkanmıştır. Kolondan sırasıyla 1.5 mL asetik asit: metanol (2:98) karışımı ve 1.5 mL su geçirilerek toplanan fraksiyondan HPLC cihazına enjeksiyonu yapılmıştır. Okratoksin A'ya ait kromatogram Şekil 9'da verilmiştir.

Aflatoksin tayini için AFG1, AFG2, AFB1, AFB2 içeren toplam 2.6 µg/mL derişimindeki Supelco marka Aflatoksin standardı ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır. Örnek ekstraktları HPLC cihazına enjeksiyon yapılmış ve cihazda taşıyıcı faz olarak 1.1 L için 200 mL asetonitril, 600 mL su, 300 mL metanol, 132 mg KBr ve 385 µL 4M nitrik asit karışımı kullanılmıştır. Ayrıca türevlendirme işlemi için R Biopharm marka Kobra Cell cihazı kullanılmıştır. Aflatoksin analizi için R Biopharm metodu kullanılmış olup, 50 g tartılan örnek üzerine 4 gr NaCl 250 mL (3:2 metanol:su) konulup 2 dakika homojenizatörde karıştırıldıktan sonra süzüntüden alınan 5 mL'lik kısım ile 10 mL PBS karıştırılarak immünoafinite kolondan geçirilmiştir. Örnek geçişinden sonra 20 mL su ilavesiyle kolon yıkanmıştır. Kolondan sırasıyla 1 mL metanol ve 1 mL su geçirilerek toplanan fraksiyondan HPLC cihazına enjeksiyonu yapılmıştır. Aflatoksin G2, G1, B2 ve B1'e ait kromatogram Şekil 6'da verilmiştir.

Zearalenon tayini için 25 µg/mL derişimindeki Trilogy marka Zearalenon standardı ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır. Örnek ekstraktları HPLC cihazına enjeksiyon yapılmış ve cihazda taşıyıcı faz olarak 1L için 600 mL asetonitril, 400 mL su karışımı asetik asit ilavesi ile pH: 3.2'ye ayarlanarak kullanılmıştır. Zearalenon analizi için R Biopharm metodu kullanılmış olup, 25 g tartılan örnek üzerine 125 mL %75 asetonitril-su (v/v) eklenmiş, 2 dakika blendırda karıştırıldıktan sonra süzütünden 20 mL alınıp 80 mL PBS ilavesi ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. İmmünoafinite kolon numunenin geçişinden önce 20 mL PBS ile yıkanmış, 100 mL'lik süzütü ve PBS karışımının 25 mL'si kolondan geçirilmiştir. Numune geçişinden sonra kolon, 20 mL su ile yıkanmıştır. Kolon altına amber vial yerleştirildikten sonra sırasıyla 1.5 mL %100 asetonitril ve 1.5 mL distile su geçirilerek toplanan fraksiyondan HPLC cihazına enjeksiyonu yapılmıştır. Zearalenon'a ait kromatogram Şekil 10'da verilmiştir.

Deoksinivalenol tayini için 100 µg/mL derişimindeki R Biopharm marka Deoksinivalenol standardı ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır. Örnek ekstraktları HPLC cihazına enjeksiyon yapılmış, cihazda taşıyıcı faz olarak (70:30 v/v) su: metanol karışımı kullanılmıştır. Deoksinivalenol analizi için R Biopharm metodu kullanılmış olup, 25 g tartılan örnek üzerine 200 mL su eklenmiş, 2 dakika blendırda karıştırıldıktan sonra elde edilen süzütününün 2 mL'si immünoafinite kolondan geçirilip 5 mL su ile yıkanmıştır. Kolonun altına amber vial yerleştirildikten sonra 1.5 mL metanol geçirilip toplanan metanol azot gazı altında uçurulmuştur. Viale 1 mL (80:20, v/v) su : metanol eklenerek elüte edilip HPLC

cihazına enjeksiyon yapılmıştır. Deoksinivalenole ait kromatogram Şekil 7'de verilmiştir.

Fumonisin tayini için 100 µg/mL Fumonisin B1, 30 µg/mL Fumonisin B2 derişimindeki Trilogy marka fumonisin standardı ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır. Örnek ekstraktları HPLC cihazına enjeksiyon yapılmış, cihazda taşıyıcı faz olarak 1L için 770 mL metanol, 230 mL 0.1 M sodyum dihidrojen fosfat karışımı pH 3.35'e ayarlanarak kullanılmıştır. Fumonisin analizi için R Biopharm metodu kullanılmış olup, 25 g örnek üzerine 2.5 g NaCl (25:25:50 v/v) 125mL asetonitril : metanol : su eklenmiş ve karışım 2 dakika blendırda karıştırılmıştır. 10 mL'lik süzütü PBS ile 50 mL'ye tamamlanmış ve bu karışımın 10 mL'si kolondan geçirilmiştir. Daha sonra 10 mL PBS geçirilip kolonun temizlenmesi sağlanmış ve kolonun altına amber vial yerleştirilerek kolondan sırasıyla 1.5 mL metanol ve 1.5 mL su geçirilerek 3 mL eluat toplanmıştır. Türevlendirme işlemi için 150 µL eluat alınır ve 150 µL OPA (orto fitalaldehit) reaktifi ile 30 saniye vorteks yardımı ile karıştırılarak HPLC cihazına enjeksiyon yapılmıştır. Fumonisin B1 ve B2'ye ait kromatogram Şekil 8'de verilmiştir. OPA reaktifi; 3 mL metanolde 120 mg OPA bileşiği çözülüp, üzerine 15 mL 0.1 mol/L disodyum tetraborat ve 150 µL 2-merkaptolanol eklenerek hazırlanmıştır.

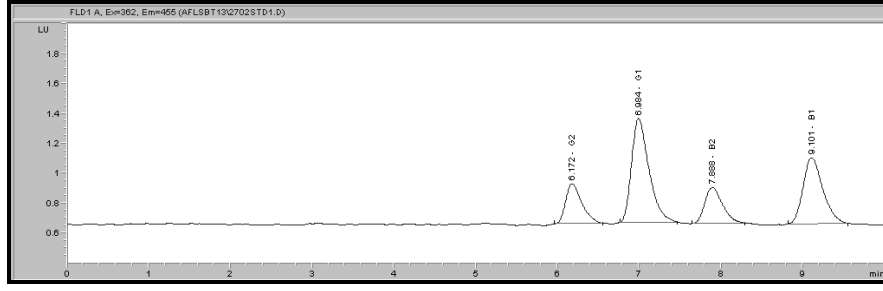
Tahıl ve tahıl ürünleri için analizlerde kullanılan HPLC cihazı şartları Tablo 6'da, mikotoksinlerin LOD, LOQ ve geri kazanım değerleri Tablo 7'de gösterilmektedir.

Tablo 6. Mikotoksin Analizleri için HPLC Cihazı Şartları

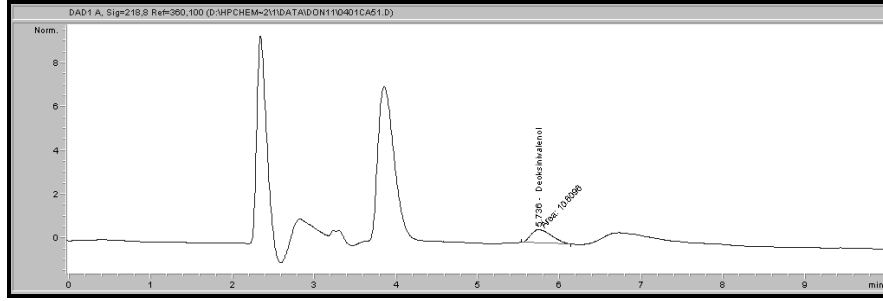
Mikotoksin	Cihaz	Kolon	Dedektör	Enjeksiyon Miktarı (µL)	Mobil Faz Akış Hızı (mL/dakika)
Aflatoksin	Agilent 1200 HPLC	Agilent C18	Floresans Em: 455 nm Ex: 362 nm	100	1.0
Okratoksin	Agilent 1200 HPLC	Ace 5 C18	Floresans Em: 443 nm Ex: 333 nm	100	1.2
Zearalenon	Agilent 1200 HPLC	Interstil ODS-3V 5 µm	Floresans Em: 455 nm Ex: 274 nm	100	1.0
Deoksinivalenol	Agilent 1200 HPLC	Agilent C18	UV-DAD (Em: 218 nm)	100	1.0
Fumonisin	Agilent 1200 HPLC	Agilent XDB-C18	Floresans Em: 440 nm Ex: 335 nm	100	1.0

Tablo 7. Aflatoksin, Okratoksin, Zearalenon, Deoksinivalenol ve Fumonisin için LOD, LOQ ve Geri Kazanım Değerleri

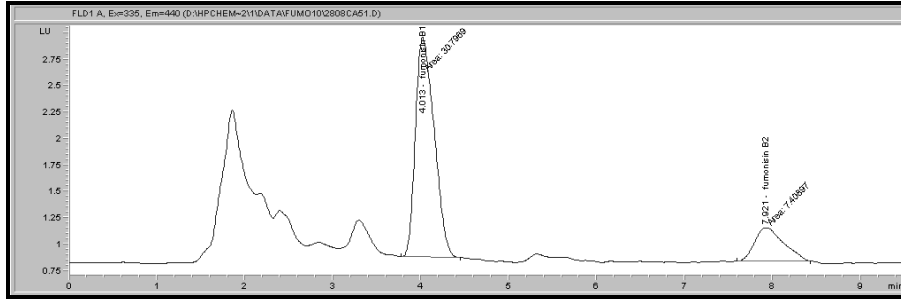
Mikotoksin	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Geri Kazanım (%)
Fumonisin B1	109	141	90.0
Fumonisin B2	82	132	76.7
Okratoksin A	0.29	0.98	105.2
Aflatoksin B1	0.58	0.87	88.1
Aflatoksin B2	0.37	0.65	94.6
Aflatoksin G1	0.55	0.79	91.7
Aflatoksin G2	0.34	0.56	89.8
Zearalenon	4.79	15.96	102.6
Deoksinivalenol	34.27	114.23	87.4



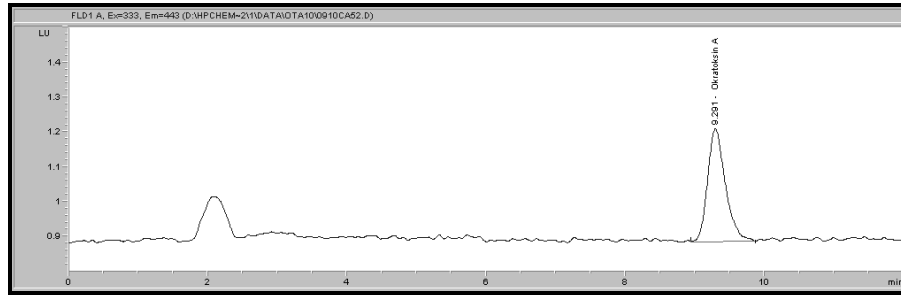
Şekil 6. Aflatoxin G2, G1, B2 ve B1'e Ait Kromatogram



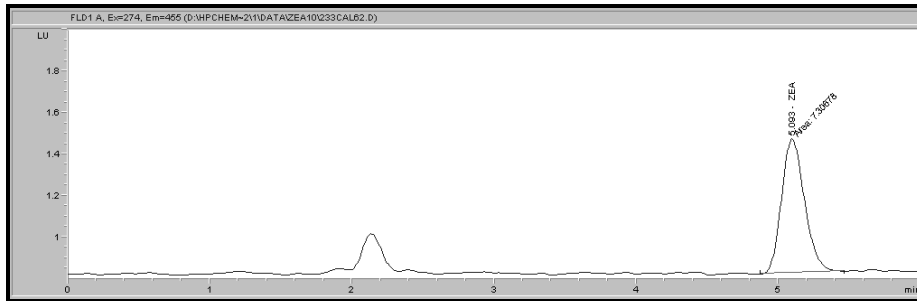
Şekil 7. Deoksinivalenol'e Ait Kromatogram



Şekil 8. Fumonisin B1 ve B2'ye Ait Kromatogram



Şekil 9. Ochratoxin A'ya Ait Kromatogram



Şekil 10. Zearalenon'a Ait Kromatogram

SONUÇ ve TARTIŞMA

Okratoksin A analizi yapılan toplam 67 adet tahıl ve tahıl bazlı ürünlerin %6'sında değer tespit edilmiştir (Tablo 8). Analizi yapılan ürünlerin %3'ünün Türk Gıda Kodeksi'nin belirlediği kabul edilebilir sınırların altında olduğu, diğer %3'ünün okratoksin A değerlerinin ise Türk Gıda Kodeksi'nin belirlediği kabul edilebilir sınırların üstünde olduğu saptanmıştır.

Aflatoksin analizi yapılan toplam 24 adet tahıl ve tahıl bazlı ürünlerin analiz sonuçlarının ölçüm limitleri altında olduğu saptanmıştır (Tablo 9).

Fumonisin analizi yapılan toplam 57 adet tahıl ve tahıl bazlı ürünlerin tümü mısır ve mısır bazlı ürünler olup, bu ürünlerin %74'ünün fumonisin değerleri Türk Gıda Kodeksi'nin belirlediği kabul edilebilir sınırların altında iken %5'inin ise yasal limitin üzerinde olduğu saptanmıştır (Tablo 10).

Deoksinivalenol analizi yapılan toplamda 144 adet tahıl ve tahıl bazlı ürünlerin %9'unda değer tespit edilmiştir (Tablo 11). Tespit edilen deoksinivalenol değerlerinin tümünün Türk Gıda Kodeksi'nin belirlediği kabul edilebilir sınırların altında olduğu saptanmıştır.

Tablo 8. Tahıl ve Tahıl Bazlı Ürünlerde Okratoksin A Analizlerine Ait Sonuçlar

Okratoksin A	Analiz Edilen Numune Sayısı	Değer Tespit Edilen Numune Sayısı	Limit Dışı Numune Sayısı	Değer Aralığı (µg/kg)
Mısır ve Mısır Bazlı Ürünler	25	2	2	17.79 – 126.2
Buğday ve Buğday Bazlı Ürünler	34	2	-	2.02 – 3.56
Pirinç	4	-	-	-
Arpa	3	-	-	-
Müsli	1	-	-	-
Toplam	67	4	2	-

Tablo 9. Tahıl ve Tahıl Bazlı Ürünlerde Aflatoksin Analizlerine Ait Sonuçlar

Aflatoksin	Analiz Edilen Numune Sayısı	Değer Tespit Edilen Numune Sayısı	Limit Dışı Numune Sayısı	Değer Aralığı (µg/kg)
Mısır ve Mısır Bazlı Ürünler	1	-	-	-
Buğday ve Buğday Bazlı Ürünler	21	-	-	-
Pirinç	1	-	-	-
Arpa	-	-	-	-
Müsli	-	-	-	-
Toplam	24	-	-	-

Tablo 10. Tahıl ve Tahıl Bazlı Ürünlerde Fumonisin Analizlerine Ait Sonuçlar

Fumonisinler	Analiz Edilen Numune Sayısı	Değer Tespit Edilen Numune Sayısı	Limit Dışı Numune Sayısı	Değer Aralığı (µg/kg)
Mısır ve Mısır Bazlı Ürünler	57	42	3	118.0-9589.4
Buğday ve Buğday Bazlı Ürünler	-	-	-	-
Pirinç	-	-	-	-
Arpa	-	-	-	-
Müsli	-	-	-	-
Toplam	57	42	3	-

Tablo 11. Tahıl ve Tahıl Bazlı Ürünlerde Deoksinivalenol Analizlerine Ait Sonuçlar

Deoksinivalenol	Analiz Edilen Numune Sayısı	Değer Tespit Edilen Numune Sayısı	Limit Dışı Numune Sayısı	Değer Aralığı (µg/kg)
Mısır ve Mısır Bazlı Ürünler	67	6	-	132.4-9589.4
Buğday ve Buğday Bazlı Ürünler	65	7	-	-
Pirinç	7	-	-	-
Arpa	1	-	-	-
Müsli	4	-	-	-
Toplam	144	13	-	-

Zearalenon analizi yapılan toplam 89 adet tahıl ve tahıl bazlı ürünlerin %9'unda değer tespit edilmiştir. Tespit edilen zearalenon değerlerinin tümünün Türk Gıda Kodeksi'nin belirlediği kabul edilebilir sınırların altında olduğu saptanmıştır (Tablo 12).

Yapılan literatür çalışmalarında Katar'da süpermarketlerden alınmış, 106 adet tahıl ve tahıl ürününü içeren çalışmada; numunelerin %26'sında

aflatoksin (0.14-81.64 µg/kg), %11'inde okratoksin (0.20-4.91 µg/kg), %12'sinde zearalenon (0.18-6.81 µg/kg), %4'ünde deoksinivalenol (86.43-182.94 µg/kg) kontaminasyonu tespit edilmiştir [16].

Zinedine ve arkadaşlarının Fas'ta yaptığı çalışmada, süpermarketlerden alınmış 60 adet tahıl ve tahıl ürünleri için mikotoksin analizi yapılmıştır. Örneklerin tümünde yapılan okratoksin çalışmasında sırasıyla mısır, buğday

ve arpada ortalama 1.08, 0.42 ve 0.17 µg/kg değerler bulunmuştur. 20 adet mısır örneğinde yapılan zearalenon ve fumonisin analizlerinde değerler ortalama 14 ve 1930 µg/kg olarak tespit edilmiştir [17].

Gıdalarda mikotoksin oluşumunun önlenmesi konusunda öncelikle hammaddenin tarlada gelişimi, hasadı, depolanması, nakliyesi, ürünün işlenmesi ve ürün elde edilmesi aşamalarındaki küf

kontaminasyonunun engellenmesi veya en aza indirilmesi; ayrıca tüm ülkelerde dikkatli kontrolü, endüstri açısından risk kriteri olarak belirlenmesi ve geliştirilmiş uluslararası regülasyonlar, kurallar ve sınırlamalar doğrultusunda değerlendirilmesi, risk yönetim sistemleri açısından önem taşımaktadır. İdeal olan, küf ve mikotoksin tehlikesiyle bağlantılı olası riskleri, üretimin her basamağında minimize etmeye yönelik önlemleri geliştirerek gerçekleştirmektir.

Tablo 12. Tahıl ve Tahıl Bazlı Ürünlerde Zearalenon Analizlerine Ait Sonuçlar

Zearalenon	Analiz Edilen Numune Sayısı	Değer Tespit Edilen Numune Sayısı	Limit Dışı Numune Sayısı	Değer Aralığı (µg/kg)
Mısır ve Mısır Bazlı Ürünler	39	7	-	25-74
Buğday ve Buğday Bazlı Ürünler	40	1	-	69.3
Pirinç	5	-	-	-
Arpa	1	-	-	-
Müslü	4	-	-	-
Toplam	89	8	-	-

Buna göre üretimde, sağlık ve kalite güvencesi başarısını sağlamak üzere, HACCP (Kritik Kontrol Noktalarında Tehlike Analizleri=Hazard Analysis and Critical Control Points) bazlı "Engeller Teknolojisi Sistemini (Hurdle Technology System)", esas alan bir bulaşan kontrol stratejisini izlemek, üretim sonrası işlemlerde ilgili kontrol noktası yaklaşımını tarladan-tüketicie yaygınlaşan bir düzen içinde uygulayabilmektir [29].

Araştırmalar sonucu bilinen bilimsel bir gerçeklik de çevresel nem / sıcaklık, pH ve gıda bileşenlerinin, küf gelişimi kadar mikotoksin oluşumunu da doğrudan etkilediği şeklindedir. Ancak, mikrobiyal kontaminasyon ürünün hasadı ve onu izleyen aşamalarda alınacak hijyen ve sanitasyon önlemleri ve bilinçli uygulamalarla engellenebilir. Bununla üretimde iyi bir teknolojinin kullanımı ve bilinçli uygulamalarla mümkün olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Girgin, G., Başaran, N., Şahin, G., 2001. Dünyada ve Türkiye'de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 58(3): 97-118.
- [2] Karagözlü, N., Karapınar, M., 1998. Bazı tahıl ve ürünlerinde Okratoksin-A ve fungal kontaminasyon. *Turk. J. Biol.* 24(2000): 561-572.
- [3] Topal, R.Ş., 2003. Türkiye 'nin tarımsal ürün ve bölgelerine göre dominant mikoflora dağılımları ve mikotoksin profilleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 1(12): 7-21.
- [4] Sabuncuoğlu, A.S., Baydar, T., Giray, B., Şahin, G., 2008. Mikotoksinler: Toksik etkileri, degradasyonları, oluşumlarının önlenmesi ve zararlı etkilerinin azaltılması. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 28(1): 63-92.
- [5] Var, I., Kabak, B., Özkarslı, M., 2004. Mikotoksin aranmasında kullanılan analiz yöntemleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 2(11): 1-11.
- [6] Özkaya, Ş., Temiz, A., 2003. Aflatoksinler: Kimyasal yapıları, toksisiteleri ve

detoksifikasyonları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 1(1): 1-21.

- [7] Yıldız, H., Sert, S., 2004. Mısır ve mısır kaynaklı gıdalarda Fumonisinler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 35(1-2): 111-116.
- [8] Milicevic, D., 2009. Mycotoxins in the food chain – old problems and new solutions. *Tehnologija Mesa* 50 (1-2): 99-111.
- [9] Hewitt, C.T., Flack, L.C., Kolodziejczyk, J.K., Chacon, A.M., D'Ovidio, K.L., 2012. Occurrence of Zearalenone in fresh corn and corn products collected from local Hispanic markets in San Diego County, CA. *Food Control* 26: 300-304.
- [10] Placinta, C.M., D'Mello, J.P.F., Macdonald, A.M.C., 1999. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology* 78: 21-37.
- [11] Pitt, J.I., 2000. Toxigenic fungi and mycotoxins. *British Medical Bulletin* 56(1): 184-192.
- [12] Bottalico, A., Perrone, G., 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *European Journal of Plant Pathology* 108: 611-624.
- [13] Tanaka, T., Yamamoto, S., Hasegawa, A., Aoki, N., Besling, J.R., Sugiura, Y., Ueno, Y., 1990. A survey of the natural occurrence of *Fusarium* mycotoxins, deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone, in cereals harvested in the Netherlands. *Mycopathologia* 110: 19-22.
- [14] Bata, A., Lasztity, R., 1999. Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. *Trends in Food Science and Technology* 10: 223-228.
- [15] Engelhardt, G., Barthel, J., Sparrer, D., 2006. *Fusarium* mycotoxins and ochratoxin A in cereals and cereal products. *Mol. Nutr. Food Res.* 50: 401-405.
- [16] Abdulkadar, A.H.W., Al-Ali, A.A., Al-Kildi, A.M., Al-Jedah, J.H., 2004. Mycotoxins in food products available in Qatar. *Food Control* 15: 543-548.
- [17] 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.
- [18] Whitlow, L.W., Hagler, W.M., Diaz, D.E., 2010. Mycotoxins in feeds. *Feedstuffs* 74-84.
- [19] International Agency for Research on Cancer IARC, 1993. Evaluation of carcinogenic risks of chemical to humans. Some naturally occurring substances: food items and constituents. Heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. *IARC Monographs* 56: 359-362.
- [20] International Agency for Research on Cancer IARC, 1999. Overall evaluations of carcinogenicity to humans. *IARC Monographs* 1-73: 1-36.
- [21] Berthiller, F., Sulyok, M., Krska, R., Schuhmacher, R., 2007. Chromatographic methods for the simultaneous determination of mycotoxins and their conjugates in cereals. *International Journal of Food Microbiology* 119: 33-37.
- [22] Wood, G.E., 1992. Mycotoxins in foods and feeds in the United States. *Journal of Animal Science* 70: 3941-3949.
- [23] Beuchat, L.R., 1981. Food and Beverage Mycology. Avi Publishing, Westport, Connecticut.
- [24] Vidyasagar, T., Sujatha, N., Sashidhar, R.B., 1997. Determination of aflatoxin B1-DNA adduct in rat liver by enzyme immunoassay. *Analyst* 122: 609-13.
- [25] Busby, W.F.Jr., Wogan, G.N., 1984. Aflatoxins. In: Edwards F, ed. Chemical Carcinogens. Maple Press Co, York.
- [26] Abes, S., Ouanes, Z., Ben Salah Abes, J., Houas, Z., Oueslati, R., Bacha, H., Othman, O., 2006. The protective effect of hydrated sodium calcium aluminosilicate against haematological, biochemical and pathological changes induced by Zearalenone in mice. *Toxicon* 47(5): 567.
- [27] Steyn, P.S., Stander, M.A., 1999. Mycotoxins with special reference to the carcinogenic mycotoxins: Aflatoxins, Ochratoxins and Fumonisin. In: Ballantyne B., Mars TC, Syversen TLM, eds. General and Applied Toxicology. 2nd Edition 2145-76.
- [28] Hsueh, C-C., Liu, Y., Freund, M.S., 1999. Indirect electrochemical detection of type-B trichothecene mycotoxins. *Anal. Chem.* 71: 4075-80.
- [29] Lopez-Garcia, R., Park, D.L., Phillips, T.D., 1999. Integrated mycotoxin management systems. *FAO – Food, Nutrition and Agriculture* 23: 38-47.
-